

**VIRTUAL SCREENING SENYAWA ANTAGONIS RESEPTOR MINERALOKORTIKOID
SEBAGAI ANTIHIPERTENSI BERBASIS *PHARMACOPHORE MODELING* DAN
*MOLECULAR DOCKING***

Laporan Tugas Akhir

**Syifa Ayu Wiguna
11161054**



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

LEMBAR PENGESAHAN

***VIRTUAL SCREENING SENYAWA ANTAGONIS RESEPTOR
MINERALOKORTIKOID SEBAGAI ANTIHIPERTENSI BERBASIS
PHARMACOPHORE MODELING DAN MOLECULAR DOCKING***

Laporan Tugas Akhir

Diajukan untuk memenuhi syarat kelulusan Program Strata I Farmasi

**Syifa Ayu Wiguna
11161054**

Bandung, Agustus 2020

Menyetujui,
Pembimbing Utama,



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

ABSTRAK

VIRTUAL SCREENING SENYAWA ANTAGONIS RESEPTOR MINERALOKORTIKOID SEBAGAI ANTIHIPERTENSI BERBASIS PHARMACOPHORE MODELING DAN MOLECULAR DOCKING

Oleh :

Syifa Ayu Wiguna

11161054

Hipertensi adalah keadaan tekanan darah arteri (*Blood Pressure*) yang terus meningkat. Dengan penghambatan reseptor Mineralokortikoid maka penyakit hipertensi dapat diatasi. Penelitian ini dilakukan untuk menyeleksi kandidat senyawa obat baru yang berpotensi aktif menghambat reseptor mineralokortikoid sebagai obat antihipertensi. Untuk mendapatkan senyawa obat baru, dilakukan metode *virtual screening* berbasis *pharmacophore modeling* menggunakan software LigandScout 4.3 dan *molecular docking* menggunakan software PyRx Screening Tool 0.8 terhadap database ZINC Natural Product. Hasil tahapan *pharmacophore modeling* didapatkan 147 senyawa dari 151.837 senyawa dengan nilai AUC dan EF secara berturut-turut adalah 0,56 dan 8,9 dengan nilai *pharmacophore fit score* nya 57,65. Untuk validasi *molecular docking* menggunakan *autodock wizard* dan *vina wizard* didapatkan nilai AUC dan EF pada *vina wizard* adalah 0,555 dan 51,00 menghasilkan 60 senyawa dari nilai *binding affinity* ligan alami yaitu -7,5 kkal/mol. Sedangkan validasi *autodock wizard* didapatkan nilai AUC dan EF adalah 0,501 dan 51,00 menghasilkan 2 senyawa dari nilai *binding energy* ligan alami yaitu -11,75 kkal/mol. Didapatkan 2 kandidat hits yang diduga berpotensi sebagai antihipertensi yaitu senyawa ZINC01789051 dan ZINC01789052 yang memiliki ikatan hidrogen pada residu asam amino Gln776.

Kata Kunci: Hipertensi, mineralokortikoid, *molecular docking*, *pharmacophore modeling*, *virtual screening*.

ABSTRACT

VIRTUAL SCREENING OF MINERALOKORTIKOID ANTAGONIST RECEPTOR AS ANTI HYPERTENSION BASED ON PHARMACOPHORE MODELING AND MOLECULAR DOCKING

By :

Syifa Ayu Wiguna

11161054

Hypertension is a state of arterial blood pressure that continues to increase. By inhibiting Mineralocorticoid receptors, hypertension can be overcome. This research was conducted to select candidates for new drug compounds that have the potential to actively inhibit mineralocorticoid receptors as antihypertensive drugs. To obtain new drug compounds, a virtual screening method based on pharmacophore modeling using LigandScout 4.3 software and molecular docking using PyRx Screening Tool 0.8 software against ZINC Natural Product database. The results of pharmacophore modelling stages found 147 compounds from 151,837 compounds with AUC and EF values of 0.56 and 8.9 respectively with Pharmacophore fit score of 57.65. For molecular docking validation using the autodock wizard and vina wizard, the values of AUC and EF in the vina wizard are 0.555 and 51.00 to produce 60 compounds from the natural ligand binding affinity value of -7.5 kcal/mol. While the autodock wizard validation obtained AUC and EF values of 0.501 and 51.00 yielded 2 compounds of natural ligand binding energy values of -11.75 kcal/mol. Obtained 2 hits which are thought to be potential as antihypertension are ZINC01789051 and ZINC01789052 compounds that have hydrogen bonds in the amino acid residues Gln776.

Keywords: *Hypertension, mineralocorticoid, molecular docking, pharmacophore modeling, virtual screening.*

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Warohmatullohi Wabarokatuh

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

Penulisan Tugas Akhir ini merupakan suatu persyaratan untuk menyelesaikan Program Studi Sarjana Strata Satu pada Program Farmasi di Universitas Bhakti Kencana Bandung. Laporan Tugas Akhir yang berjudul “*Virtual Screening* Senyawa Antagonis Reseptor Mineralokortikoid sebagai Antihipertensi berbasis *Pharmacophore Modeling* dan *Molecular Docking*”. Dalam penyusunan dan penulisan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan, bimbingan serta dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu dalam kesempatan ini penulis dengan senang hati menyampaikan terima kasih kepada yang terhormat:

1. Dr. apt. Fauzan Zein M., M.Si selaku pembimbing utama yang telah menyempatkan waktu, pikiran dan arahan mulai dari awal penulisan sampai akhir.
2. Dr. Aiyi Asnawi, M.Si selaku pembimbing serta yang telah menyempatkan waktu, pikiran dan arahan mulai dari awal penulisan sampai akhir.
3. Seluruh jajaran dosen Fakultas Farmasi Universitas Bhakti Kencana yang telah memiliki pengaruh besar terhadap proses penelitian dan penyusunan skripsi ini.
4. Kedua orangtua penulis, Bapak Nana Sumarna dan Ibu Widarsinah serta keluarga yang selalu mendoakan dan memberi semangat dalam bentuk moril maupun materil.
5. Muhammad Fatan Antafani selaku rekan *virtual screening* yang selalu bertukar informasi serta memberikan dukungannya.
6. Teman-teman seperjuangan Kimia Medisinal dan Angkatan 2016 yang selalu memberikan semangat dan dukungan dan telah berjuang bersama-sama untuk menyelesaikan studi di Universitas Bhakti Kencana.
7. Kepada kakak-kakak tingkat yang selalu memberikan informasi mengenai penelitian.

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

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

Bandung, Agustus 2020

Penulis

DAFTAR ISI

ABSTRAK	i
ABSTRACT	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	x
BAB I. PENDAHULUAN	1
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	3
II.1. Penyakit Hipertensi	3
II.1.1 Patofisiologi	5
II.1.2 Gambaran Klinis	5
II.1.3 Terapi Pengobatan	6
II.2. Antagonis Reseptor Mineralokortikoid	6
II.3. Kimia Komputasi	8
II.4. Sumber <i>Dataset</i> dan <i>Database</i>	8
II.4.1 <i>Active set compound</i>	8
II.4.2 ChEMBL	8
II.4.3 <i>Decoy Set Compound</i>	9
II.4.4 Database Uji	9
II.5. <i>Virtual Screening</i>	9
II.5.1 PyRx	10
II.6. <i>Protein Data Bank</i>	10
II.7. Model Farmakofor	11
II.8. <i>Molecular Docking</i>	12
II.9. Validasi <i>Molecular Docking</i>	12
II.10. Validasi <i>Virtual Screening</i>	12
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN	16
BAB IV. PROSEDUR PENELITIAN	17
IV.1. Persiapan struktur protein target	17
IV.2. Persiapan <i>dataset compound</i>	17

IV.2.1	Pemilihan <i>active compound</i>	17
IV.2.2	Pencarian <i>decoy compound</i>	17
IV.3.	Penapisan virtual berbasis farmakofor	17
IV.3.1	Konversi <i>active compound</i> dan <i>decoy compound</i>	17
IV.3.2	Pemodelan farmakofor	17
IV.3.3	Validasi model farmakofor	18
IV.3.4	Virtual screening menggunakan database ZINC Natural Product	18
IV.4.	Penapisan virtual berbasis <i>molecular docking</i> menggunakan PyRx Screening Tool 0.8.....	18
IV.4.1	Pemisahan struktur protein dengan ligan	18
IV.4.2	Lokasi target penambatan menggunakan <i>autodock wizard</i>	18
IV.4.3	Lokasi target penambatan menggunakan <i>vina wizard</i>	19
IV.4.4	Validasi virtual screening menggunakan <i>vina wizard</i>	19
IV.4.5	Validasi virtual screening menggunakan <i>autodock wizard</i>	19
IV.5.	Penapisan virtual database berbasis <i>docking</i>	20
BAB V.	HASIL DAN PEMBAHASAN	21
V.1.	Struktur reseptor mineralokortikoid	21
V.2.	Database, dataset senyawa aktif dan dataset senyawa pengecoh	21
V.2.1	Database	21
V.2.2	Dataset senyawa aktif dan senyawa pengecoh.....	22
V.3.	Penapisan virtual berbasis farmakofor	23
V.3.1	Model farmakofor	23
V.3.2	Validasi model farmakofor	24
V.3.3	Penapisan virtual database dengan model farmakofor	25
V.4.	Penapisan virtual berbasis <i>molecular docking</i> menggunakan PyRx Screening Tool 0.8	26
V.4.1	Lokasi target penambatan.....	26
V.4.2	Validasi penapisan virtual berbasis <i>docking</i>	28
V.4.3	Penapisan virtual database berbasis <i>docking</i>	29
V.5.	Interaksi senyawa uji terbaik	30
BAB VI.	SIMPULAN DAN SARAN.....	33
VI.1.	Kesimpulan	33
VI.2.	Saran.....	33
DAFTAR PUSTAKA	34
LAMPIRAN	37

DAFTAR TABEL

Tabel II.1 Klasifikasi penyakit hipertensi menurut <i>The Joint National Committee (JNC)</i> 8	4
Tabel II.2 Fitur-fitur farmakofor dalam LigandScout 4.3	15
Tabel V.1 Database ZINC <i>Natural Products</i>	22
Tabel V.2 Parameter validasi model farmakofor	24
Tabel V.3 Hasil penapisan virtual terhadap database ZINC <i>Natural Product</i> berdasarkan pemodelan farmakofor	26
Tabel V.4 Ukuran <i>gridbox</i> dan <i>grid center</i> untuk validasi <i>re-docking</i> menggunakan <i>autodock wizard</i>	27
Tabel V.5 Ukuran <i>gridbox</i> dan <i>grid center</i> untuk validasi <i>re-docking</i> menggunakan <i>vina wizard</i>	27
Tabel V.6 Hasil penapisan virtual database berbasis <i>docking</i> menggunakan <i>vina wizard</i> dan <i>autodock wizard</i>	29
Tabel V.7 Interaksi senyawa uji terbaik dengan residu asam amino	30
Tabel V.8 Visualisasi interaksi kandidat senyawa uji terbaik.....	32

DAFTAR GAMBAR

Gambar II.1 Struktur protein Mineralokortikoid.....	7
Gambar V.1 Reseptor Mineralokortikoid (4PF3) (a) dan ligan alami HFN1001 (b) ...	21
Gambar V.2 Fitur awal farmakofor ligan alami HFN tampilan dua dimensi	23
Gambar V.3 Fitur awal farmakofor ligan alami HFN tampilan tiga dimensi	23
Gambar V.4 Fitur farmakofor model 4 (a) dan ROC (b)	24
Gambar V.5 Visualisasi <i>overlay</i> dengan <i>autodock wizard</i>	27
Gambar V.6 Visualisasi <i>overlay</i> dengan <i>vina wizard</i>	27
Gambar V.7 Kurva ROC hasil validasi penapisan virtual menggunakan <i>vina wizard</i> (a) dan <i>autodock wizard</i> (b)	28

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Dataset senyawa aktif.....	37
Lampiran 2	Rincian prosedur penelitian.....	40

DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

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

BAB I. PENDAHULUAN

1.1. Latar belakang

Hipertensi merupakan penyebab utama kematian dini di seluruh dunia dan penyebab paling umum terjadinya penyakit kardiovaskular. Termasuk masalah utama di negara maju maupun berkembang. Penyakit kardiovaskular merupakan penyebab nomor satu kematian di dunia tiap tahunnya.

Berdasarkan data dari WHO 2015 menunjukkan sekitar 1,13 miliar orang di dunia menderita hipertensi. Sebagian besar atau sekitar dua pertiga yang tinggal di negara berpenghasilan rendah dan menengah. Kurang dari 1 dari 5 orang dengan hipertensi memiliki masalah terkendali. Salah satu target seluruh dunia untuk penyakit tidak menular yaitu dengan mengurangi prevalensi hipertensi sebesar 25% pada tahun 2025. Penderita hipertensi di dunia jumlahnya terus meningkat setiap tahun, diperkirakan pada tahun 2025 akan ada 1,5 miliar orang yang terkena hipertensi. Diperkirakan juga bahwa setiap tahun ada 9,4 juta orang meninggal akibat hipertensi dan komplikasi.

Obat anti hipertensi yang sering digunakan berdasarkan mekanisme kerjanya terdiri dari golongan *Angiotensin II Receptor Blockers*, golongan *Calcium Channel Blockers*, golongan Diuretik, golongan *Beta Blockers* dan golongan *Angiotensin Converting Enzyme (ACE) Inhibitor* (DiPiro, 2015). Pada saat ini obat-obat golongan ACE inhibitor dan *Angiotensin II Receptor Blockers* masih menjadi pilihan pertama untuk pasien hipertensi. Namun kedua golongan obat tersebut memiliki beberapa efek samping yang merugikan seperti batuk kering, angioedema dan berbahaya untuk wanita hamil (Katzung, 2014).

Dengan adanya kejadian tersebut maka di lakukan pengembangan obat baru untuk mengatasi hipertensi dengan memanfaatkan senyawa bahan alam dengan mencari senyawa baru yang diduga memberikan efek yang lebih baik dari obat yang berada di pasaran.

Metode pengembangan obat paling mutakhir salah satunya berdasarkan pendekatan komputasi (*in silico*). Metode kimia komputasi telah dikembangkan dan banyak digunakan untuk pengembangan hipotesis farmakologi dan pengujian (Ekins dkk., 2007).

Metode kimia komputasi memberikan hasil pengujian yang sangat jauh lebih memadai dari prediksi teoritis, mudah untuk digunakan, tidak mahal dan aman (Rode, dkk., 2007). Metode *in silico* yang digunakan yaitu *Virtual Screening*.

Virtual screening adalah teknik komputasi yang digunakan untuk menyaring senyawa potensial terhadap protein target spesifik dari perpustakaan senyawa kimia. Tujuannya untuk menghasilkan senyawa dengan aktivitas biologis yang ditentukan, menghambat protein target secara lebih efisien, hingga jumlah yang dapat dikelola.

1.2. Rumusan masalah

1. Apakah terdapat senyawa herbal yang dapat menghambat reseptor Mineralokortikoid?
2. Bagaimanakah cara mencari kandidat senyawa herbal terbaik sebagai antihipertensi?

1.3. Tujuan dan manfaat penelitian

Untuk mendapatkan kandidat senyawa terbaik sebagai antagonis reseptor mineralokortikoid pada penyakit hipertensi menggunakan metode *virtual screening*.

1.4. Hipotesis penelitian

Diduga antagonis reseptor mineralokortikoid berpotensi sebagai kandidat senyawa obat terbaik sebagai anti hipertensi.

1.5. Tempat dan waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2019 – Mei 2020 di Laboratorium Kimia Komputasi Universitas Bhakti Kencana Jl. Soekarno Hatta No. 754, Bandung, Jawa Barat.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

II.1. Penyakit Hipertensi

Hipertensi merupakan keadaan tekanan darah arteri (*Blood Pressure*) yang terus meningkat. Hipertensi sistolik terisolasi adalah nilai tekanan darah diastolik (DBP) kurang dari 90 mmHg dan nilai tekanan darah sistolik (SBP) 140 mmHg atau lebih (Dipiro, 2015). Menurut Kementerian Kesehatan pada tahun 2013, jika peningkatan tekanan darah berlangsung secara lama kemungkinan menyebabkan komplikasi seperti kerusakan pada organ jantung, otak dan ginjal jika tidak dideteksi semenjak dini dan mendapat pengobatan yang tidak layak.

Menurut *World Health Organization* (WHO), hipertensi dikenal sebagai tekanan darah tinggi atau meningkat. Suatu kondisi dimana pembuluh darah terus-menerus meningkatkan tekanan. Darah dibawa dari jantung ke seluruh bagian tubuh di pembuluh. Setiap kali jantung berdetak, terus memompa darah ke pembuluh darah. Tekanan darah diciptakan oleh kekuatan darah yang mendorong dinding pembuluh darah (arteri) karena dipompa oleh jantung. Semakin tinggi tekanan, semakin sulit jantung memompa.

Berdasarkan data terbaru Riskesdas 2018, prevalensi hipertensi di Indonesia berdasarkan provinsi sebesar 8,4%. Prevalensi yang tertinggi terjadi di Sulawesi Utara (13,2%) dan yang terendah di Papua (4,4%). Sementara itu, peningkatan prevalensi hipertensi pada penduduk usia 18 tahun ke atas sebesar 34,1%. Dilihat dari data BPJS Kesehatan, biaya pelayanan hipertensi mengalami peningkatan setiap tahunnya mencapai Rp. 2,8 triliun pada 2014, Rp. 3,8 triliun pada 2015, dan Rp. 4,2 triliun pada 2016.

Faktor risiko penyakit hipertensi meliputi:

- a. Umur
- b. Jenis kelamin
- c. Riwayat keluarga
- d. Genetik (faktor risiko yang tidak dapat diubah/dikontrol)
- e. Kebiasaan merokok
- f. Konsumsi garam
- g. Konsumsi lemak jenuh
- h. Penggunaan jelantah
- i. Kebiasaan konsumsi minuman beralkohol

- j. Obesitas
- k. Kurang aktifitas fisik
- l. Stress
- m. Penggunaan estrogen

Tabel II.1 Klasifikasi penyakit hipertensi menurut *The Joint National Committee (JNC) 8*

Klasifikasi	Sistolik (mmHg)	Diastolik (mmHg)
Optimal	<120	<80
Normal	<130	<85
Normal Tinggi	130 - 139	85 – 89
Hipertensi derajat 1	140 – 159	90 – 99
Hipertensi derajat 2	160 - 179	100 – 109
Hipertensi derajat 3	≥ 180	≥ 110

Menurut Kementerian Kesehatan tahun 2013, hipertensi diklasifikasikan menjadi:

1. Berdasarkan penyebab

a. Hipertensi Primer/Esensial

Hipertensi idiopatik dimana tidak diketahui penyebabnya baik dari pola makan maupun gaya hidup. Terdapat sekitar 90% penderita.

b. Hipertensi Sekunder/Non Esensial

Hipertensi yang diketahui penyebabnya yaitu penyakit ginjal pada 5-10% penderita dan kelainan hormonal atau pemakaian obat tertentu seperti Pil KB pada 1-2% penderita.

2. Berdasarkan bentuk

a. Hipertensi Diastolik,

b. Hipertensi Campuran, dan

c. Hipertensi Sistolik

Jenis hipertensi lain:

1. Hipertensi pulmonal

Peningkatan tekanan darah pada pembuluh darah arteri paru-paru hingga menyebabkan sesak nafas, pusing dan pingsan. Umumnya terjadi pada usia muda dan pertengahan. Dan lebih banyak dialami oleh perempuan dengan perbandingan 2:1. Menurut *National Institute of Health dikatakan* hipertensi pulmonal apabila tekanan sistolik lebih dari 35 mmHg, atau lebih dari 25 mmHg pada saat istirahat dan lebih dari 30 mmHg pada saat melakukan aktifitas.

2. Hipertensi pada kehamilan

- a. Preeklampsia-eklampsia yaitu hipertensi diakibatkan kehamilan atau keracunan kehamilan dan didapatkan kelainan pada air kencingnya.
- b. Hipertensi kronik yaitu hipertensi yang telah ada semenjak ibu mengandung.
- c. Preeklampsia pada hipertensi kronik yaitu gabungan preeklampsia dengan hipertensi kronik.
- d. Hipertensi gestasional (hipertensi sesaat).

II.1.1 Patofisiologi

Hipertensi dapat disebabkan oleh penyebab yang tidak diketahui (hipertensi primer atau essential) atau penyebab spesifik (hipertensi sekunder). Hipertensi sekunder (<10% kasus) biasanya disebabkan oleh penyakit ginjal kronis (CKD) atau penyakit renovaskular. Kondisi lain yaitu *Cushing Syndrom*, koarktasio aorta, apnea tidur obstruktif, hiperparatiroidisme, pheochromocytoma, aldosteronisme primer, dan hipertiroidisme. Obat-obatan yang dapat meningkatkan tekanan darah yaitu kortikosteroid, obat Antiinflamasi Non-Steroid (NSAID), amfetamin, sibutramine, cyclosporine, tacrolimus, erythropoietin, dan venlafaxine (Dipiro, 2015).

Patofisiologi hipertensi yaitu terbentuknya angiotensin II dari angiotensin I dengan bantuan *Angiotensin I Converting Enzyme* (ACE). ACE berperan penting dalam mengatur tekanan darah. Darah mengandung angiotensin yang diproduksi di hati. Oleh hormon renin akan diubah menjadi angiotensin I. Angiotensin I diubah menjadi angiotensin II oleh ACE yang terdapat di paru-paru (Anggraini, 2009).

II.1.2 Gambaran Klinis

1. Pasien hipertensi primer tanpa komplikasi biasanya tidak menunjukkan gejala pada awalnya (Dipiro, 2015).
2. Pasien hipertensi sekunder mungkin memiliki gejala kelainan yang mendasarinya. Pasien dengan pheochromocytoma mungkin mengalami sakit kepala, berkeringat, takikardia, jantung berdebar, dan hipotensi ortostatik. Pada aldosteronisme primer, gejala hipokalemik dari kram otot dan kelemahan mungkin ada. Pasien dengan *Cushing Syndrom* mungkin mengalami kenaikan berat badan, poliuria, edema, ketidakteraturan menstruasi, jerawat berulang, atau kelemahan otot di samping fitur klasik (wajah bulan, punuk kerbau, dan hirsutisme) (Dipiro, 2015).

II.1.3 Terapi Pengobatan

1. Non Farmakologi

- a. Mengubah gaya hidup :
 1. Menurunkan berat badan jika kelebihan berat badan,
 2. Mengikuti cara diet dari *Dietary Approach to Stop Hypertension (DASH) eating plan*,
 3. Pembatasan natrium makanan direkomendasikan untuk 1,5 g / hari (3,8 g / hari natrium klorida),
 4. Aktivitas fisik seperti aerobik yang teratur,
 5. Konsumsi alkohol sedang (dua atau kurang minuman per hari), dan
 6. Berhenti merokok.
- b. Perubahan gaya hidup saja sudah cukup untuk sebagian besar pasien dengan hipertensi tetapi tidak untuk pasien dengan hipertensi dan faktor risiko penyakit kardiovaskular tambahan atau kerusakan organ target terkait hipertensi (DiPiro, 2015).

2. Farmakologi

Obat anti hipertensi yang sering digunakan berdasarkan mekanisme kerjanya terdiri dari golongan *Angiotensin II Receptor Blockers*, golongan *Calcium Channel Blockers*, golongan Diuretik, golongan *Beta Blockers* dan golongan *Angiotensin Converting Enzyme (ACE) Inhibitor*. (DiPiro dkk., 2015)

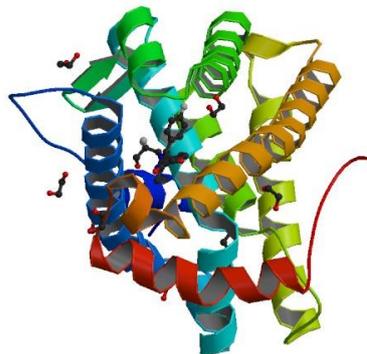
Antagonis reseptor mineralokortikoid telah digunakan untuk banyak kondisi klinis dalam sistem kardiovaskular. Obat golongan ini merupakan obat diuretik yang memusuhi aksi aldosterone pada reseptor mineralokortikoid. Antagonis reseptor mineralokortikoid adalah obat diuretik yang bekerja terutama pada ginjal. Mereka menurunkan reabsorpsi natrium yang menyebabkan peningkatan ekskresi air oleh ginjal (Clark dkk., 2013). Dengan mengatur ekskresi air, antagonis reseptor mineralokortikoid menurunkan tekanan darah dan mengurangi cairan di sekitar jantung yang sangat bermanfaat dalam beberapa kondisi penyakit kardiovaskular. Contoh obat golongan antagonis reseptor mineralokortikoid yaitu spironolakton dan eplerenone.

II.2. Antagonis Reseptor Mineralokortikoid

Mineralocorticoid Receptor (MR) adalah anggota keluarga besar reseptor hormon nuklir (NHR), yang memiliki struktur homologi yang tinggi dengan reseptor hormon steroid

lainnya, contohnya oleh reseptor androgen (AR), reseptor progesteron (PR), dan reseptor glukokortikoid (GR). Aldosteron merupakan ligan alami utama untuk MR, bekerja mengatur cairan tubuh dan keseimbangan elektrolit melalui pengikatan pada MR dalam ginjal dan berperan penting dalam mengontrol tekanan darah. (Fardella dkk., 1996)

Antagonis reseptor mineralokortikoid merupakan obat diuretik yang bekerja terutama pada ginjal. Bekerja dengan menurunkan reabsorpsi natrium yang menyebabkan peningkatan ekskresi air oleh ginjal (Guichard dkk., 2013). Dengan mengatur ekskresi air, antagonis reseptor mineralokortikoid menurunkan tekanan darah dan mengurangi cairan di sekitar jantung yang dapat sangat bermanfaat dalam beberapa kondisi penyakit kardiovaskular. Antagonis reseptor mineralokortikoid telah digunakan untuk banyak kondisi klinis dalam sistem kardiovaskular. Telah terbukti bermanfaat untuk penyakit seperti aldosteronisme primer, hipertensi primer dan resisten, gagal jantung dan penyakit ginjal kronis. Sering dikombinasikan dengan obat lain, seperti ACE inhibitor atau *beta blocker*. (Maron dkk., 2010)



Gambar II.1 Struktur reseptor Mineralokortikoid (4PF3)

“Mineralocorticoid receptor ligand-binding domain with compound 37a”

Classification : *Transcription Inhibitor*

Organism : *Homo Sapiens*

Method : *X-ray Diffraction*

Resolution : 1,1 Å

Ligan alami : HFN (C₂₁H₃₈F₃N₃O₃)

6-[1-(2,2-difluoro-3-hydroxypropyl)-5-(4-fluorophenyl)-3-methyl-1H-pyrazol-4-yl]-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-one

Released : 2014-11-26

II.3. Kimia Komputasi

Metode pengembangan obat paling mutakhir salah satunya berdasarkan pendekatan komputasi (*in silico*). Metode kimia komputasi telah dikembangkan dan banyak digunakan untuk pengembangan hipotesis farmakologi dan pengujian (Ekins dkk., 2007). Kimia komputasi dikenal sebagai ilmu yang menjembatani antara kimia teori dengan kimia eksperimen karena kimia komputasi ini memiliki kelebihan tersendiri dibandingkan dengan kimia eksperimen.

Kimia komputasi dapat memecahkan masalah-masalah yang tidak dapat diselesaikan secara eksperimen. Kimia komputasi digunakan untuk menjelaskan beragam sistem kimia dengan kompleksitas yang sangat luas (Pranowo, 2002). Metode kimia komputasi memberikan hasil pengujian yang jauh lebih memadai dari prediksi teoritis, mudah untuk digunakan, tidak mahal dan aman (Rode dkk., 2007).

II.4. Sumber Dataset dan Database

II.4.1 Active set compound

Active set compound adalah senyawa yang sudah terbukti aktif dan memiliki aktivitas yang diinginkan dari database lain sesuai dengan data yang diinginkan. Untuk memilih *active set compound* yaitu dengan mengaksesnya secara langsung pada ChEMBL (Gaulton dkk., 2012). ChEMBL adalah database bioaktivitas skala besar terbuka yang berisi informasi yang sebagian besar diekstraksi secara manual dari literatur kimia kedokteran. Informasi mengenai senyawa yang diuji (termasuk strukturnya), uji biologis atau fisikokimia yang dilakukan pada senyawa ini, dan target uji ini dicatat dalam bentuk terstruktur, yang memungkinkan pengguna untuk menjawab berbagai pertanyaan tentang penemuan obat. Pada ChEMBL, dipilih kelompok senyawa yang memiliki aktivitas yang sudah terbukti aktif berdasarkan keterangan aktifitas yang dilihat pada dokumen terpilih dan diunduh dalam format *.xlsx agar dapat dibaca melalui Microsoft Office Excel pada kolom *Activity_Comment*. Dipilih 50 senyawa yang memiliki nilai IC_{50} dengan rentang 0-40.000 nM serta terbukti berpotensi aktif dari kolom *Standard_Type*.

II.4.2 ChEMBL

ChEMBL merupakan database terbuka yang berisi informasi, fungsional dan ADMET untuk sejumlah besar senyawa bioaktif seperti obat. Basis data ini berisi lebih dari 1 juta

senyawa dan 12.482 target protein. ChEMBL dapat di akses secara bebas pada (<https://www.ebi.ac.uk/chembl/db>).

II.4.3 Decoy Set Compound

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

II.4.4 Database Uji

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

II.5. Virtual Screening

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

Virtual screening atau *in silico screening* bertujuan untuk mencari senyawa pemandu dengan mereduksi sejumlah besar senyawa kimia untuk dilihat interaksinya terhadap protein target tertentu. Pada penerapannya dibatasi oleh sifat-sifat dari senyawa yang dapat dihitung secara komputasi. Sehingga perlu dilakukan pertimbangan lebih lanjut pada perhitungan untuk database yang cukup besar atau mencapai satu juta senyawa (Vyas dkk., 2008).

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

1. *Structure-Based Virtual Screening* (SBVS)

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

2. *Ligand-Based Virtual Screening* (LBVS)

Ligand based virtual screening bertujuan untuk menemukan kandidat suatu obat menggunakan model farmakofor. LBVS dipilih ketika tidak ada struktur tiga dimensi (3D) dari protein target yang tersedia. Metode LBVS menggambarkan interaksi antara suatu molekul sebagai ligan dengan suatu reseptor atau protein (Reddy dkk., 2007).

II.5.1 PyRx

PyRx merupakan perangkat lunak desain obat secara komputasi dari program *AutoDock* dan *Vina* untuk melakukan otomatisasi preparasi, *screening* dan analisis. Digunakan sebagai pustaka senyawa terhadap sasaran obat yang potensial. PyRx merupakan perangkat *docking* untuk *Computer-Aided Drug Design* (CADD). (Yanuar, 2012)

II.6. *Protein Data Bank*

Protein Data Bank (PDB) adalah basis data untuk data struktural tiga dimensi dari molekul biologis besar, seperti protein dan asam nukleat. Data biasanya diperoleh dengan kristalografi sinar-X, spektroskopi NMR, *cryo-electron microscopy*, dan diserahkan oleh ahli biologi dan ahli biokimia dari seluruh dunia, dapat diakses secara bebas di Internet melalui situs web organisasi anggotanya (PDBe, PDBj, RCSB dan BMRB). PDB diawasi oleh organisasi bernama *Worldwide Protein Data Bank*, wwPDB (Consortium, 2018).

RCSB *Protein Data Bank* (<http://www.rcsb.org>) merupakan situs yang mengembangkan alat deposisi, anotasi, permintaan, analisis dan visualisasi, dan sumber daya pendidikan yang digunakan dengan arsip PDB (Rose dkk., 2015). Pada situs PDB terdapat parameter-parameter yaitu parameter organisme terdiri dari *Homo sapiens* dan *Mus musculus*, *Rattus norvegicus*, *Escherichia coli*, *Ovis aries*, *Bos taurus*, *Drosophila*

melanogaster, *Oryctolagus cuniculus*, *Bacillus amyloliquefaciens*. Parameter metode experimental terdapat X-ray, NMR, mikroskopik elektron. Sedangkan pada struktur protein tersebut secara umum resolusi yang paling baik adalah kurang dari 2 Å.

II.7. Model Farmakofor

Model farmakofor merupakan metode *virtual screening* yang digunakan untuk mengevaluasi jutaan senyawa dengan komputer yang bertujuan untuk membentuk fitur interaksi ligan-protein yang paling penting untuk mengikat dan aktivitas biologis dan metode berbasis ligan yang tidak memerlukan informasi struktural tentang target tetapi menggunakan data yang dihasilkan dari pengujian molekul dalam biokimia atau tes fungsional dari target yang sesuai dengan model empiris yang menghubungkan atribut senyawa untuk diuji hasil (Liu dkk., 2018).

Beberapa pendekatan yang telah dikembangkan untuk mendapatkan model farmakofor berbasis protein dan berbasis ligan yang menerapkan model farmakofor dalam *virtual screening* (Hu dan Lill, 2014).

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

Pada fitur farmakofor ditentukan dalam tiga tahapan yaitu membuat database konformasi dengan menggunakan satu set senyawa yang telah dioptimasi, membuat *Query Pharmacophore* dengan memilih titik anotasi berdasarkan pengikatan ligan protein yang hasil analisis PLIF, kemudian penyempurnaan struktur *Query* yang dapat dihitung dengan konformasi senyawa-senyawa aktif (Hamzah, 2013).

II.8. Molecular Docking

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

Metode *docking* berdimensi tinggi secara efektif dan menggunakan fungsi skoring yang tepat untuk menyusun senyawa kandidat. *Docking* dapat digunakan untuk melakukan *virtual screening* pada pustaka besar senyawa, memberi peringkat hasil, dan mengusulkan hipotesis struktural tentang ligan yang menghambat target. Proses *docking* dilakukan dengan berbagai persiapan perangkat lunak komputer seperti *Autodock* dan *Autodock Vina*. *Autodock* adalah sebuah perangkat lunak yang digunakan untuk melakukan suatu prosedur dalam memprediksikan interaksi sebuah molekul kecil dari suatu senyawa dengan molekul target. Sedangkan *Autodock Vina* tidak memerlukan penggunaan atau pemilihan jenis penanda atom dan pra-kalkulasi *grid* tetapi pada perhitungan *grid* dilakukan pada jenis atom yang diperlukan (Yanuar, 2012).

II.9. Validasi Molecular Docking

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

Selain dari nilai RMSD, parameter validasi juga bisa dilihat dengan menggunakan parameter validasi *virtual screening* atau sebagai parameter validasi retrospektif (Huang dkk., 2006).

II.10. Validasi Virtual Screening

Validasi yang dilakukan pada metode permodelan farmakofor dengan LigandScout 4.3 adalah dengan melihat nilai AUC dan EF yang memenuhi standar dari hasil rasio antara satu set senyawa aktif dan satu set senyawa *decoy* yang ditampilkan dalam kurva ROC yang memberikan ringkasan visual serta *numeric* dari *predictor* yang berbeda dengan

indeks kerja yang sederhana dapat diterima. Kurva ROC mewakili distribusi yang ideal, tidak ada tumpang tindih antara skor molekul senyawa aktif dan tidak aktif. Kurva ROC yang ideal dapat divisualisasikan sebagai garis lurus horizontal ke arah sudut kanan atas dimana semua senyawa aktif dan tidak aktif diambil, yang sesuai dengan spesifitas dan sensitifitasnya.

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

Validasi yang dilakukan pada *virtual screening* berbasis farmakofor dapat dilihat dari parameter-parameter yang berlaku pada LigandScout 4.3 yaitu *Enrichment Factor* (EF), *Sensitivitas* (Se), *Spesifitas* (Sp), Akurasi (ACC), Hasil akhir (Ya), dan *Goodness of Hit-list* (GH) (Braga dkk., 2013).

1. Faktor Pengayaan (EF)

Metode ukuran faktor pengayaan lebih baik dari daftar yang diurutkan secara acak. Cara yang paling sering digunakan dan paling sederhana untuk menghitung adalah pengayaan pada persentase tertentu dari database yang disaring. Pada *LigandScout* 4.3 nilai EF dapat diperoleh nilai EF secara otomatis yang dapat langsung dilihat pada kurva ROC. Nilai EF yang dikatakan valid dan memenuhi syarat ialah $EF > 1.0$ (Braga, 2013).

2. Sensitivitas (Se)

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

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

3. Spesifitas (Sp)

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

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

4. Accuracy (ACC)

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

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

5. Yield of actives (Ya)

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

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

6. Goodness of Hit-list (GH)

GH menggabungkan sensitivitas, spesifitas, dan hasil aktif. Ukuran yang berguna untuk evaluasi adalah model farmakofor karena menganggap keduanya rasio aktif dan rasio tidak aktif. Kuantitas senyawa aktif biasanya berbobot lebih tinggi dari pada aktif dalam hit-list (Braga & Andrade, 2013). Misalnya, Ya dengan 3/4 dan Se dengan hanya 1/4. Jadi, nilai GH yang tinggi hanya dapat dicapai dengan nilai tinggi aktif dan rendah rasio negatif palsu pada saat yang sama.

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

7. Area Under Curve (AUC)

AUC dapat dihitung sebagai jumlah dari semua persegi panjang yang dibentuk oleh sensitivitas dan spesifitas dengan nilai untuk ambang batas yang berbeda. Sebuah nilai AUC yang tinggi menunjukkan klasifikasi yang lebih baik. Kinerja sempurna

dari skrining secara komputasi memberikan AUC yang baik apabila menunjukkan nilai AUC pada rentang 0,50 - 1,0. Nilai AUC yang kurang dari 0,50 menunjukkan bahwa sejumlah senyawa inaktif lebih tinggi dibandingkan senyawa aktif yang dikenal *software* (Andrade, 2013).

Tabel II.2 Fitur-fitur farmakofor dalam LigandScout 4.3

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