

**PENAMBATAN MOLEKUL DAN SIMULASI DINAMIKA MOLEKUL SENYAWA
ALKALOID IMIDAZOL DAN INDOL SEBAGAI ANTAGONIS ADENOSIN A2A
UNTUK PENYAKIT PARKINSON**

Laporan Tugas Akhir

**Ryan Khunam Alamhari
11161050**



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

LEMBAR PENGESAHAN

PENAMBATAN MOLEKUL DAN SIMULASI DINAMIKA MOLEKUL SENYAWA ALKALOID IMIDAZOL DAN INDOL SEBAGAI ANTAGONIS ADENOSIN A2A UNTUK PENYAKIT PARKINSON

Laporan Tugas Akhir

Diajukan untuk memenuhi syarat kelulusan Program Strata I Farmasi

Ryan Khunam Alamhari

11161050

Bandung, Agustus 2020

Menyetujui,

Pembimbing Utama,



(Dr. Aiyi Asnawi, M.Si)

Pembimbing Serta,



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

ABSTRAK

PENAMBATAN MOLEKUL DAN SIMULASI DINAMIKA MOLEKUL SENYAWA ALKALOID IMIDAZOL DAN INDOL SEBAGAI ANTAGONIS ADENOSIN A2A UNTUK PENYAKIT PARKINSON

Oleh :

Ryan Khunam Alamhari

11161050

Parkinson merupakan penyakit degeneratif jangka panjang yang mempengaruhi sistem motorik yang terjadi dalam sistem saraf pusat di otak. Terapi antiparkinson saat ini memiliki efek samping yang signifikan seperti halusinasi, dan hipotensi. Salah satu reseptor yang berperan penting dalam mengatur sistem motorik adalah reseptor Adenosin A2A. Penghambatan reseptor Adenosin A2A dapat meningkatkan kerja sistem motorik dalam sistem saraf pusat. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh senyawa pemandu dari alkaloid golongan imidazol dan indol yang berpotensi sebagai antiparkinson melalui mekanisme penghambatan pada reseptor Adenosin A2A. Pendekatan yang digunakan secara *in silico* melalui metode penambatan molekul menggunakan *AutoDock 4.2*, dan dilanjutkan dengan metode simulasi dinamika molekul menggunakan *AMBER 18*. Simulasi penambatan molekul 25 senyawa uji dilakukan setelah diperoleh lokasi penambatan yang valid. Nilai ΔG untuk tiga senyawa dengan energi terbaik (**22**, **17**, dan **21**) berturut-turut adalah -10,17; -10,02; dan -9,66 kkal/mol dilanjutkan ke tahap MD. Hasil simulasi dinamika molekul untuk senyawa **22**, **17**, dan **21** menunjukkan kestabilan dicapai pada waktu berturut – turut setelah 17, 23, dan 35 ns dengan nilai energi bebas ikatan MMGBSA secara berturut-turut adalah -48,73; -47,15; dan -42,46 kkal/mol. Disimpulkan bahwa senyawa alkaloid indol dengan kode ligan **22** dan **17** berpotensi sebagai senyawa pemandu yang memiliki afinitas dan stabilitas interaksi terhadap reseptor Adenosin A2A.

Kata Kunci : Adenosin A2A, Alkaloid imidazol, Alkaloid indol, Dinamika molekul, Parkinson, Penambatan molekul

ABSTRACT

DOCKING AND MOLECULAR DYNAMIC SIMULATION IMIDAZOL AND INDOL ALKALOID COMPOUNDS AS ADENOSIN A2A ANTAGONIS FOR PARKINSON'S DISEASE

By :

Ryan Khunam Alamhari
11161050

*Parkinson's is a long-term degenerative disease that affects the motor system that occurs in the central nervous system in brain. Antiparkinson's therapy currently has significant side effects, such as hallucinations and hypotension. One receptor that plays an essential role in the motor system is the Adenosine A2A receptor. Inhibition of the Adenosine A2A receptor can improve motor work system in the central nervous system. This study aims to obtain a lead compound from imidazole and indole alkaloid as antiparkinson's by inhibitory of the Adenosine A2A receptor. The method used in silico through of molecular docking method uses AutoDock 4.2 and using the molecular dynamics simulation method using AMBER 18. Docking to 25 compound's are carried out after obtaining a valid docking location. The value of ΔG for three compound's with the best energy (**22**, **17**, and **21**) is -10.17; -10.02; and -9.66 kcal/mol will proceed to molecular dynamics simulation. Molecular dynamics simulation results for compound's of **22**, **17**, and **21** show stability after 17, 23, and 35 ns with a free energy value of MMGBSA is -48.73; -47,15; and -42.46 kcal/mol. It was concluded that an indole alkaloid compound's ligand **22**, and **17** is a lead compound with had affinity and stability interaction for the Adenosine A2A receptor.*

Keywords: Adenosine A2A, Docking, Imidazole Alkaloids, Indole Alkaloids, Molecular Dynamics, Parkinson's

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Warohmatullohi Wabarakatuh

Segala puji dan syukur saya panjatkan ke hadirat Allah SWT yang maha pengasih dan penyayang serta senantiasa mencurahkan nikmat dan karunianya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi yang berjudul “Penambatan molekul dan simulasi dinamika molekul senyawa alkaloid imidazol dan indol sebagai antagonis Adenosin A2a untuk penyakit parkinson”.

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

1. Orang tua dan keluarga yang selalu memberikan dukungan moril, materil serta motivasi dan doanya.
2. Bapak Dr. Aiyi Asnawi selaku pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan, saran, dan nasehat dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini.
3. Bapak Dr. apt. Fauzan Zain Muttaqin M.Si selaku pembimbing serta yang telah memberikan bimbingan, saran dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini.
4. Pak Rifqi Nur Fauzi S.Farm dan Teh Naura Nurnahari S.Farm sebagai kakak tingkat yang telah memberikan ilmu serta pengalamannya.
5. Tedi Kadarusman dan Ilham Kiswandar sebagai rekan penambatan dan dinamika molekul yang telah membantu bekerja sama memecahkan permasalahan.
6. Nadhira Zakiyah yang telah membantu dalam desain power point
7. Rekan seperjuangan RUBI Analisis Farmasi dan Kimia Medisnial khususnya Kimia Medisinal yang bersama - sama berjuang dalam segala hal.
8. Teman – teman satu angkatan yang telah memberikan dukungan dan semangat dalam menyelesaikan skripsi ini.

Akhir kata, penulis berharap Allah SWT akan membalas semua kebaikan segala pihak yang telah membantu. Penulis menyadari masih banyak kekurangan pada skripsi ini, namun penulis berharap semoga skripsi ini berguna bagi perkembangan ilmu pengetahuan.

Wassalamu'alaikum Warohmatullohi Wabarakatuh

Bandung, Agustus 2020

Penulis

DAFTAR ISI

ABSTRAK	i
<i>ABSTRACT</i>	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR LAMPIRAN	vii
DAFTAR TABEL	viii
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar belakang	1
I.2 Rumusan masalah	2
I.3 Tujuan penelitian	2
I.4 Hipotesis penelitian	2
I.5 Tempat dan waktu dan penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1 Parkinson	4
II.1.1 Etiologi	4
II.2 Reseptor Adenosin A2A	5
II.3 Alkaloid	6
II.3.1 Alkaloid imidazol	6
II.3.2 Alkaloid indol	7
II.4 Computer Aided Drug Design (CADD)	7
II.4.1 Optimasi geometri	8
II.4.1.1 Parameter sifat fisikokimia	8
II.4.1.2 DFT	9
II.4.2 Penambatan molekul	9
II.4.2.1 Tahapan penambatan molekul	9
II.4.2.2 Parameter Penambatan Molekul	9
II.4.2.3 Validasi Penambatan Molekul	10
II.4.2.4 Visualisasi Penambatan Molekul	11
II.4.2.5 AutoDock	11

II.4.3 Dinamika molekul	13
II.4.3.1 Tahapan simulasi dinamika molekul	13
II.4.3.2 Parameter simulasi dinamika molekul	15
II.4.3.3 AMBER	17
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	18
BAB IV PROSEDUR PENELITIAN	19
IV.1 Persiapan ligan	19
IV.2 Persiapan reseptor	19
IV.3 Validasi penambatan molekul	19
IV.4 Simulasi penambatan molekul	19
IV.5 Simulasi dinamika molekul	20
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	21
V.1 Penyiapan ligan uji	21
V.2 Preparasi reseptor Adenosin A2A	23
V.3 Validasi penambatan molekul	24
V.4 Penambatan ligan uji	27
V.5 Simulasi dinamika molekul	28
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	33
VI.1 Kesimpulan	33
VI.2 Saran	33
DAFTAR PUSTAKA	34

DAFTAR GAMBAR

Gambar II. 1 Mekanisme neuron pada keadaan normal.	5
Gambar II.2 Skema Neuronal dalam Basal Ganglia (a), Struktur 3D Reseptor Adenosin A2A (b)..	5
Gambar II.3 Struktur heterosiklik golongan alkaloid.	6
Gambar II.4 Struktur inti alkaloid imidazol.....	7
Gambar II.5 Struktur inti alkaloid indol.....	7
Gambar II.6 Visualisasi interaksi ligan dengan protein atomik.	11
Gambar VI.1 Bagian sekuens Adenosin A2A.....	24
Gambar VI.2 Visualisasi tumpang tindih ligan alami hasil penambatan ulang (kuning).	25
Gambar VI.3 Visualisasi interaksi reseptor Adenosin A2A-ligan alami ZMA.	26
Gambar VI.4 Visualisasi 2D dan 3D interaksi reseptor Adenosin A2A dengan ligan 22.	28
Gambar VI.5 Visualisasi kompleks reseptor Adenosin A2A-ligan alami dalam pelarut air.	29
Gambar VI.6 Grafik RMSD sistem ligan alami dan ligan 22.	30
Gambar VI.7 Grafik RMSF.	31

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Pemodelan Struktur Ligan 2D dan 3D	38
Lampiran 2 Interaksi Hasil Penambatan Molekul Ligan Uji	43
Lampiran 3 Visualisasi 2D dan 3D Interaksi Penambatan Molekul Ligan Uji.....	50
Lampiran 4 Grafik RMSD Ligan Uji Simulasi Dinamika Molekul.....	55
Lampiran 5 Prosedur dan Script Komputasi	57

DAFTAR TABEL

Tabel VI.1 Sifat fisikokimia ligan uji	21
Tabel VI.2 Parameter validasi penambatan molekul	25
Tabel VI.3 Interaksi reseptor Adenosin A2A-ligan alami ZMA	26
Tabel VI.4 Hasil penambatan molekul ligan uji	27
Tabel VI.5 Ikatan hidrogen selama simulasi dinamika molekul.....	31
Tabel VI.6 Hasil perhitungan MMGBSA	32

BAB I PENDAHULUAN

I.1 Latar belakang

Parkinson adalah penyakit degeneratif jangka panjang dengan prevalensi kematian paling tinggi di antara penyakit neurologi lainnya. Aktifitas neurotransmitter dopamin dan degenerasi neuron yang terganggu menyebabkan sistem motorik tidak berfungsi secara normal. (Toy et al, 2016). Jumlah penderita parkinson di dunia diperkirakan sebanyak 6,1 juta mengalami peningkatan sebanyak 2,4 kali lipat dibandingkan tahun 1990 di mana penderita berjumlah hanya 2,5 juta jiwa di seluruh dunia (Dorsey et al, 2016). Di Indonesia diperkirakan prevalensi penyakit parkinson pada tahun 2030 akan meningkat dua kali lipat dari tahun 2005 yang prevalensinya sebesar 90.000 jiwa (Hanriko & Anzani, 2018).

Tujuan terapi dari penyakit parkinson meningkatkan aktifitas motorik dengan meningkatkan dopamin dalam sistem saraf pusat. Terapi awal untuk penyakit parkinson saat ini menggunakan levodopa dan agonis dopamin menjadi terapi obat yang paling baik, (Toy et al, 2016). Levodopa memiliki mekanisme kerja sebagai prekursor dopamin dan dapat melewati sawar darah otak. Agonis dopamin bekerja dengan merangsang reseptor dopamin D1, D2, maupun D3. Efek samping yang ditimbulkan dari penggunaan levodopa dan agonis dopamin dapat menyebabkan aktifitas motorik yang signifikan, halusinasi, dan hipotensi (DiPiro et al, 2016).

Reseptor Adenosin A2A berada dalam sistem saraf pusat terdapat dalam basal ganglia, memiliki peran dalam kontrol aktifitas motorik terutama terhadap reseptor dopamin. Reseptor Adenosin A2A dapat berinteraksi dengan reseptor D1 dan reseptor D2, penghambatan reseptor Adenosin A2A dapat mengurangi afinitas terhadap reseptor D2 menyebabkan stimulus aktifitas motorik meningkat, sehingga menjadikan reseptor Adenosin A2A sebagai target non *dopaminergic* untuk penyakit parkinson (Pinna et al, 2017). Struktur 3D Reseptor Adenosin A2A telah teridentifikasi dengan kode protein 5IU4, menggunakan metode difraksi sinar-X dan memiliki resolusi yang baik (Segala et al, 2016).

Tanaman obat dapat menghasilkan metabolit sekunder yang dapat berinteraksi dengan target molekul dalam sel dan jaringan atau fisiologi dalam organisme. Alkaloid merupakan golongan terbesar dan sangat beragam. Aktifitas farmakologi alkaloid ditemukan dapat mempengaruhi sistem saraf (Bribi, 2018). Imidazol dan indol adalah salah satu golongan alkaloid yang memiliki aktifitas terhadap sistem saraf dan berpotensi sebagai kandidat dalam terapi penyakit

parkinson (Shalini et al, 2014). Hasil penapisan virtual data senyawa Zinc Natural Product, imidazol dan indol memiliki potensi paling baik dalam menghambat reseptor Adenosin A2A (Ramadhanti, 2019).

Penambatan molekul dan dinamika molekul menjadi sebuah metode pendekatan untuk menentukan afinitas dan kestabilan interaksi antara ligan dengan protein target (Sliwoski et al, 2014). Penambatan molekul dapat memberikan orientasi dan energi dari situs pengikatan ligan terhadap protein, untuk membentuk kompleks yang stabil. Dinamika molekular memberikan kompleks yang stabil antara ligan dengan protein terhadap waktu, dengan kondisi mendekati fisiologi tubuh manusia (Martinez et al, 2015).

Dalam studi ini, dilakukan uji lebih lanjut dengan pendekatan simulasi CADD berbasis struktur, terhadap kandidat senyawa alkaloid golongan imidazol dan indol paling berpotensi dari senyawa Zinc Natural Product (Ramadhanti, 2019), menggunakan metode Penambatan molekul dan simulasi dinamika molekul untuk mendapatkan pendekatan afinitas dan interaksi senyawa yang berpotensi lebih baik sebagai antagonis reseptor Adenosin A2A dalam penyakit parkinson.

I.2 Rumusan masalah

Bagaimana afinitas dan stabilitas interaksi terhadap senyawa alkaloid imidazol dan indol terhadap reseptor Adenosin A2A pada keadaan yang mendekati fisiologis tubuh.

I.3 Tujuan penelitian

Mendapatkan senyawa pemandu dari senyawa alkaloid imidazol dan indol yang memiliki aktivitas sebagai antagonis reseptor Adenosin A2A. Menentukan afinitas dan stabilitas interaksi terhadap senyawa alkaloid imidazol dan indol terhadap reseptor Adenosin A2A pada keadaan yang mendekati fisiologis tubuh.

I.4 Hipotesis penelitian

Senyawa dari alkaloid imidazol dan indol menjadi senyawa pemandu sebagai antagonis reseptor Adenosin A2A.

I.5 Tempat dan waktu dan penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Aplikasi Kimia Komputasi, Fakultas Farmasi, Universitas Bhakti Kencana pada Oktober 2019 sampai Juni 2020.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

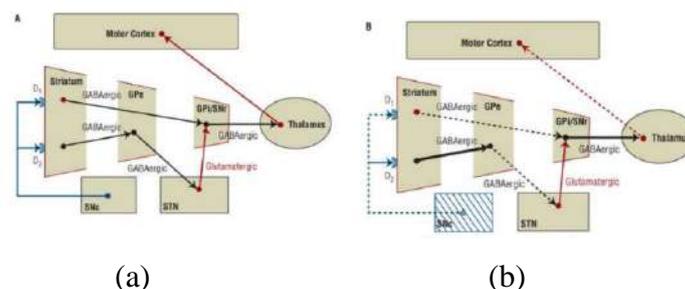
II.1 Parkinson

Parkinson adalah penyakit degeneratif jangka panjang dari sistem saraf pusat yang mempengaruhi sistem motorik, neurotransmitter yang mengalami gangguan adalah dopamin dan degenerasi neuron. Etiologi degenerasi neuron pada penyakit parkinson masih belum diketahui (Toy et al, 2016). Penyakit parkinson terjadi ketika fungsi otak dalam basal ganglia pada *substantia nigra pars compacta* (SNc) mengalami gangguan, dan di tandai dengan karakteristik seperti tremor saat istirahat, kekakuan otot dan sendi, kelambanan gerak dan bicara serta instabilitas posisi tegak (Wan & Lin, 2016).

II.1.1 Etiologi

Penyakit parkinson terjadi secara tidak tentu dan etiologi yang sebenarnya tidak diketahui. Di tingkat seluler, degenerasi neuron dopaminergik (akson dan soma) yang diproyeksikan dari substantia nigra pars compacta (SNc) ke striatum (*caudate nucleus* dan putamen) adalah ciri khas parkinson. Selain itu, neuron dalam basal ganglia, sistem saraf enterik, sistem limbik, bulbus olfaktorius sumsum tulang belakang, dan neokorteks (Toy et al, 2016).

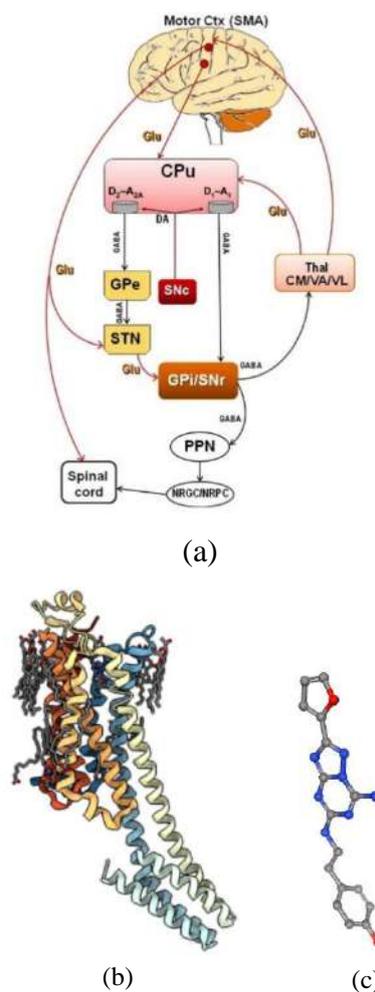
SNc dan striatum adalah daerah yang ditandai dengan tingginya tingkat stres oksidatif karena degradasi dopamin dan reaksi fenton. Biasanya, antioksidan intrinsik misalnya *glutathion buffer* terhadap stres oksidan, tetapi dalam parkinson buffer ini mungkin terganggu. Temuan patologis mengungkapkan korelasi antara tingkat kehilangan dopamin nigrostriatal dan hilangnya aktifitas motorik penyakit parkinson tertentu misalnya bradikinesia. Pada saat onset penyakit parkinson, yang diperkirakan kehilangan neuron SNc dan striatal dopamin masing-masing adalah 30% dan 50%. Kehilangan dopamin striatal melebihi hilangnya badan sel SNc karena degenerasi sel dimulai pada terminal akson presinaptik distal dan hasil dari waktu ke waktu menuju sel tubuh (DiPiro et al, 2016 dan Toy et al, 2016).



Gambar II. 1 Mekanisme neuron pada keadaan normal (a), Mekanisme neuron pada keadaan parkinson (b) (DiPiro et al, 2016).

II.2 Reseptor Adenosin A2A

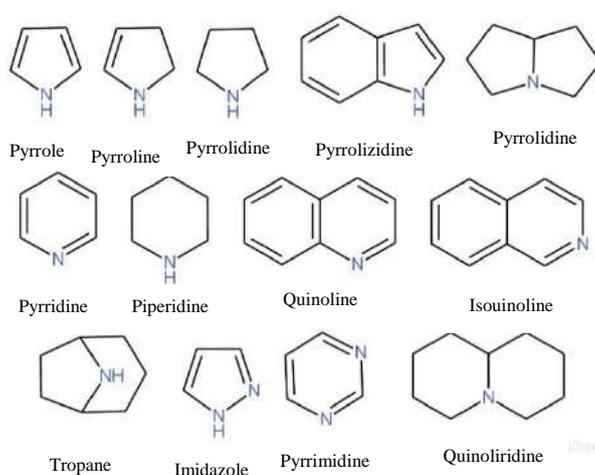
Reseptor Adenosin A2A sebagian besar di ekspresikan dalam basal ganglia, berperan untuk kontrol informasi motorik pada sistem saraf pusat. Adenosin A2A dapat berinteraksi dengan reseptor dopamin, terutama dengan reseptor dopamin D2. Adenosin A2A terlokalisasi di area basal ganglia dan terbatas pada dendrit neuron *GABAergic*, sedangkan dalam neuron striatonigral tidak mengandung cukup banyak kadar reseptor Adenosin A2A. Penghambatan reseptor Adenosin A2A jelas menunjukkan aktifitas motorik dan menimbulkan perilaku yang mirip, yang disebabkan oleh pemberian Levodopa pada tikus hemiparkinson (Pinna et al, 2017).



Gambar II. 2 Skema Neuronal dalam Basal Ganglia (Pinna et al, 2017) (a), Struktur 3D Reseptor Adenosin A2A (b) dan Struktur 3D Ligan Alami Sumber (Segala et al, 2016) (c).

II.3 Alkaloid

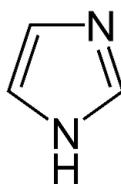
Aktifitas alkaloid sangat beragam terhadap herbivora seperti aktifitas sitotoksik, mutagenik, karsinogenik, anti bakteri, anti jamur, dan anitivirus. Banyak alkaloid yang cukup beracun bagi hewan yang dapat menyebabkan kematian. Tumbuhan yang mengandung alkaloid dilaporkan digunakan sebagai analgesic, antiseptik, dan obat penenang. Alkaloid kurtener dan turunannya memiliki banyak zat biologis dan efek terapeutik, di Cina alkaloid tetrahidropalmatin digunakan sebagai analgesik, dan telah dilaporkan menunjukkan aktivitas hipotensi, bradikardi, dan mempengaruhi sistem saraf (Bribi, 2018).



Gambar II. 3 Struktur heterosiklik golongan alkaloid (Bribi, 2018).

II.3.1 Alkaloid imidazol

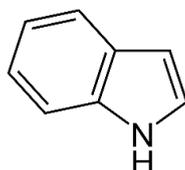
Imidazol adalah molekul heteroaromatik, imidazole memiliki sifat amfoterik yang rentan terhadap serangan elektrofilik dan nukleofilik. Sangat stabil terhadap panas, asam, kondisi dasar, oksidasi dan reduksi. memiliki hidrogen intramolekul yang luas ikatan. Terjadi dalam dua bentuk tautomerik yang setara karena atom hidrogen dapat terletak di salah satu dari dua atom nitrogen. Ikatan hidrogen dapat terikat ke satu atau atom nitrogen lainnya. Senyawa ini diklasifikasikan sebagai aromatik karena adanya cincin planar yang mengandung 6 atom . Sepasang elektron dari atom nitrogen terprotonasi dan satu dari masing-masing dari empat atom cincin yang tersisa. Aktifitas Imidazol ditemukan berpotensi sebagai kandidat terapi penyakit parkinson (Shalini et al, 2014).



Gambar II. 4 Struktur inti alkaloid imidazol (Bribi, 2018).

II.3.2 Alkaloid indol

Indol adalah molekul yang berbentuk planar dengan 10 atom terkonjugasi, 2 berasal dari nitrogen dan 8 berasal dari karbon. Sejumlah besar senyawa penting yang ada di alam Indonesia. Indol adalah padatan kristalin tidak berwarna. *Rauvolfia alkaloid*, dan khususnya reserpin, yang merupakan cikal bakal obat penenang. Penemuan dalam bidang alkaloid indol telah menjadi tujuan dari banyak peneliti (Kaushik et al, 2014). Aktifitas Indol ditemukan berpotensi sebagai kandidat terapi penyakit parkinson (Shalini et al, 2014).



Gambar II. 5 Struktur inti alkaloid indol (Bribi, 2018).

II.4 Computer Aided Drug Design (CADD)

Seiring berkembangnya teknologi dalam perancangan obat, pengembangan desain obat dapat dilakukan dengan bantuan komputer. *Computer Aided Drug Design (CADD)* terbagi menjadi dua bagian yakni *Ligand Based Drug Design (LBDD)* dan *Structure Based Drug Design (SBDD)*. LBDD yaitu desain obat berdasarkan informasi ligan yang sudah diketahui. LBDD memanfaatkan informasi sifat fisikokimia senyawa aktif sebagai landasan mendesain senyawa baru, contohnya HKSA (Hubungan Kuantitatif Struktur dan Aktivitas), penapisan virtual berbasis ligan dan pemodelan farmakofor (Sliwoski et al, 2014)

SBDD adalah desain obat berdasarkan pada informasi target reseptor, yang bertanggung jawab terhadap suatu aktivitas suatu senyawa di dalam tubuh telah diketahui. SBDD memanfaatkan informasi struktur reseptor target untuk mencari bagian sisi aktif protein yang dapat berikatan dengan senyawa obat. Berdasarkan prediksi sisi aktif protein, senyawa dapat dirancang untuk berikatan dengan reseptor dan memiliki aktivitas biologis, contohnya penambatan molekul dan simulasi dinamika molekul (Sliwoski et al, 2014).

II.4.1 Optimasi geometri

Optimasi geometri berfungsi untuk menentukan energi minimal atau terendah dari suatu molekul. Struktur dengan energi terendah dapat diinterpretasikan sebagai sistem dengan keadaan yang stabil. Senyawa hasil optimasi digunakan pada proses penambatan molekul 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 (Comba et al, 2009)

II.4.1.1 Parameter sifat fisikokimia

Parameter sifat fisikokimia merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi aksi suatu senyawa. Parameter ini dapat mencerminkan karakteristik suatu senyawa baik secara fisik dan kimianya. (Pranowo, 2011).

a. Koefisien partisi (LogP)

LogP merupakan parameter fisikokimia yang menunjukkan sifat lipofilisitas atau hidrofobisitas suatu senyawa agar bisa sampai pada target kerjanya. LogP menunjukkan bahwa semakin mudah senyawa tersebut larut dalam lemak atau menembus lapisan membran biologis. Namun, apabila nilai LogP terlalu besar sifatnya sangat lipofil maka kemungkinan sukar didistribusikan karena komponen terbesar tubuh adalah air (Pranowo, 2011). Nilai rentang LogP untuk dapat penetrasi melalui sawar darah otak adalah 1,5 – 4,6 (Vraka et al, 2017).

b. Bobot molekul (BM)

Nilai BM berkaitan dengan proses distribusi obat, distribusi obat terjadi dengan cara menembus membran biologis melalui proses difusi (Pranowo, 2011). Bobot molekul menjadi faktor penting untuk obat yang mengalami proses absorpsi misalnya obat dengan pemberian rute oral yang harus menembus membran tersebut terlebih dahulu sebelum berinteraksi dengan reseptor, dan BM yang besar juga sukar untuk melewati sawar darah otak (Case, 2018).

c. Ikatan hidrogen

Ikatan hidrogen merupakan yang spesifik jarak dekat, dan berinteraksi langsung. Ikatannya terjadi antara atom hidrogen terikat secara kovalen dan atom elektronegatif (F, N, S atau O). Analisis interaksi protein-ligan dalam data bank protein menunjukkan bahwa gugus karboksil memiliki dua tipe ikatan yang berbeda, interaksi dengan atom

karboksil oksigen dan atom nitrogen dari muatan berbagai berbagai residu asam amino (Muchtaridi, 2018).

II.4.1.2 DFT

Density Functional Theory (DFT) merupakan metode untuk menghitung energi dari suatu molekul. Metode DFT mengandalkan densitas elektron sebagai besaran besarnya sehingga persamaan Scrodinger dapat diselesaikan lebih sederhana. Penggunaan metode ini memberikan kemudahan karena dapat menghitung dengan tingkat ketelitian yang lebih akurat, namun waktu yang diperlukan lebih lama dan membutuhkan spesifikasi komputer yang tinggi. serta dapat memberikan data dalam tingkat mikroskopik yang berkorelasi signifikan dengan hasil eksperimen laboratorium (Comba et al, 2009).

II.4.2 Penambatan molekul

Penambatan molekul atau docking adalah salah satu metode yang paling sering digunakan dalam SBDD, kemampuan untuk memprediksi pendekatan posisi ligan dalam reseptor target dengan tingkat akurasi yang tinggi. Penambatan molekul merupakan metode komputasi untuk memprediksikan posisi antara reseptor biasanya berupa protein atau molekul asam nukleat (DNA atau RNA) dan ligan untuk mengetahui afinitasnya, afinitas dan interaksi ikatan antara ligan dengan protein dapat diprediksi pada posisi terbaik (Morris et al, 2008).

II.4.2.1 Tahapan penambatan molekul

1. Algoritma pencarian, yaitu menentukan pose yang 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 (Farkhani, 2012).
2. *Scoring*, yakni bertujuan untuk menghitung dan memprediksi afinitas pengikatan antara reseptor dan ligan yang terbentuk. Skor penilaian diberikan pada masing – masing pose yang akan diurutkan dan senyawa aktif dengan skor tertinggi ditetapkan sebagai pose ligan dengan protein yang paling sesuai (Farkhani, 2012).

II.4.2.2 Parameter Penambatan Molekul

1. Interaksi Ikatan, ketika ligan dengan protein berinteraksi maka terbentuk kompleks. Banyak energi yang terlibat dalam intermolekul yang tergabung diantaranya : hidrofobik, Van der Waals, ikatan hidrogen, dan elektrostatik. Interaksi pemodelan intermolekul dalam suatu ligan-protein kompleks sangat sulit karena terdapat banyak

derajat kebebasan dan pengetahuan yang tidak cukup dari efek pelarut dalam gabungan pengikatan (Martinez et al, 2003)

2. Energi bebas Gibbs (ΔG), di definisikan sebagai energi yang timbul dari interaksi protein dengan ligan. Energi bebas Gibbs (ΔG) yang dihasilkan dalam simulasi penambatan molekul menghitung energi ikatan antara ligan dengan reseptor, makin rendah nilai ΔG mendeskripsikan bahwa makin baik afinitas yang terjadi antara ligan dengan reseptor (Kroemer, 2007).

$$\Delta G = \Delta E_{el} + \Delta E_{vdW} + \Delta G_{pol} + \Delta G_{np} \quad (II.1)$$

Dimana tiga istilah pertama merupakan standar energi MM yaitu interaksi ikatan elektrostatik dan *van der waals*. Sedangkan G_{pol} dan G_{np} adalah kontribusi polar dan non-polar untuk energi bebas solvasi. G_{pol} biasanya diperoleh dengan menggunakan persamaan PB (Poisson Boltzmann) atau model GB (Generalized Born), sedangkan istilah non-polar diperkirakan dari hubungan linier dengan luas permukaan pelarut. Istilah terakhir adalah suhu absolut (T), dikalikan dengan entropi (S) (Genheden & Ryde, 2015).

3. Konstanta Inhibisi (K_i), di definisikan sebagai konstanta penghambatan suatu protein oleh ligan. Dalam simulasi penambatan molekul konstanta inhibisi sering digunakan sebagai parameter untuk menentukan penambatan ligan terhadap protein. Semakin kecil nilai konstanta inhibisi menunjukkan bahwa semakin baik suatu ligan dalam menghambat suatu protein (Kroemer, 2007).

Terdapat hubungan antara energi bebas ikatan (ΔG) dan konstanta inhibisi yang ditunjukkan dalam persamaan berikut.

$$K_i = e^{-\Delta G/RT} \quad (II.2)$$

ΔG adalah energi penambatan molekul, R adalah konstanta gas dan T adalah suhu (K) (Yunta, 2016). Konstanta inhibisi (K_i) merupakan penghambatan terhadap aktivitas protein oleh suatu ligan. Nilai K_i menginterpretasikan kestabilan kompleks yang terbentuk antara ligan dengan reseptor. Semakin kecil nilai K_i maka semakin tinggi afinitas ligan pada sisi aktif reseptor sehingga aktivitas senyawa semakin baik (Kim & Skolnick, 2007).

II.4.2.3 Validasi Penambatan Molekul

Validasi penambatan molekul bertujuan untuk mendapatkan pengaturan metode yang valid. Validasi penambatan molekul dalam aplikasi Autodock dengan cara penambatan ulang ligan

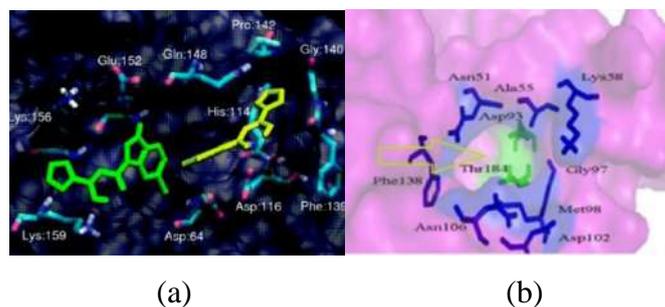
alami terhadap protein target. Konformasi dan tempat ligan berinteraksi di tentukan dengan pengaturan gridbox. Dikatakan valid jika hasil penambatan ulang pada pose pengikatan paling baik mendapatkan nilai *Root Mean Square Devition* (RMSD) $< 2 \text{ \AA}$. Selanjutnya pengaturan gridbox tersebut yang digunakan dalam metode *penambatan molekul* senyawa uji Camacho, 2016).

$$\text{RMSD}(\mathbf{v}, \mathbf{w}) = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n |v_i - w_i|^2} \quad (\text{II.3})$$

Dalam bioinformatika RMSD adalah ukuran deviasi rata - rata akar kuadrat dari posisi atom, dalam studi konformasi RMSD digunakan untuk mengukur kesamaan koordinat dalam struktur 3D. RMSD biasaya digunakan untuk ukuran kuantitatif kesamaan dua molekul atau lebih, dalam penambatan molekul RMSD berguna untuk mempelajari konfigurasi vektor ligan ketika terikat pada makromolekul dengan melihat tumpang tindih hasil penambatan ulang, semakin rendah nilai RMSD maka semakin baik model struktur dengan struktur aslinya. (Sebastian, 2016).

II.4.2.4 Visualisasi Penambatan Molekul

Visualisasi penambatan molekul menggambar interaksi ligan dengan protein yang membantuk ikaran intermolekular dengan residu asam amino. Ada tiga dasar visualisasi yaitu atomik, permukaan dan representasi grid. Representasi atom biasanya digunakan saat penilaian berdasarkan fungsi energi potensial dan paling banyak digunakan dalam visualisasi. Metode permukaan mewakili topografi molekul menggunakan fungsi geometrik. Metode grid menjelaskan molekul menggunakan diskrit 3D, fungsi yang membedakan permukaan dari interior dari molekul target (Sliwoski et al, 2014).



Gambar II. 6 Visualisasi interaksi ligan dengan protein atomik (a), permukaan (b) (Abbasi et al, 2017 dan Sliwoski et al, 2014).

II.4.2.5 AutoDock

AutoDock adalah seperangkat alat penambatan molekul otomatis, dirancang untuk memprediksi bagaimana ligan dapat berikatan dengan reseptor struktur 3D yang diketahui.

AutoDock terdiri dari dua program utama, autodock melakukan penambatan molekul ligan ke satu set kisi yang menggambarkan protein target, autogrid untuk menghitung kisi-kisi ini. Selain menggunakannya untuk penambatan molekul, grid afinitas atom dapat divisualisasikan. (Garrett et al, 2012).

Autodock terdiri atas dua program utama, yaitu program pelaksanaan docking pada Autodock dari suatu ligan dengan posisi pengikatan pada protein target, dan program perhitungan awal pada tempat penambatan molekul tersebut yaitu *autogrid4*. Melalui program Autogrid afinitas dan konformasi suatu ligan pada tempat penambatan molekul dapat divisualisasikan. Hal tersebut menjadi penting karena dapat menghasilkan pengikatan ligan dengan posisi yang paling kuat dari suatu protein tertentu (Morris et al, 2008).

Beberapa Metode yang terdapat dalam aplikasi Autodock : (Garrett et al, 2012).

1. Pencarian Konformasi. Autodock menyediakan beberapa metode untuk melakukan konformasi. Saat ini, Algoritma Genetika Lamarckian menyediakan pencarian paling efisien aplikasi umum, dan dalam banyak kasus akan menjadi teknik yang digunakan. Ini biasanya efektif untuk sistem dengan sekitar 10 ikatan yang dapat diputar di ligan. Algoritma Genetika juga dapat dijalankan tanpa pencarian lokal, tetapi ini biasanya kurang efisien daripada Lamarckian GA-LS kombinasi. Simulasi Annealing juga kurang efisien daripada Algoritma Genetika Lamarckian, tetapi dapat berguna dalam aplikasi di mana pencarian dimulai dari titik yang diinginkan.
2. Jumlah Evaluasi. Setiap metode pencarian mencakup parameter untuk menentukan jumlah upaya komputasi yang akan digunakan dalam pencarian. Parameter yang biasanya cukup untuk sistem penambatan molekul yaitu 10 atau lebih jumlah ikatan yang dapat diputar, dan simulasi yang lebih pendek sering dapat digunakan untuk sistem dengan ikatan yang dapat diputar sangat sedikit. Untuk sistem yang kompleks dengan banyak ikatan yang dapat diputar, umumnya tidak efektif untuk menambah jumlah evaluasi. Sebaliknya, yang terbaik adalah mencari formulasi sederhana dari sistem, seperti memecah ligan besar menjadi dua bagian dan memasangkannya secara terpisah.
3. Model ligan yang tidak terbatas. Untuk memperkirakan energi bebas dari ikatan, Autodock perlu memperkirakan energi untuk keadaan ligan dan protein yang tidak terikat. Beberapa opsi tersedia untuk ini. Secara default, Autodock menggunakan asumsi bahwa konformasi

dari ligan dan protein tidak terikat sama dengan konformasi ligan dan protein dalam keadaan kompleks. Model ini dapat digunakan dalam Autodock dengan menggunakan kata kunci tertentu. Kata kunci tersebut akan mencari perhitungan yang diperluas dan kemudian akan menampilkan perbedaan antara energi internal dari energi internal ligan ketika terikat pada protein. Nilai ini kemudian akan digunakan dalam perbedaan antara keadaan terikat dan tidak terikat untuk memperkirakan energi bebas.

4. Penambatan ulang untuk validasi. Studi penambatan ulang dapat digunakan untuk memvalidasi metode penambatan molekul yang digunakan untuk sistem tertentu. Sistem yang dikenal dipilih dengan cara yang serupa kompleksitas konformasi dengan jumlah atom yang sama dan jumlah yang dapat diputar. Kompleks yang diketahui kemudian dipisahkan untuk mengevaluasi keberhasilan metode penambatan molekul dalam mereproduksi sistem yang kompleks secara eksperimental.

II.4.3 Dinamika molekul

Dinamika molekul merupakan simulasi pendekatan yang menganalisa kestabilan interaksi senyawa dengan reseptornya dalam jangka waktu tertentu. Simulasi dinamika molekul merupakan suatu simulasi secara virtual yang dapat digunakan untuk melihat interaksi antar molekul secara fleksibel. Tujuannya adalah untuk mengamati kestabilan interaksi antara ligan dan reseptor target yang dikondisikan mendekati keadaan fisiologis tubuh dalam rentang waktu tertentu (Case et al., 2018).

II.4.3.1 Tahapan simulasi dinamika molekul

Simulasi dinamika molekul ini terdiri dari beberapa tahapan antara lain persiapan berkas masukan ligan dan reseptor, pembuatan topologi dan koordinat ligan dan reseptor, solvasi, minimisasi, ekuilibrasi, produksi, dan interpretasi hasil simulasi dinamika molekul (Case et al, 2018).

1. Persiapan file ligan dan reseptor, simulasi dinamika molekul dimulai dengan mempersiapkan berkas masukan, yaitu masing-masing ligan dan reseptor. Ligan yang digunakan adalah senyawa terbaik yang didapatkan dari hasil penambatan molekul senyawa uji (Case et al, 2018).

2. Pembuatan topologi dan koordinat, pembuatan dibuat melalui berkas ligan, reseptor, dan kompleks ligan-reseptor dalam kondisi vakum dan dalam pelarut air. Tahapan topologi menggambarkan susunan atom – atom pada suatu molekul susunannya tidak mengalami perubahan baik dari awal sampai akhir simulasi namun posisinya berubah. Tahapan ini dilakukan agar simulasi berlangsung pada susunan atom yang tetap dan tidak ada perubahan struktur atom-atom backbone residu maupun ligan (Case et al, 2018).
3. Solvasi, sistem dilarutkan dalam suatu model pelarut air. Model air digunakan supaya ligan – reseptor dilarutkan dalam suatu model air tujuannya mengkondisikan sesuai dengan fisiologis tubuh manusia, yang kandungan terbesarnya adalah air (Desheng et al, 2011).

Model pelarut terbagi menjadi 2 macam yakni pelarut eksplisit dan implisit atau kontinum. Model pelarut eksplisit dapat memberikan detail maksimum, akurasinya lebih tinggi dibandingkan dengan implisit, namun secara komputasi memerlukan spesifikasi yang tinggi. Sedangkan model pelarut implisit atau kontinum lebih cepat daripada eksplisit, praktis memperkirakan total energi solvasi, dan pendekatannya sederhana namun sangat efisien secara komputasi (Onufriev et al, 2017).

Macam – macam model pelarut air (Onufriev et al, 2017 dan Florova et al, 2010) yaitu :

a) TIP (Transferable Intermolecular Potential) Model 'TIPn' titik N, yang dikembangkan oleh Jorgensen pada tahun 1981. Contoh model TIP diantaranya TIP3P, TIP4P, TIP5P dan lain – lain. Model paling sederhananya adalah model TIP3P (3 titik) berdasarkan geometri molekul air dalam fase gas dan memiliki tiga titik interaksi yang sesuai dengan tiga atom molekul air berikut strukturnya. Model TIP3P ini efektif, efisien pada komputasi, akurat dan sederhana, sering digunakan pada simulasi dinamika molekul (Onufriev et al, 2017).

Model TIP4P (4 titik), memiliki empat titik interaksi dengan menambahkan satu atom dummy di dekat oksigen di sepanjang garis sudut HOH dari model tiga situs (diberi label M pada gambar). Atom dummy hanya memiliki muatan negatif. Model ini meningkatkan distribusi elektrostatik di sekitar molekul air. Model pertama yang menggunakan pendekatan ini adalah model Bernal-Fowler yang diterbitkan pada tahun 1933 (Onufriev et al, 2017).

Model TIP5P (5 titik) menempatkan muatan negatif pada atom dummy (berlabel L) yang mewakili pasangan elektron 32 oksigen, dengan geometri seperti tetrahedral. Model awal dari jenis ini adalah model BNS dari Ben-Naim dan Stillinger, diusulkan pada tahun 1971 (Onufriev et al, 2017).

b) SPC (Single Point Charge) Model SPC terdiri dari tiga titik muatan. Perbedaan utama antara SPC dan TIP adalah geometri model. SPC didasarkan pada panjang ikatan OH 1 Å dan $\angle\text{HOH } 109.5^\circ$, meniru bentuk tetrahedral molekul air dalam es. Contoh model air ini yakni SPC, SPC/E dan lain – lain (Onufriev et al, 2017).

4. Netralisasi, muatan listrik yang ditimbulkan oleh air dapat menimbulkan gangguan terhadap sistem, tujuan netralisasi adalah agar sistem menjadi keadaan netral, dengan penambahan ion seperti Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^- (Desheng et al, 2011).
5. Minimisasi, untuk menghindari kontak antar atom yang tidak diinginkan (merelaksasi sistem). Terdiri dari tiga tahap yakni tahap pertama minimisasi terhadap molekul air saja, tahap kedua merupakan tahapan yang diberi tahanan terhadap proteinnya saja dan tahap terakhir merupakan minimisasi terhadap seluruh sistem yang tidak diberi tahanan agar minimisasinya maksimal (Case et al, 2018).
6. Ekuilibrase, dilakukan untuk menstabilkan suhu, volume dan tekanan pada sistem, sehingga sistem mencapai keadaan konstan sebelum menjalani simulasi dinamika molekul. Ada empat parameter yang harus diamati setelah ekuilibrase dilakukan. Keempat parameter tersebut adalah temperatur, berat jenis, energi potensial, dan RMSD (Root Mean Square Deviation) (Case et al, 2018).
7. Produksi, sebelumnya dilakukan pengecekan terhadap temperatur, berat jenis, energi potensial, dan RMSD. Parameter tersebut dilihat untuk menentukan apakah sistem telah siap untuk dilakukan proses produksi atau tidak (Case et al, 2018).

II.4.3.2 Parameter simulasi dinamika molekul

1. Energi potensial selama proses simulasi, relaksasi sistem yang ditandai dengan menurunnya nilai energi potensial. Semakin lama durasi ekuilibrase yang dijalani, maka

semakin rendah nilai energi potensial kompleks ligan dengan reseptor tersebut (Case et al, 2018).

2. RMSD (Root Mean Square Deviation) RMSD merupakan ukuran yang sering digunakan dalam geometri 3D molekul untuk membandingkan pergerakan atau perubahan molekul. RMSD digunakan untuk menganalisa gerakan dan memastikan stabilitas struktur pada waktu tertentu. Nilai dan gambaran RMSD, digambarkan dalam sebuah grafik yang diplot dengan waktu (Case et al, 2018).
3. RMSF (Root Mean Square Fluctuation) RMSF merupakan ukuran dari deviasi antara posisi partikel dan beberapa. 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. Tujuan analisis RMSF adalah untuk melihat fluktuasi pada masing – masing residu, yang menggambarkan fleksibilitas residu asam amino tersebut (Case et al, 2018).
4. Analisis Interaksi ikatan yang terbentuk Interaksi ikatan yang terbentuk diantaranya ikatan hidrogen, ikatan ionik, dan lain lainnya. (Xu D S et al, 2016). Ikatan hidrogen yang dibentuk oleh simulasi dinamika molekul memberikan analisis statistik stabilitas setiap interaksi tersebut. Parameter yang akan dianalisis adalah persentase occupancy. Singkatnya semakin besar nilai numerik dari persentase occupancy, semakin baik. Pada simulasi dinamika molekul analisis kondisi ikatan hidrogen dilakukan ketika tercapai kestabilan pada proses simulasi yang ditandai dengan stabilnya RMSD dan energi potensial (Garcia, 2012).
5. MMGBSA (Molecular Mechanics Generalized Born Surface Area), merupakan metode aksesibilitas pelarut untuk memperoleh energi bebas dari informasi struktural yang menghindari kompleksitas komputasi simulasi energi bebas. Pendekatan MMGBSA adalah parameter dalam perkiraan aditivitas, di mana perubahan energi bebas bersih diperlakukan sebagai jumlah komponen energi individu yang komprehensif, masing-masing dengan dasar fisik. Pada metode simulasi dinamika molekul untuk memperkirakan energi bebas ikatan, dan konstanta inhibisi (Ylilauri & Pentikäinen, 2013).

II.4.3.3 AMBER

AMBER (Assisted Model Building with Energy Refinement) merupakan perangkat lunak untuk melakukan pendekatan simulasi dinamika molekul, terutama untuk biomolekul. Perangkat lunak Amber terbagi menjadi dua bagian, yaitu *AmberTools18*, kumpulan program yang tersedia sebagian besar di bawah lisensi GPL dan *Amber18* yang berpusat di sekitar program simulasi pmemd (Case et al, 2018).

Beberapa informasi dalam aplikasi *AMBER 18* : (Case et al, 2018).

1. Koordinat kartesius untuk setiap atom dalam sistem. Ini biasanya berasal dari kristalografi sinar-X, NMR spektroskopi, atau pembuatan model. Umumnya harus dalam format Protein Data Bank (PDB). Program ini menyediakan platform untuk melakukan banyak tugas dalam pemodelan. Secara umum, pengeditan file-file diperlukan, dan skrip *pdb4amber* dapat melakukan ini.
2. Topologi, konektivitas, nama atom, jenis atom, nama residu, dan energi. Informasi ini berasal dari database. Topologi untuk asam amino standar serta asam amino bermuatan seperti N- dan C-terminal, DNA, RNA, dan gula dan lemak. Informasi topologi untuk molekul lain (tidak ditemukan dalam standar database) disimpan dalam "file residu" yang dibuat pengguna, yang umumnya dibuat menggunakan *antechamber*.
3. Medan gaya, parameter untuk semua jenis ikatan, sudut, dihedral, dan atom dalam sistem. Standar parameter untuk beberapa bidang gaya ditemukan dalam database. Medan gaya ini dapat digunakan untuk protein dan asam nukleat, atau dapat digunakan pada modifikasi medan gaya standar.