

## BAB I. PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Tekanan darah tinggi atau hipertensi merupakan tekanan darah arteri yang meningkat secara persisten. Penderita hipertensi memiliki tekanan darah diastolik  $\geq 90$  mmHg dan tekanan darah sistolik  $\geq 140$  mmHg (Dipiro, *et al.*, 2015). Seberapa tinggi dan lamanya hipertensi yang tidak diobati dan tidak terkontrol menjadi salah satu faktor kerusakan organ-organ di dalam tubuh. Turunnya mortalitas yang diakibatkan penyakit jantung serta stroke dapat turun sejalan dengan turunnya tekanan darah sistolik (Muhadi, 2016).

Menurut WHO, prevalensi hipertensi diperkirakan mencapai 22% dari keseluruhan penduduk dunia. Prevalensi tertinggi ditempati oleh Afrika sekitar 27%, sedangkan Asia Tenggara menempati posisi ketiga tertinggi sekitar 25% (Kemenkes, 2019). Menurut Riskesdas 2013 prevalensi hipertensi yang terjadi di Indonesia sekitar 25,8%, sehingga hal tersebut menjadi masalah kesehatan di Indonesia (Kemenkes, 2013). Vasodilator merupakan golongan obat antihipertensi dengan mekanisme kerja merelaksasi otot polos vaskuler, serta menurunkan resistensi dan dapat menurunkan tekanan darah.

Masyarakat Indonesia sering kali menggunakan bahan alam untuk dikonsumsi sebagai obat tradisional dikarenakan obat antihipertensi konvensional memiliki efek samping sehingga digunakan bahan alam sebagai sumber alternatif penyembuhan hipertensi yang memiliki dampak yang kecil, serta bahan alam dapat dengan mudah didapatkan di dekat kita. Bahan alam yang dapat dimanfaatkan yaitu tanaman pegagan (*Centella asiatica* (L) Urb). Berdasarkan penelitian Ani Maelani menyebutkan bahwa senyawa pada tanaman pegagan memiliki potensi sebagai obat antihipertensi sebagai vasodilator terhadap tikus *wistar* dengan menggunakan metode pereaksi *Griess*. Pada penelitian *triterpenoid-rich fraction of centlla asiatica leaves and in vitro antihypertensive activity* menyebutkan jika senyawa *asiaticoside* memiliki efek sebagai antihipertensi pada tikus yang diinduksi.

Metode *in silico* digunakan dalam melakukan penemuan senyawa baru dengan menggunakan metode komputasi. Metode *in silico* yang akan digunakan yaitu metode *docking* yang digunakan dalam memperoleh senyawa terbaik dari hasil *docking* dengan cara memprediksi afinitas pengikatan dan pose terbaik antara protein dengan ligan. Metode *in silico* lainnya yang akan digunakan yaitu simulasi dinamika molekul dengan tujuan untuk mengamati kestabilan

interaksi antara ligan dan protein dengan mendekati keadaan fisiologi tubuh dalam rentang waktu tertentu (Fauzi, 2019).

### **1.2. Rumusan Masalah**

1. Bagaimana interaksi senyawa aktif dari tanaman pegagan pada reseptor *Alpha-2 Adrenergic* sebagai antihipertensi dengan metode *docking molecular*.
2. Bagaimana stabilitas ikatan senyawa aktif dari tanaman pegagan pada reseptor *Alpha-2 Adrenergic* pada keadaan yang mendekati fisiologis tubuh dengan metode *molecular dynamic*.

### **1.3. Tujuan dan Manfaat Penelitian**

1. Menentukan interaksi dan afinitas senyawa aktif dari tanaman pegagan pada reseptor *Alpha-2 Adrenergic* sebagai antihipertensi dengan metode *docking molecular*.
2. Menentukan stabilitas ikatan senyawa aktif dari tanaman pegagan pada reseptor *Alpha-2 Adrenergic* sebagai antihipertensi dengan metode *molecular dynamic*.

### **1.4. Hipotesis Penelitian**

1. Senyawa aktif dari tanaman pegagan pada reseptor *Alpha-2 Adrenergic* memiliki interaksi dan afinitas sebagai antihipertensi dengan metode *docking molecular*
2. Senyawa aktif dari tanaman pegagan pada reseptor *Alpha-2 Adrenergic* memiliki stabilitas ikatan pada keadaan yang mendekati fisiologis tubuh dengan metode *molecular dynamic*.

### **1.5. Tempat dan Waktu Penelitian**

Waktu dan tempat penelitian dilakukan pada bulan Februari hingga Juni 2022 di Laboratorium Kimia Komputasi, Fakultas Farmasi, Universitas Bhakti Kencana.

## BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Hipertensi

#### 2.1.1. Definisi Hipertensi

Hipertensi merupakan suatu kondisi kronis ditandai dengan peningkatan tekanan darah di dinding arteri, dimana jantung bekerja lebih keras dan mengedarkan darah ke seluruh tubuh. Hal ini menyebabkan penyakit degeneratif, merusak pembuluh darah, menyumbat aliran darah, dan menyebabkan kematian (Yanita, 2017).

Jika hasil tes tekanan darah melebihi dari 140/90 mmHg pada keadaan istirahat, dengan dua kali pemeriksaan dengan selang waktu tiap pemeriksaan selama lima menit maka orang tersebut menderita hipertensi. Artinya pembacaan diatas 140 menunjukkan tekanan darah sistolik, dan pembacaan diatas 90 menunjukkan tekanan darah diastolik. Saat istirahat, tekanan darah sistolik dan diastolik dapat dikatakan normal jika nilai sistolik berada pada rentang nilai 100-140 mmHg dan nilai diastolik berada pada rentang 60-90 mmHg (Yanita, 2017).

#### 2.1.2. Klasifikasi Hipertensi

Klasifikasi hipertensi berdasarkan pada dua tekanan darah yang lebih tinggi sebagai berikut:

Tabel 2. 1 Klasifikasi Hipertensi pada usia  $\geq 18$  tahun

Klasifikasi	Tekanan Darah (mmHg)	
	Sistolik	Diastolik
Normal	<120	dan < 80
Pre-hipertensi	120-129	dan 80-90
Hipertensi, tahap 1	130-139	atau 80-90
Hipertensi, tahap 2	$\geq 140$	atau $\geq 90$

Sumber : (DiPiro, J. T., *et al.* 2020)

Klasifikasi hipertensi dapat dibagi menjadi:

1. Hipertensi esensial /hipertensi primer dapat didefinisikan sebagai hipertensi yang dipengaruhi oleh genetik dengan mempengaruhi keseimbangan natrium dan belum diketahui penyebab pastinya. Seringkali hipertensi primer dikaitkan dengan gaya hidup yang tidak sehat.
2. Hipertensi non esensial/hipertensi sekunder seringkali terjadi akibat penyakit lain, antara lain penyakit ginjal, penggunaan obat-obatan tertentu, dan kelainan hormonal.

### 2.1.3. Terapi non-Farmakologi Hipertensi

Terapi non-farmakologi terhadap pasien hipertensi dapat dilakukan dengan memperbaiki gaya hidup, antara lain :

1. Batasi mengkonsumsi garam dan makanan olahan.
2. Hindari makanan berlemak.
3. Mengkonsumsi makanan tinggi serat.
4. Mengkonsumsi makanan yang mengandung kalsium, kalium, magnesium, dan isoflavin.
5. Menghindari mengonsumsi minuman yang mengandung alkohol dan kafein.
6. Rutin berolahraga.
7. Berhenti merokok (Yanita, 2017).

### 2.1.4. Terapi Farmakologi Hipertensi

Beberapa jenis golongan obat hipertensi yang biasa digunakan, yaitu :

1. *Angiotensin Converting Enzyme (ACE)* inhibitor, bekerja memblokir angiotensin II hingga terjadi penyempitan pembuluh darah. Contoh obatnya yaitu kaptopril dan ramipril (Yanita, 2017)
2. *Beta Blocker*, golongan obat ini menurunkan kontraksi jantung yang dapat memperlambat detak jantung, mengurangi pelepasan renin di plasma dan mengakibatkan darah yang terpompa lebih sedikit. Contoh obatnya yaitu atenolol, timolol dan bisoprolol (Yanita, 2017).
3. *Calcium Channel Blocker (CCB)*, bekerja dengan cara memblokir laju kalsium melalui otot jantung sehingga aliran darah lancar. Contoh obatnya antara lain nifedipin (Yanita, 2017)
4. Diuretik, golongan obat ini membantu ginjal membuang kelebihan cairan serta garam dalam tubuh dengan pengeluarannya melalui urine. Contoh obatnya antara lain *chlortalidone* dan *hydrochlorothiazide* (Yanita, 2017).
5. Vasodilator, digunakan untuk meregangkan otot-otot pembuluh darah dan mencegah penyempitan pembuluh darah, yang dapat menyebabkan penurunan tekanan darah. Contoh obatnya antara lain prazosin dan hidralazin (Yanita, 2017).

## 2.2. Reseptor *Alpha-2 Adrenergic*

*Alpha-2 Adrenergic* terdapat di terminal presinaptik. Aktivasi adenilat siklase dapat terhambat akibat aktifitas dari adrenoreseptor, hal tersebut dapat menurunkan pemasukan ion kalsium ke dalam terminal neuronal, sehingga dapat membatasi penambahan eksositosis dari penyimpanan yang mengandung norepinefrin. Pelepasan norepinefrin lebih lanjut dari

neuron terjadi penghambatan akibat reseptor  $\alpha_2$  menciptakan loop negatif. Sebagai tambahan, otot polos vaskular mengandung postsinaptik reseptor  $\alpha_2$  yang menciptakan vasokonstriksi. Sedangkan apabila  $\alpha_2$  postsinaptik distimulasi dapat menyebabkan penurunan aliran dari sinaptik, sehingga menyebabkan vasodilatasi perifer dan menurunkan tekanan darah.

Terdapat tiga kelas utama  $\alpha_2$  yaitu feniletilat, imidazolin, dan *oxaloazepine  $\alpha$ -methyl* DOPA diganti dalam neuron nonadrenergik menjadi  $\alpha$ -metil norepinefrin, yang merupakan agonis  $\alpha_2$  kuat dan merangsang reseptor  $\alpha_2$  postsinaptik batang otak. Klonidin bertindak sebagai agonis  $\alpha_2$  presinaptik pada reseptor di batang otak sehingga menyebabkan penurunan aliran simpatis. (Chisholm-Burns, *et al.*, 2016).

## 2.3. Pegagan (*Centella asiatica* (L) Urb)

### 2.3.1. Klasifikasi dan Morfologi Tanaman Pegagan



Gambar 2. 1 Tanaman Herba Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban)

Sumber : Plantamor, 2021

Klasifikasi tanaman (Susetyarini, dkk., 2020)

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Apiales
Genus	: Centella
Famili	: Apiaceae
Spesies	: <i>Centella asiatica</i> (L) Urban

Secara morfologi pegagan memiliki daun yang berwarna hijau tua, tepi daun bergerigi, ujung daun membulat, susunan tulang daunnya menjari, dan daging daunnya perkamen atau

perkamenteus. Daun pegagan memiliki tangkai yang panjang (10-15 cm). Tekstur tangkai pegagan tidak berkayu, berwarna hijau pada bagian dekat helai daun dan kemerahan pada pangkal tangkai. Sistem perakaran tanaman pegagan yaitu tunggang (Susetyarini, dkk., 2020).

### **2.3.2. Nama Daerah Tanaman Pegagan**

Setiap daerah memiliki penamaan berbeda terkait tanaman pegagan antara lain Antanan (Jawa Barat), Ttaiduh (Bali), Kaki kuda (Sumatera), Pegagan (Jakarta dan Aceh), Dogauke atau Sandanan atau Gogauke (Papua), Pegago (Minangkabau), Gagan-gagan atau Panigowang (Jawa), Kalotidi manora (Maluku), Tikusan (Madura) dan Bebile (Lombok). selain itu, penamaan berbeda di berbagai negara antara lain, Brahma nutu atau *Indian Hydrocotyle* (India), Takip-kohot (Filipina), Ji xue cao (Tiongkok), Kori-kori (Halmahera), Gotu kola (Sri Lanka), *India Penny Wort* (Inggris), Bevilaque atau Hydrocote d'asie atau *Cotyiole asitique* (Perancis)(Sutardi, 2016).

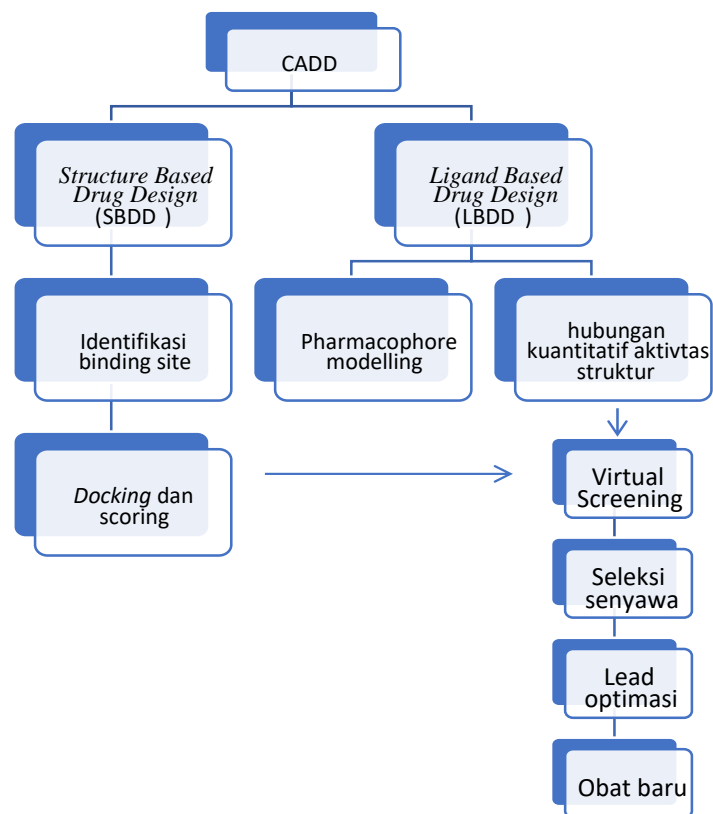
### **2.3.3. Kandungan Senyawa Tanaman Pegagan**

Kandungan senyawa yang terdapat pada tanaman pegagan antara lain *madecassoside*, *asiaticoside*, *isothan khunside*, *brahmic acid*, *centelloside*, *thankuniside*, *carotenoids*, *meso-inositol*, *brahminoside*, *hydrocotylin*, *vellarine*, *madasiatic acid*, *brahmoside*, saponin, dan tanin. Selain itu, kandungan lain dari pegagan yaitu mineral diantaranya magnesium, kalium, kalsium, natrium dan zat besi (Yanita, 2017).

### **2.3.4. Kegunaan Tanaman Pegagan**

Tanaman pegagan dimanfaatkan sebagai obat tradisional antara lain untuk memperlancar peredaran darah, menurunkan demam, membersihkan darah, meningkatkan daya ingat, menurunkan gejala depresi, menghambat terjadinya keloid, menghentikan pendarahan, diuretik, antibakteri, antipasma, antiinflamasi, antialergi, dan stimulan (Yanita, 2017). Kandungan utama pegagan yaitu asam siatik yang diketahui bisa menurunkan tekanan darah arteri secara signifikan, diastolik, dan tekanan darah sistolik. Selain asam asiatik ada juga senyawa asiaticosida yang dapat meningkatkan fosforilasi eNOS, kadar NO, dan cGMP hal tersebut dapat menyebabkan vasodilatasi dan menurunkan tekanan darah (Wang *et al.*, 2018).

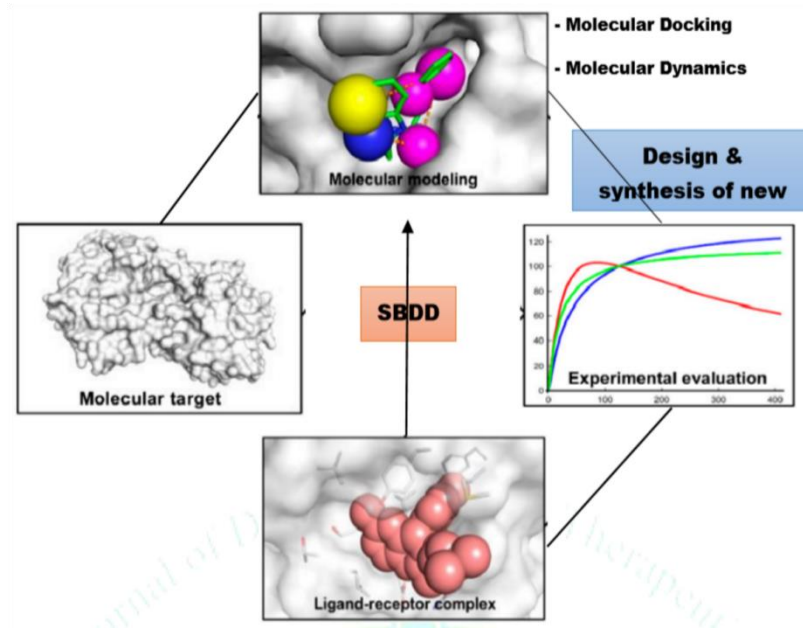
## 2.4. Computer Aided Drug Design (CADD)



Gambar 2. 2 Representasi Umum Alur Kerja Untuk CADD

Sumber : (Surabhi, S., & Singh, 2018)

Metode CADD dapat digunakan dalam pengembangan dan penemuan obat baru yang umumnya bisa membutuhkan waktu yang banyak, biaya serta faktor resiko yang ditanggung. Evaluasi pendekatan CADD sebagai metode yang menjanjikan tergantung dengan kebutuhannya, diantara semua desain obat berbasis struktur dan pendekatan desain obat berbasis ligan dikenal sebagai teknik yang sangat efisien dan kuat dalam penemuan pengembangan obat. (Surabhi, S., & Singh, 2018).

Gambar 2. 3 *Layout SBDD*Sumber : (Ferreira *et al.*, 2015)

SBDD mengetahui struktur protein target dan interaksi atau afinitas dari senyawa diuji setelah proses *docking* akan dihitung, sehingga akan menunjukkan interaksi yang lebih baik dengan protein target. SBDD setelah beberapa siklus akan dioptimalkan untuk mencapai uji klinis sebelum *lead* (Gambar 2.3) (Imam & Gilani, 2017). Struktur 3D protein target tidak dapat diketahui dalam LBDD sedangkan ligan yang mengikat target diketahui. Ligan digunakan dalam merancang model atau molekul farmakopora yang struktural yang diperlukan untuk mengikat situs aktif target. LBDD menyatakan bahwa senyawa yang memiliki struktur yang sama, interaksi biologis dapat terjadi dan aksi yang sama (Macalino, *et al.*, 2015).

## 2.5. *Optimasi Geometri*

Energi terendah suatu molekul dapat ditentukan dengan melakukan optimasi geometri. Struktur dapat dikatakan stabil apabila memiliki energi terendah. Selanjutnya dilakukan proses *docking* dan simulasi *molecular dynamic* apabila senyawa yang dioptimasi berhasil. Metode optimasi dapat terbagi menjadi dua yaitu metode mekanika kuantum (MK) atau mekanika molekul (MM). Metode MM bertujuan untuk memprediksi energi yang terkait dari suatu molekul dengan pose tertentu. Metode MK membahas jika suatu molekul senyawa terdiri dari inti atom dan elektron. Metode MK memiliki akurasi yang tinggi serta dapat memprediksi energi HOMO-LUMO (Tomberg, 2009).



### 2.5.1. Parameter sifat fisikokimia

Dalam merancang senyawa obat diperlukan parameter sifat fisikokimia yang dapat mempengaruhi aksi dari suatu senyawa. Parameter sifat fisikokimia mempengaruhi aksi suatu senyawa antara lain:

1. Bobot molekul (BM). Syarat nilai BM dalam aturan Lipinski yaitu  $< 500\text{g/mol}$ . Nilai BM  $< 500\text{g/mol}$  menunjukkan bahwa ukuran molekul yang relatif kecil sehingga memudahkan senyawa obat menembus membran biologis (Lipinski *et al.*, 2012).
2. Koefisien partisi (LogP). LogP merupakan parameter yang menunjukkan hidrofobisitas dan lipofilisitas suatu senyawa dan kondisi suatu senyawa larut dalam lemak atau menembus lapisan membran biologis. Jika nilai LogP semakin negatif maka senyawa tersebut bersifat hidrofilik, namun jika bernilai positif maka senyawa tersebut bersifat hidrofobik. Persyaratan untuk nilai LogP berdasarkan aturan Lipinski adalah  $< 5$  (Lipinski *et al.*, 2012).
3. HOMO-LUMO. Cara molekul berinteraksi dengan senyawa lain ditentukan dengan orbital ini. HOMO (*Highest Occupied Molecular Orbital*) merupakan orbital yang bertindak sebagai donor elektron sedangkan LUMO (*Lowest Unoccupied Molecular Orbital*) merupakan orbital yang bertindak sebagai akseptor elektron. Gap energi antara HOMO-LUMO merupakan parameter kritis dalam menentukan transport elektron molekul (Suhasini *et al.*, 2015).

### 2.5.2. Density Functional Theory (DFT)

Perhitungan struktur elektron secara mekanika kuantum dilakukan menggunakan metode DFT. Persamaan Scrodinger dapat diselesaikan dengan sederhana menggunakan metode DFT dengan cara mengandalkan densitas elektron sebagai besaran dasarnya. Metode DFT bermanfaat sebagai perhitungan molekul secara komputasi. Energi keadaan atom yang paling stabil disebut dengan energi keadaan dasar. Artinya perlu diketahui terlebih dahulu energi keadaan dasar atom penyusunnya sebelum melakukan desain material (Sholl, D. S., & Steckel, 2009).

### 2.6. Docking

*Docking* termasuk kedalam SBDD dengan tujuan untuk memprediksi mode pengikatan dominan dari ligan dengan protein target dengan akurasi yang tinggi dari struktur 3D. Skrining virtual dapat dilakukan dengan metode *docking*, yang sangat berharga dalam pengoptimalan,

memberi peringkat pada hasil dan mengusulkan hipotesis struktural tentang bagaimana ligan menghambat target. Makromolekul dan molekul kecil biasanya digunakan dalam *docking molecular* (Ruvinsky, A. M., & Kozintsev, 2006).

Interpretasi hasil *docking* dilakukan dengan melihat konstanta inhibisi ( $K_i$ ) serta energi bebas ( $\Delta G$ ), yang secara tidak langsung berkaitan dengan afinitas pengikatan (Syahputra, dkk., 2014). Senyawa yang dapat dikatakan memiliki afinitas yang baik dilihat dari nilai  $\Delta G$  negatif. Nilai  $K_i$  digunakan untuk mengetahui banyaknya ligan yang menginhibisi suatu protein target. Semakin kecil nilai  $K_i$  maka hasilnya akan semakin baik (Fadilah *et al.*, 2018).

### 2.6.1. Validasi *Docking*

Tujuan Validasi *docking* yaitu untuk mendapatkan pengaturan metode yang valid. Penambatan ulang ligan alami terhadap protein target dilakukan untuk memvalidasi metode *docking* menggunakan aplikasi *AutoDock*. Pengaturan Gridbox dilakukan untuk konformasi dan tempat ligan berinteraksi. Hasil validasi bisa disebut valid jika nilai RMSD  $< 2\text{\AA}$ . Selanjutnya pengaturan Gridbox tersebut digunakan dalam metode *docking* senyawa uji (Camacho, *et al.*, 2016).

Dalam mengukur kesamaan koordinat dalam struktur 3D dilakukan menggunakan studi konformasi RMSD. Untuk mempelajari konfigurasi vektor ligan ketika terikat pada makromolekul dalam metode *docking* RMSD dapat melihat tumpang tindih hasil penambatan ulang, jika nilai RMSD semakin rendah maka model struktur dengan struktur aslinya semakin baik (Syahputra, dkk., 2014). Keberhasilan metode *docking* umumnya dianggap berhasil jika  $< 2\text{\AA}$  (Ruvinsky, A. M., & Kozintsev, 2006).

### 2.6.2. *AutoDock*

*AutoDock* seringkali digunakan untuk memprediksi bagaimana ligan berinteraksi dengan struktur 3D yang diketahui. *AutoDock* terdiri dari dua program yaitu, *AutoDock* dari suatu ligan dan protein dengan posisi terikat, dan Autogrid dengan program perhitungan awal pada tempat penambatan molekul. Penambatan molekul dapat menjadi tempat untuk memvisualisasikan program autogrid, konformasi suatu ligan dan afinitas. Sehingga hasil pengikatan ligan dengan posisi kuat dari suatu protein target. *AutoDock* dapat digunakan untuk visualisasi grid afinitas. *AutoDock Tools* telah dikembangkan sehingga dapat membantu mengatur ikatan mana yang akan diperlakukan sebagai ligan dan menganalisis *docking* (Morris *et al.*, 2014).

## 2.7. *Molecular Dynamic (MD)*

MD dapat memprediksi bagaimana kestabilan interaksi senyawa dengan reseptor berdasarkan waktu tertentu. Simulasi MD dapat menangkap berbagai macam proses seperti pelipatan protein, perubahan konformasi, dan pengikatan ligan yang mengungkapkan posisi semua atom. Biomolekul akan merespon pada tingkat atom terhadap gangguan seperti mutasi, protonasi, fosforilasi dan penambahan atau pengurangan ligan akan diprediksi ketika simulasi MD. Simulasi MD sering digunakan dalam kombinasi dengan berbagai teknik biologi struktural eksperimental, termasuk resonansi magnetic nuklir (NMR), mikroskop cryoelektron (cryo-EM), transfer energi resonansi forster (FRET), kristalografi sinarX dan resonansi paramagnetik elektron (EPR) (Hollingsworth & Dror, 2018).

### 2.7.1. Tahapan Simulasi Dinamika Molekul

Tahapan *molecular dynamic* antara lain (D.A. Case, *et al.*, 2020).

1. Persiapan file reseptor dan ligan, ligan yang digunakan yaitu senyawa gugus terbaik yang diperoleh dari hasil *docking* senyawa uji. (D.A. Case, *et al.*, 2020).
2. Topologi dan koordinat, berkas yang dibuat yaitu reseptor, ligan, dan reseptor-ligan dalam kondisi vakum dan dalam pelarut air. Tingkatan topologi mewakili susunan atom dalam molekul, penempatannya tidak berubah dari awal hingga akhir simulasi, tetapi posisinya berubah. Langkah ini dilakukan agar susunan atom yang tetap dan tidak ada perubahan struktur atom-atom backbone residu maupun ligan (D.A. Case, *et al.*, 2020)
3. Solvasi, berperan dalam mendekripsikan elektrostatis stabilitas lingkungan air, dan juga interaksi antara makromolekul. Model air digunakan supaya ligan-reseptor dilarutkan dalam suatu model air tujuannya mengkondisikan sesuai dengan fisiologi manusia, yang kandungan terbesarnya adalah air (Sneha, P., & Priya Doss, 2015).
4. Netralisasi, dilakukan supaya sistem menjadi keadaan netral karena muatan listrik yang ditimbulkan oleh air dapat menimbulkan gangguan terhadap sistem dengan penambahan ion seperti  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ .
5. Minimisasi energi dilakukan untuk mencegah kontak yang tidak perlu antar atom. Struktur yang diminimalkan sangat membantu sebagai perhitungan termodinamika rata-rata dan estimasi entropi untuk sejumlah besar struktur yang sulit dianalisis (D.A. Case, *et al.*, 2020).
6. Ekuilibrasi, dilakukan untuk menstabilkan volume, suhu dan tekanan pada sistem, sehingga sistem mencapai keadaan konstan sebelum menjalani simulasi *molecular docking*. Terdapat

empat parameter yang harus diamati yaitu temperatur, berat jenis, energi potensial dan RMSD (D.A. Case, *et al.*, 2020).

7. Produksi, sebelum dilakukannya pengecekan terhadap temperatur, berat jenis, energi potensial dan RMSD. Parameter tersebut dilihat untuk menentukan apakah sistem telah siap untuk dilakukan proses produksi atau tidak (D.A. Case, *et al.*, 2020).

### 2.7.2. Parameter Simulasi *Molecular Dynamic*

Setelah simulasi *molecular dynamic* dilakukan interpretasi hasil untuk mengetahui hasil dari simulasi tersebut.

1. *Root Mean Square Deviation* (RMSD), merupakan prediksi stabilitas suatu protein dari hasil deviasi yang telah diamati. RMSD berperan dalam menjelaskan pelipatan protein sekaligus menentukan konvergensi. Kemungkinan variasi yang terjadi selama simulasi dijelaskan dari representasi grafis dari nilai RMSD (Sneha, P., & Priya Doss, 2015).
2. *Root Mean Square Fluctuation* (RMSF), merupakan residu asam amino yang terdapat pada makromolekul kemudian diamati fluktuasinya, fluktuasi atom menjelaskan tingkat fleksibilitas suatu protein selama simulasi. RMSF bertujuan untuk melihat fluktuasi pada masing-masing residu yang menggambarkan fleksibilitas residu asam amino tersebut (Sneha, P., & Priya Doss, 2015).
3. *Molecular Mechanics Generalized Born Surface Area* (MMGBSA), dalam memperoleh energi bebas dari informasi struktural yang menghindari kompleksitas komputasi simulasi energi bebas dilakukan dengan metode aksesibilitas pelarut. Pendekatan MMGBSA merupakan parameter estimasi afinitas, dimana perubahan energi bebas dibutuhkan sebagai jumlah komprehensif komponen energi individu masing-masing. (Ylilauri & Pentikäinen, 2013).

### 2.7.3. *Assisted Model Building with Energy Refinement* (AMBER)

AMBER merupakan program yang digunakan selama tahap simulasi MD, terutama pada biomolekul. Pada program AMBER terdapat *AmberTools 18* yang merupakan gabungan program yang berada dibawah lisensi GPL dan AMBER 18. AMBER 18 mewakili perubahan signifikan dari versi terbaru sebelumnya. *AmberTools* merupakan sekumpulan program untuk simulasi dan analisis biomolekuler (D.A. Case, *et al.*, 2020).

Informasi yang dibutuhkan oleh program simulasi (D.A. Case, *et al.*, 2020) :

1. Koordinat kartesius untuk setiap atom dalam sistem. Biasanya berasal dari kristalografi sinar-X, NMR spektroskopi, atau pembuatan model. Umumnya dalam format Protein Data Bank (PDB). Program *Leap* menyediakan platform untuk melaksanakan banyak tugas dalam permodelan.
2. Topologi, nama residu, muatan, jenis atom, konetivitas, dan nama atom. Informasi ini berasal dari databae yang ditemukan mengandung topologi untuk asam amino standar serta asam amino bermuatan N- dan C-, DNA, RNA, serta gula dan lemak. Informasi topologi untuk molekul lain (tidak ditemukan dalam standar database) disimpan dalam “file residu” yang dihasilkan pengguna, yang umumnya dibuat menggunakan *antechamber*.
3. Medan gaya, parameter untuk semua sudut, jenis atom, ikatan dan dihedral dalam sistem. Standar parameter untuk beberapa medan gaya ditemukan dalam database. Dapat digunakan untuk protein dan asam nukleat, atau dapat digunakan modifikasi pada medan gaya standar.

### BAB III. METODOLOGI PENELITIAN

*Docking*, dan *molecular dynamic* digunakan dalam metodologi penelitian ini. Tahapan penelitian ini antara lain persiapan ligan, optimasi geometri, persiapan protein target, validasi metode *docking*, simulasi *docking* ligan uji, simulasi *molecular dynamic*, interpretasi hasil.

Persiapan ligan menggunakan aplikasi *Chem Office* 2014 meliputi permodelan struktur 2D dan 3D, metode *Density Functional Theory* (DFT) digunakan untuk melakukan optimasi geometri dari ligan uji menggunakan basis set 6-31G serta fungsi B3LYP, digunakan aplikasi Gaussian 09, lalu penentuan sifat fisikokimia. Persiapan protein target dengan mempersiapkan struktur 3D *Alpha-2 Adrenergic* dengan kode PDB ID 6KUY yang diperoleh dari [www.rcsb.org](http://www.rcsb.org).

Validasi metode *docking* antara *Alpha-2 Adrenergic* dan ligan alami menggunakan aplikasi *Autodock* versi 4.2.6. interpretasi hasil dapat dilihat dari nilai RMSD, dikatakan valid jika  $\text{RMSD} \leq 2\text{\AA}$ . Selanjutnya simulasi *docking* antara *Alpha-2 Adrenergic* dan senyawa uji dengan menggunakan aplikasi *Autodock* versi 4.2.6, kemudian dilakukan interpretasi hasil antara lain nilai  $\Delta G$ , nilai  $K_i$  dan interaksi ikatan yang terjadi antara ligan dengan protein target.

Senyawa terbaik hasil dari simulasi *docking* digunakan untuk simulasi MD menggunakan aplikasi *AMBER* versi 18 untuk melihat kestabilan interaksi reseptor dengan ligan meliputi tahapan minimisasi, pemanasan dengan suhu 310 K dan produksi selama 50 ns yang akan mensimulasikan pada keadaan yang mendekati fisiologis tubuh manusia, kemudian dilakukan interpretasi hasil antara lain RMSD, RMSF dan MMGBSA.

## BAB IV. PROSEDUR PENELITIAN

### 4.1. Alat

#### Perangkat keras

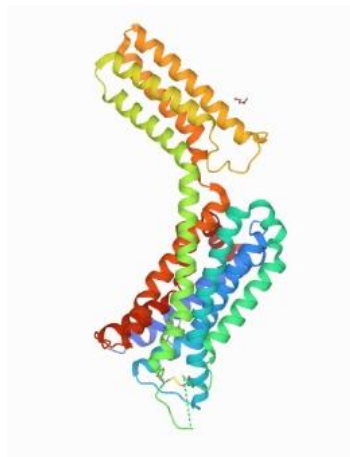
Perangkat keras yang digunakan pada penelitian kali ini adalah satu unit laptop dengan spesifikasi system operasi windows 10 64 bit, processor AMD A8-6410 APU 2.00GHz, dan AMD Radeon R5 Graphics.

#### Perangkat lunak

Perangkat lunak yang digunakan pada penelitian ini yaitu *AutoDock* versi 4.2.6, *AMBER* versi 18, ChemBio Office 2010, *Discovery Studio Visualizer* 2016, *Gaussian09*, GaussView 5.0.8.

### 4.2. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu *Alpha-2 Adrenergic* yang diperoleh dari website *Protein data bank* [www.rcsb.org](http://www.rcsb.org) dalam bentuk file protein data bank (\*.pdb) dengan kode 6KUY. Struktur ligan uji yaitu senyawa aktif dari tanaman pegagan, serta ligan pembanding yaitu *Clonidine* digambar dalam bentuk 2D dan 3D keudian disimpan dalam bentuk file (\*.cdx) dan (\*.c3xml), selanjutnya disimpan dalam bentuk file (\*.mol)



Gambar 4. 1 *Crystal structure of the alpha 2A adrenergic receptor in complex with a partial agonis*

Sumber : (Protein Data Bank, 2019)

### 4.3. Persiapan ligan

Ligan uji yang digunakan adalah senyawa aktif dari tanaman pegagan yang diduga memiliki aktivitas sebagai antihipertensi (vasodilator). Pembuatan ulang struktur 2D dan 3D yang diunduh situ Pubchem (<https://pubchem.com>) menggunakan aplikasi ChemDraw 2D dan 3D.

kemudian dilakukan optimasi geometri menggunakan aplikasi Gaussian 09, metode yang digunakan yaitu *Density Functional Theory*, menggunakan basis set 6-31G serta fungsi B3LYP.

#### 4.4. Persiapan Protein Target

Struktur protein target yang digunakan yaitu reseptor *Alpha-2 Adrenergic*, dicari dan diunduh pada situs atau website PDB <https://www.rcsb.org> dengan kode PDB ID 6KUY yang dikelola oleh *Research Collaboratory for Structural Biology* (RCSB). Diunduh dengan format file pdb.

#### 4.5. Validasi Docking

*Docking* ligan alami dan protein target reseptor *Alpha-2 Adrenergic* yang telah dipisahkan sebelumnya menggunakan aplikasi *Discovery Studio* dilakukan untuk validasi metode. Validasi *docking* dilakukan menggunakan aplikasi *AutoDock* versi 4.2.6. pengaturan gridbox dengan number of GA runs sebanyak 100 maksimal *number of evals medium* dilakukan untuk perhitungan *docking* dengan mengatur daerah tengah ligan alami. Validasi metode *docking* menyatakan nilai RMSD valid jika  $\leq 2\text{\AA}$ .

#### 4.6. Simulasi Docking

Simulasi *docking* senyawa uji terhadap reseptor *Alpha-2 Adrenergic* dilakukan menggunakan aplikasi *AutoDock* versi 4.2.6. pengaturan lokasi *docking* dilakukan sesuai dengan ukuran dan area yang diperoleh dari hasil validasi *docking*. Selanjutnya interpretasi hasil *docking* dengan melihat nilai  $\Delta G$  (energi bebas),  $K_i$  (konstanta inhibisi) serta visualisasi interaksi yang terjadi antara ligan uji dengan reseptor *Alpha-2 Adrenergic* dengan menggunakan aplikasi *Discovery Studio Visualizer 2020*.

#### 4.7. Simulasi Molecular Dynamic

Simulasi MD dilakukan untuk mensimulasikan interaksi yang terjadi antara ligan dengan reseptor dengan menggunakan aplikasi *AMBER* versi 18 pada kondisi mendekati fisiologis tubuh. Tahapan topologi, termasuk preparasi reseptor dengan ligan yang akan digabungkan menjadi kompleks. Kemudian tahapan solvasi, tipe box digunakan untuk protein dan ligan dalam melakukan simulasi, yang nantinya akan diberikan pelarut model air yaitu TIP3P dengan tipe *Periodic Boundary Conditions* (PBC) dan penambahan ion agar sistem memperoleh keadaan yang netral.

Selanjutnya, minimisasi energi dilakukan untuk mencegah antar atom mengalami kontak yang tidak diperlukan dan ekulibrasi dilakukan agar volume, tekanan dan suhu konstan selama dilakukannya simulasi. Sistem dipanaskan secara perlahan hingga mencapai suhu 310 K dengan tekanan 1 atm. Simulasi dilanjutkan dengan produksi selama waktu terbaik yang mencapai



kestabilan interaksi. Setelah simulasi selesai maka tahap akhir adalah menganalisis hasil simulasi MD antara lain yaitu RMSD, RMSF, dan MMGBSA.

## BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 5.1. Persiapan ligan

Ligan uji yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 47 senyawa aktif tanaman pegagan yang diduga memiliki aktivitas sebagai antihipertensi secara *in vivo* terlampir pada Lampiran 1. *Clonidine* yang merupakan antihipertensi golongan vasodilator dengan cara menstimulasi  $\alpha_2$ . Penggunaan ligan pembanding dimaksudkan untuk membandingkan aktivitas dari ligan uji dengan obat golongan vasodilator yang telah diketahui aktivitasnya. Kemudian masing-masing ligan dilakukan permodelan struktur 2D dan 3D dengan menggunakan *ChemBio Office 2010*.

### Penentuan Parameter Sifat Fisikokimia

Tabel 5. 1 Sifat Fisiokimia Ligan Uji

Kode Ligan	Log P	BM (g/mol)	Jumlah akseptor ikatan H	Jumlah donor ikatan H
SP1	6,20	472	4	3
SP2	2,42	270	5	3
SP3	5,18	488	5	4
SP4	5,03	488	5	4
SP5	4,00	312	0	4
SP6	-1,03	958	19	12
SP7	-0,43	448	11	7
SP8	5,18	488	5	4
SP9	7,09	456	3	2
SP10	2,19	154	1	1
SP11	2,78	420	6	2
SP12	7,63	400	1	1
SP13	2,28	152	1	1
SP14	3,94	220	1	0
SP15	3,12	464	10	6
SP16	3,71	432	8	4
SP17	0,77	284	5	3
SP18	5,32	488	5	4
SP19	-0,74	958	19	12
SP20	-0,91	828	16	11
SP21	-0,64	354	9	6
SP22	1,55	290	6	5
SP23	2,60	250	3	1
SP24	-53.10	312	6	5
SP25	6,06	472	4	3
SP26	4,26	318	3	0
SP27	3,24	196	2	0

SP28	-53,10	312	6	5
SP29	-7,31	464	12	8
SP30	4,15	504	6	5
SP31	2,31	286	6	4
SP32	806	432	10	6
SP33	2,67	154	1	1
SP34	2,13	286	6	4
SP35	5,03	488	5	4
SP36	4,00	504	6	5
SP37	-0,05	312	6	5
SP38	5,12	502	5	3
SP39	1,72	318	8	6
SP40	-1,16	580	14	8
SP41	2,02	332	8	5
SP42	6,20	472	4	3
SP43	2,01	302	7	5
SP44	-1,88	610	16	10
SP45	7,80	412	1	1
SP46	4,15	504	6	5
SP47	7,09	456	3	2
P	2,36	230	3	2

Parameter sifat fisikokimia merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi aksi suatu ligan merupakan salah satu syarat yang harus dipenuhi khususnya untuk sediaan obat peroral berdasarkan aturan Lipinski. Penentuan parameter sifat fisikokimia antara lain nilai koefisien partisi (LogP), bobot molekul (BM), ikatan donor dan akseptor hidrogen Tabel 5.1.

### 1. Penentuan koefisien partisi (LogP)

LogP merupakan parameter sifat fisikokimia yang menentukan sifat hidrofobik atau hidrofilik suatu ligan, persyaratan obat dengan rute peroral berdasarkan aturan Lipinski harus memiliki nilai  $\text{LogP} \leq 5$ . Semakin besar nilai LogP menunjukkan bahwa semakin mudah ligan tersebut larut dalam lemak. Nilai nilai LogP terlalu besar menunjukkan bahwa sifat senyawa tersebut sangat lipofil sehingga akan tertahan lama di lapisan membran biologis yang mengakibatkan ligan tersebut akan sulit didistribusikan dan sulit berinteraksi dengan protein target karena komponen tubuh adalah air. Sedangkan semakin kecil LogP maka ligan tersebut bersifat hidrofilik sehingga akan mudah didistribusikan ke dalam tubuh oleh air dan mudah berinteraksi dengan protein targetnya, namun jika ligan bersifat sangat hidrofilik

mengakibatkan ligan tidak bisa melewati membrane biologis dan tidak terjadi interaksi dengan protein target (Ruswanto et al., 2015).

Hasil penentuan nilai LogP terhadap masing-masing ligan (Tabel 5.1) menunjukkan bahwa terdapat 14 ligan uji dari tanaman pegagan mempunyai nilai LogP yang  $> 5$  artinya ligan tersebut tidak memenuhi aturan Lipinski dan bersifat lipofil, maka lebih mudah menembus membrane biologis, namun sukar didistribusikan dan sukar berinteraksi dengan protein target dibandingkan dengan ligan yang lainnya.

## **2. Penentuan Bobot Molekul (BM)**

Peningkatan bobot molekul berkaitan dengan penurunan kemudahan menembus membran biologis (Ruswanto et al., 2015). Berdasarkan aturan Lipinski, syarat nilai BM yaitu  $< 500$  g/mol, menunjukkan bahwa ukuran molekul relative kecil sehingga memudahkan ligan untuk menembus membran biologis (Lipinski et al., 2012). Hasil penentuan BM terhadap masing-masing ligan (table VI.1) menunjukkan bahwa terdapat 9 ligan uji dari tanaman pegagan mempunyai nilai BM  $> 500$  g/mol sehingga tidak memenuhi aturan Lipinski dan diprediksi bahwa ligan tersebut lebih sulit untuk menembus membran biologis dan berinteraksi dengan dengan protein target.

## **3. Donor dan akseptor ikatan hidrogen**

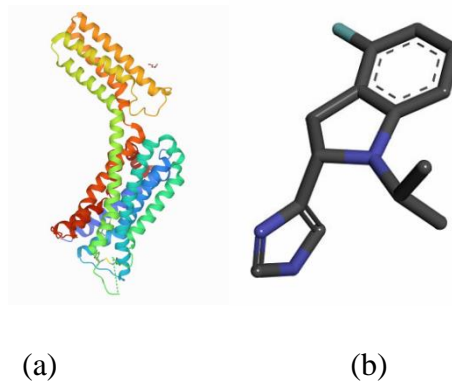
Semakin tinggi jumlah donor dan akseptor ikatan hidrogen, maka semakin tinggi energi yang dibutuhkan agar proses absorpsi dapat terjadi, sehingga kemampuan menembus membran biologis diprediksi memerlukan waktu yang relative lama. Berdasarkan aturan Lipinski, syarat jumlah donor ikatan hidrogen yaitu  $< 5$  dan jumlah akseptor ikatan hidrogen  $< 10$  (Lipinski et al., 2012). Hasil penentuan terhadap masing-masing ligan (Tabel 5.1) menunjukkan bahwa terdapat 20 ligan uji dari tanaman pegagan tidak memenuhi aturan Lipinski sehingga memerlukan energi yang tinggi untuk menembus membran biologis.

Secara keseluruhan hasil pengujian parameter aturan Lipinski (LogP, BM, jumlah donor dan akseptor ikatan hidrogen) terdapat 14 ligan yang memenuhi keseluruhan aturan Lipinski dan *clonidine* memiliki kemampuan menembus membran biologis yang lebih baik dibandingkan ligan uji lainnya.

## **5.2. Persiapan Protein Target**

Struktur protein target yang digunakan yaitu *Alpha-2 Adrenergic*, diunduh dari situs *Protein Data Bank* <https://www.rcsb.org/>. yang dikelola oleh *Research Collaboratory for Structural Biology* (RCSB), merupakan database berisi informasi mengenai berbagai makromolekul

biologi yang telah dirancang menggunakan data hasil eksperimen *Alpha-2 Adrenergic* yang diunduh dengan kode PDB ID 6KUY. Berikut visualisasi dari protein target dan ligan alami yang digunakan.



Gambar 5. 1 (a) kompleks *Alpha-2 Adrenergic* (6KUY) dan (b) ligan alami

Sumber (Protein Data Bank., 2019)

Pemilihan kode ini karena sebagai stimulasi dari *Alpha-2 Adrenergic* agar dapat dapat melebarkan pembuluh darah. Organisme manusia (*Homo sapiens*) karena hasil penelitian ini diharapkan dapat disintesis dan diujikan kepada manusia. Metode *X-ray diffraction* (XRD) karena metode ini hanya satu pose dalam keadaan diam. Memiliki nilai resolusi yang kurang baik yakni 3,20 Å (lebih dari 2 Å), resolusi ini menunjukkan kerapatan jarak dari masing-masing asam amino penusunan protein. Selain itu, telah membentuk kompleks dengan beberapa molekul kecil (Zhou *et al.*, 2012; Protein Data Bank., 2019).

### 5.3. Optimasi Geometri

Optimasi geometri dilakukan menggunakan aplikasi Gaussian09 melalui interface pada GaussView 5.0.8. Tujuan optimasi geometri yaitu menghitung energi terendah atau minimum dari suatu molekul dan memperoleh pose paling stabil dari molekul tersebut. Optimasi geometri yang dilakukan menggunakan metode *Density Functional Theory* (DFT) yang merupakan metode mekanika kuantum yang menghitung energi suatu molekul berdasarkan kerapatan elektronnya, sehingga memiliki tingkat akurasi yang tinggi walaupun waktu yang diperlukan lama dan membutuhkan spesifikasi computer yang tinggi (Pamungkas & Sanjaya, 2013; Pongajow *et al.*, 2017). Berikut hasil optimasi geometri (Tabel 5.2):

Tabel 5. 2 HOMO, LUMO dan *gap energy* hasil optimasi geometri

Kode Ligan	HOMO (kkal/mol)	LUMO (kkal/mol)	Gap Energy (kkal/mol)	HF (amu)
SP1	-0,2206	-0,0097	-0,2109	-1.472,5940
SP2	-0,2249	-0,0759	-0,1490	-953,4722
SP3	-0,2261	-0,0118	-0,2143	-1.547,7787
SP4	-0,2210	-0,0022	-0,2189	-1.547,7601
SP5	-0,2559	-0,0579	-0,1981	-1.036,7192
SP6	-0,2172	-0,0082	-0,2090	-3.304,2004
SP7	-0,2323	-0,0879	-0,1445	-1.639,1949
SP8	-0,2229	-0,0100	-0,2129	-1.547,7750
SP9	-0,2327	-0,0137	-0,2189	-1.397,3877
SP10	-0,2516	-0,0573	-0,1944	-466,9951
SP11	-0,2199	-0,0483	-0,1716	-1.386, 9947
SP12	-0,2279	0,0279	-0,2558	-1.170,8257
SP13	-0,2373	0,0144	-0,2516	-465,7676
SP14	-0,2381	0,0115	-0,2496	-661,0210
SP15	-0,2174	-0,0773	-0,1401	-1.675,9014
SP16	-0,2211	-0,0744	-0,1467	-1.525,5349
SP17	-0,2485	-0,0511	-0,1973	-961,8012
SP18	-0,2191	-0,0095	-0,2096	-1.547,7741
SP19	-0,2117	-0,0066	-0,2051	-3.304,2154
SP20	-0,2246	-0,0209	-0,2037	-2.844,0262
SP21	-0,2228	-0,0753	-0,1475	-1.297,1493
SP22	-0,2026	0,0054	-0,2080	-1.031, 0315
SP23	-0,2551	0,0128	-0,2679	-810,1860
SP24	-0,0225	-0,0192	-0,0032	-3.302,9796

SP25	-0,2256	-0,0106	-0,2149	-1.472,5908
SP26	-0,2559	-0,4680	0,2121	-1.005,5312
SP27	-0,2291	0,0035	-0,2326	-619,5866
SP28	-0,2135	0,0276	-0,2411	-2.506,3632
SP29	-0,2306	-0,0882	-0,1424	-1.714,3866
SP30	-0,2181	0,0116	-0,2296	-1.614,5752
SP31	-0,2176	-0,0739	-0,1437	-1.028,6481
SP32	-0,2164	-0,0842	-0,1321	-1.564,0309
SP33	-0,2282	0,0089	-0,2372	-466,9685
SP34	-0,2191	-0,0613	-0,1577	-1.028,6360
SP35	-0,2285	-0,0147	-0,2138	-1.547,7692
SP36	-0,2288	-0,0129	-0,2159	-1.622,9477
SP37	-0,2216	-0,0116	-0,2099	-3.379,3551
SP38	-0,2194	-0,0012	-0,2182	-1.587,0547
SP39	-0,2201	-0,0775	-0,1427	-1.179,0244
SP40	-0,2269	-0,0567	-0,1702	-2.100,5471
SP41	-0,2097	-0,0813	-0,1284	-1.218,3407
SP42	-0,2197	-0,0127	-0,2070	-1.472,5827
SP43	-0,2174	-0,0759	-0,1415	-1.103,8410
SP44	-0,2076	-0,0691	-0,1385	-2.249,7424
SP45	-0,2279	0,0256	-0,2536	-1.208,9059
SP46	-0,2278	-0,0116	-0,2162	-1.622,9541
SP47	-0,2230	-0,0091	-0,2139	-1.397,3967
P	-0,1915	-0,0285	-0,1631	-1.432,8163

---

HOMO dan LUMO merupakan parameter yang bertanggung jawab dalam pembentukan kompleks perpindahan muatan. Nilai HOMO yang besar menunjukkan kecenderungan senyawa

tersebut untuk memberikan elektron. Sedangkan LUMO rendah menunjukkan kecenderungan senyawa untuk menerima elektron. Pada Tabel 5.2 bahwa nilai HOMO yang paling besar ditunjukkan oleh ligan uji SP24 pada tanaman pegagan yakni sebesar -0,0225 kkal/mol sehingga diprediksi ligan uji memiliki kemampuan yang lebih besar dalam mendonorkan elektron dibandingkan ligan uji yang lainnya. Sedangkan nilai LUMO yang paling rendah ditunjukkan oleh ligan uji SP26 yakni sebesar -0,4680 kkal/mol, diprediksi ligan ini memiliki kemampuan yang lebih besar dalam menerima elektron dibandingkan ligan uji yang lainnya.

*Gap energy* merupakan selisih antara nilai energi HOMO dan LUMO yang berperan sebagai indikator reaktivitas dan energi stabilitas suatu molekul. Selisih energi pada orbital HOMO-LUMO akan menggambarkan kemudahan suatu sistem molekul untuk mengalami eksitasi ke keadaan elektronik yang lebih tinggi (Tahir, I., *et al.*, 2005). Semakin besar nilai *gap energy* maka semakin sulit elektron untuk tereksitasi sehingga stabilitasnya lebih tinggi dan reaktivitasnya lebih rendah. Sedangkan semakin kecil nilai *gap energy* maka semakin mudah elektron untuk tereksitasi sehingga reaktivitasnya tinggi dan stabilitasnya rendah. Berdasarkan hasil pada Tabel 5.2 yang telah dilakukan menunjukkan bahwa ligan uji SP23 memiliki nilai *gap energy* yang paling besar yakni -0,2679 kkal/mol dan ligan uji SP24 memiliki nilai *gap energy* paling kecil yakni -0,0032 kkal/mol dibandingkan ligan uji lainnya. Hal tersebut menunjukkan bahwa ligan uji pada tanaman pegagan diprediksi memiliki stabilitas tinggi dibandingkan dengan ligan uji lainnya serta ligan pembanding.

#### 5.4. Validasi Docking

Validasi *docking* menggunakan aplikasi *AutoDock* versi 4.2.6. Validasi docking dilakukan dengan cara *redocking* antara ligan alami dengan protein target *Alpha-2 Adrenergic* untuk memperoleh parameter yang valid sebelum melakukan *docking* pada ligan uji dan pembanding. Pada proses validasi *docking*, yang dilihat adalah nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*). Metode *docking* dikatakan mempunyai nilai validitas yang tinggi apabila nilai  $\text{RMSD} \leq 2\text{\AA}$ , artinya metode *docking* yang digunakan memberikan hasil simpangan yang tidak besar yang artinya parameter *docking* telah valid sehingga dapat digunakan untuk *docking* ligan uji. Sedangkan jika nilai  $\text{RMSD} > 2\text{\AA}$  menunjukkan penyimpangan besar (tidak valid) (Ferwadi *et al.*, 2017; López-Camacho, *et al.*, 2016).

Struktur reseptor *Alpha-2 Adrenergic* yang diunduh dari RCSB mengandung molekul air, sehingga dilakukan penghilangan molekul air. Reseptor *Alpha-2 Adrenergic* yang digunakan merupakan reseptor preparasi secara eksperimental melalui metode kristalografi sinar-X sehingga tidak terdapat atom hidrogen, maka dilakukan penambahan atom hidrogen yang

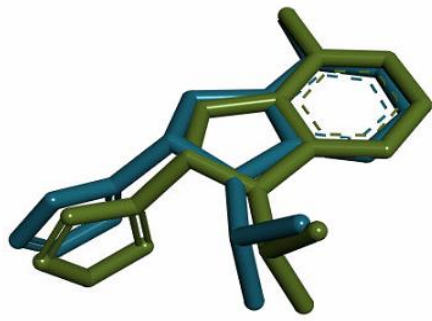


bersifat polar pada protein target tersebut, karena peran atom hidrogen ini penting dalam interaksi antara ligan dengan protein target dan jenis atom hidrogen yang bersifat polar saja yang terlibat dalam ikatan hidrogen (Morris et al., 2008).

Tabel 5. 3 Parameter Validasi Metode *Docking*

<i>Grid Box</i>			<i>Grid Spacing</i>	<i>Grid Center</i>		
X	Y	Z		<i>x center</i>	<i>y center</i>	<i>z center</i>
54	54	54	0,375	28.388	3.262	48.550
<i>Number of Runs : 100</i>						
<i>Number of Evals : Medium</i>						
<i>Metode Algoritma : Lamarckian Genetic Algorith</i>						

Pada proses validasi *docking*, dilakukan pengaturan *grid box*. *Grid box* adalah pengaturan tepat *docking* yang berfungsi untuk membatasi daerah prediksi interaksi antara ligan dan protein target. Ukuran *grid box* disesuaikan daerah besarnya ligan yang akan *didocking*, kemudian diatur pula *grid center* yang merupakan sisi *grid box* yang digunakan pada validasi *docking*. Dari hasil validasi diperoleh ukuran *grid box* yang memenuhi persyaratan validasi ( $\text{RMSD} \leq 2\text{\AA}$ ) yakni ukuran *grid box* X = 54, Y = 54 dan Z = 54 (Tabel 5.3). Sedangkan *grid spacing* yang digunakan adalah 0,375 Å serta *grid center* nya X = 28,388, Y = 3,262 dan Z = 48,550. Metode algoritma yang digunakan adalah *Lamarckian Genetic Algorith* (LGA) merupakan kombinasi dari metode algoritma *local search* dan *genetic algorithm* serta LGA lebih efisien, optimal dan akurat daripada metode algoritma lainnya (Morris et al., 2008). Pada penelitian ini *Number of GA runs* dilakukan sebanyak 100 pose, yang artinya dalam satu kali proses *docking* akan dihasilkan 100 pose interaksi ligan terhadap protein target yang diurutkan berdasarkan nilai energi bebas ikatan ( $\Delta G$ ) dan konstanta inhibisi ( $K_i$ ) dan *number of evals* yang digunakan adalah medium.



Warna hijau : ligan alami kristalografi sinar-X

Warna biru : ligan alami *redocking*

$\Delta G$  : -6,79 kcal/mol

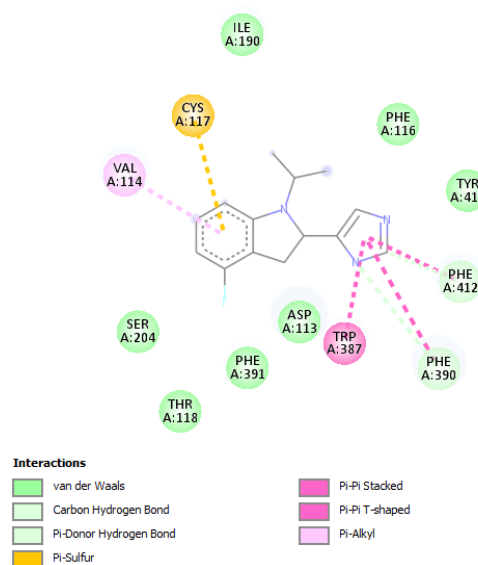
Ki : 10,55 nM

Run ke : 98

RMSD : 0,508 Å

Gambar 5. 2 Visualisasi tumpang tindih ligan alami hasil re-*docking* (biru) dan kristalografi sinar-X (hijau)

Visualisasi tumpang tindih ligan alami kristalografi sinar-X dengan ligan alami hasil re-*docking* bertujuan untuk mengamati perubahan posisi antara pose ligan alami hasil penambahan ulang dengan pose ligan alami hasil kristalografi sinar-X. diperoleh nilai energi bebas ikatan ( $\Delta G$ ) sebesar -6,79 kcal/mol dan nilai konstanta inhibisi (Ki) sebesar 10,55 nM dengan nilai RMSD yang telah memenuhi syarat diperoleh dari *run* ke-98 yaitu sebesar 0,508 Å (Gambar 5.2).



Gambar 5. 3 Visualisasi interaksi *Alpha-2 Adrenergic* dengan ligan alami E39

Pada validasi *docking*, menunjukkan adanya ikatan dengan sisi aktif dari *Alpha-2 Adrenergic* (Gambar 5.3). hasil validasi *docking* menunjukkan beberapa interaksi diantaranya ikatan hidrogen, ikatan hidrofobik, dan ikatan lainnya (Tabel 5. 4). Dari interaksi yang terbentuk, interaksi ikatan yang paling banyak terbentuk adalah ikatan hidrogen dan ikatan hidrofobik. Ikatan hidrogen merupakan interaksi atom hidrogen dengan atom elektronegatif seperti flour (F), nitrogen (N) dan oksigen (O). Pada hasil validasi ikatan tersebut terbentuk residu asam

amino Phe412 dan Phe390. Ikatan hidrofobik merupakan interaksi yang bersifat menghindari lingkungan cair dan cenderung membentuk struktur. residu asam amino ikatan hidrofobik sehingga meminimalkan interaksi residu nonpolar dengan air (Arwansyah et al., 2014). Pada hasil validasi ikatan tersebut terbentuk residu asam amino Trp387 dan Val114.

Tabel 5. 4 Interaksi Reseptor *Alpha-2 Adrenergic* dengan Ligan Alami E39

Kompleks	Interaksi	Jarak Ikatan (Å)	Residu Asam Amino
Kompleks : 6KUY - E39	Ikatan Hidrogen :		
	Phe412	3,35	Ser 204, Phe 391,
	Phe390	4,01	Thr 118, <b>Asp 113</b> ,
$\Delta G$ : -6,79 kcal/mol	Ikatan Hidrofobik :		<b>Phe 390</b> , Phe 412,
		4,48	Tyr 416, <b>Trp 387</b> ,
	Trp387	4,74	Phe 116, Ile 190,
	Val114	5,05	Cys 117, Val 114
Ki : 10,55 nM	Ikatan Lainnya		
	Cys117	4,54	
		5,30	

Selain itu, terbentuk pula interaksi ikatan lainnya. Pada hasil validasi ikatan tersebut terbentuk residu asam amino Cys117. Residu asam amino penting dan bertanggung jawab terhadap aktivitas adalah Asp113 (Asp94), Phe390 (Phe340) dan Trp387 (Trp 337) (Protein Data Bank., 2019). Berdasarkan hasil interaksi tersebut membuktikan validasi penambatan molekul telah valid.

### 5.5. Docking Ligan Uji dan Ligan Pembanding

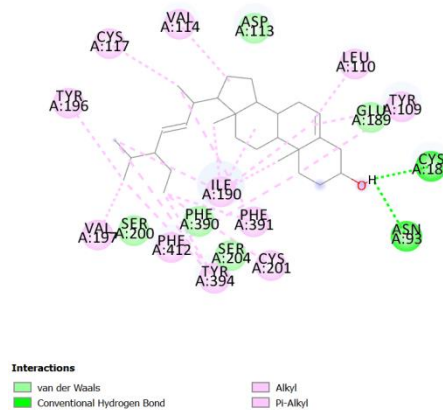
*Docking* ini dilakukan untuk mengetahui interaksi dan afinitas ligan terhadap sisi aktif protein target serta menentukan ligan terbaiknya. Pada *docking* ligan uji dan pembanding menggunakan algoritma parameter *docking* yang sudah tervalidasi sebelumnya didapatkan dari hasil validasi *docking*. Hasil *docking* yang diperoleh antara lain nilai energi bebas ikatan ( $\Delta G$ ), konstanta inhibisi (Ki), dan interaksi ikatan yang terbentuk antara ligan dengan protein target *Alpha-2 Adrenergic*. Analisis  $\Delta G$  untuk mengetahui kestabilan reaksi antara ligan dengan protein target. Semakin negatif nilai  $\Delta G$  maka tingkat kestabilan ikatan semakin baik. Analisis Ki untuk menunjukkan afinitas antar ligan dengan protein target. Semakin kecil nilai Ki maka nilai penghambatan senyawa terhadap sisi aktif protein target semakin efektif sehingga terbentuk afinitas yang baik antara ligan dengan protein target.

Tabel 5. 5 Hasil *Docking* Ligan Uji dan Pembanding

Kode Ligan	Senyawa	$\Delta G$ (kcal/mol)	Ki
SP45	Stigmasterol	-12.76	446.40 pM
SP12	Campesterol	-12.28	999.55 pM
SP20	Centellasaponin B	-12.20	1.14 nM
SP28	Ginsenoside Mc	-11.86	2.04 nM
SP16	Castilliferol	-11.43	4.21 nM
SP15	Castillicetin	-11.01	8.50 nM
SP9	Betulinic acid	-10.64	15.99 nM
SP32	Kaempferol 7-rhamnoside	-10.60	16.86 nM
SP40	Naringin	-10.44	22.41 nM
SP1	3-epimasclenic acid	-10.26	30.70 nM
SP47	Ursolic acid	-10.07	41.72 nM
SP35	Madasiatic acid	-10.04	43.53 nM
SP26	Galanolactone	-10.01	45.90 nM
SP25	Corosolic acid	-9.49	110.07 nM
SP3	Arjunolic acid	-9.40	129.78 nM
SP44	Rutin	-9.16	192.60 nM
SP18	Centellasapogenol A	-8.99	257.28 nM
SP38	Methyl asiatic acid	446	262.56 nM
SP7	Astragalin	-8.68	436.26 nM
SP29	Isoquercitrin	-8.64	461.49 nM
SP41	Patuletin	-8.60	492.67 nM
SP46	Terminolic acid	-8.53	561.42 nM
SP34	Luteolin	-8.39	711.12 nM
SP43	Quercetin	-8.23	927.77 nM
SP5	Asiaticin	-8.19	986.07 nM
SP8	Bayogenin	-8.16	1.04 $\mu$ M
SP22	Catechin	-8.10	1.16 $\mu$ M
SP21	Chlorogenic acid	-8.07	1.21 $\mu$ M

SP2	Apigenin	-8.03	1.30 uM
SP4	Asiatic acid	-8.00	1.36 uM
SP42	Pomolic acid	-7.85	1.75 uM
SP39	Myricetin	-7.62	2.59 uM
SP14	Caryophyllene epoxide	-7.53	3.03 uM
SP31	Kaempferol	-7.37	3.96 uM
SP23	Centellin	-7.12	6.03 uM
SP11	Cadiyenol	-6.96	7.96 uM
LA	Ligan Alami	-6.79	10,57 uM
SP36	Madecassic acid	-6.49	17.56 uM
P	<i>Clonidine</i>	-6.44	18.92 uM
SP27	Geranyl acetate	-6.34	22.57 uM
SP30	Isothanskunic acid	-6.24	26.75 uM
SP17	Cenetellicin	-6.09	34.26 uM
SP13	Carveol	-5.69	67.61 uM
SP10	Borneol	-5.47	97.08 uM
SP33	Linalool	-5.45	100.37 uM
SP6	Asiaticoside	10.98	-
SP19	Centellasaponin A	13.82	-
SP24	Centelloside E	19.89	-
SP37	Madecassoside	27.04	-

Berdasarkan hasil *docking* ligan uji dan pembanding, nilai  $\Delta G$  dan  $K_i$  yang diperoleh terdapat hasil *docking* yang lebih baik dari ligan alami dan pembanding yaitu *Clonidine* (Tabel 5.5). Sehingga diprediksi seluruh ligan uji memiliki afinitas yang lebih baik dalam berinteraksi dengan protein target dibandingkan dengan ligan pembanding (*Clonidine*). Secara berturut-turut nilai  $\Delta G$  dan  $K_i$  dari yang terendah hingga terbesar terdapat 37 senyawa yang lebih baik dari ligan pembanding dan 35 senyawa yang lebih baik dari ligan alami. Ligan uji yang memiliki nilai  $\Delta G$  dan  $K_i$  terbaik adalah ligan uji Stigmasterol dengan kode ligan SP45 pada tanaman pegagan dengan nilai  $\Delta G$  -12,76 kcal/mol dan  $K_i$  446,40 pM. Ligan uji strigmasterol (SP45) memiliki beberapa interaksi berikut visualisasinya pada Gambar 5.4

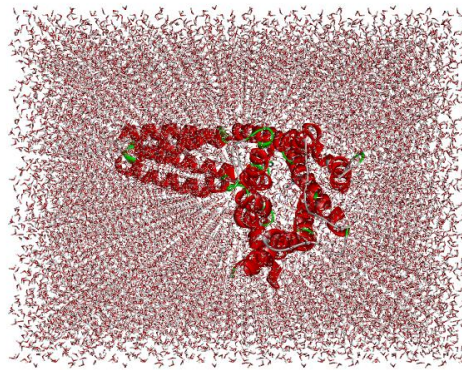


Gambar 5. 4 Visualisasi Interaksi Ikatan Ligan Uji Terbaik

Secara keseluruhan ligan uji apabila dibandingkan dengan ligan pembanding, jenis residu asam amino yang berikatan dengan ligan uji sebagian besar menyajikan residu asam amino yang sama dengan ligan alami. Sehingga dapat disimpulkan bahwa beberapa ligan uji tersebut diprediksi memiliki aktivitas dalam mengagonis *Alpha-2 Adrenergic*. Namun karena pada simulasi *docking* ini proses interaksi antara ligan dan protein target dimudahkan yakni tidak sesuai dengan kondisi fisiologis tubuh manusia, maka perlu dilanjutkan ke metode simulasi dinamika molekul supaya diperoleh ligan uji yang terbaik yang telah diuji dalam keadaan mendekati kondisi fisiologis manusia. Karena terdapat 37 senyawa ligan uji memiliki afinitas yang lebih baik dalam berinteraksi dengan protein target dibandingkan ligan pembanding (*Clonidine*), namun hanya 10 ligan uji dan ligan pembanding tersebut diujikan pada metode simulasi dinamika molekul.

## 5.6. Simulasi Dinamika Molekul

Simulasi dinamika molekul antara protein target *Alpha-2 Adrenergic* dengan senyawa uji hasil metode *docking*, simulasi ini dilakukan menggunakan aplikasi *AMBER* versi 18, merupakan simulasi yang menganalisis kestabilan interaksi senyawa dengan protein targetnya dalam jangka waktu dan kondisi tertentu. Tujuannya adalah untuk mengamati kestabilan interaksi antara ligan-protein target yang dikondisikan mendekati keadaan fisiologis tubuh dalam rentang waktu tertentu (Fauzi, 2019). Tahapan simulasi dinamika molekul meliputi persiapan berkas masukan ligan dan reseptor *Alpha-2 Adrenergic*, pembuatan topologi dan koordinat, minimisasi kompleks, ekuilibrasi kompleks, dan analisis dinamika molekul. Simulasi dinamika molekul diawali dengan mempersiapkan berkas masukkan yakni file ligan dan protein target. Persiapan dilakukan dengan cara menyiapkan file *pdb Alpha-2 Adrenergic* yang dipisahkan dari ligan yang lain, dan file ligan yang digunakan adalah ligan terbaik hasil dari simulasi *docking* dengan menggunakan pose energi ikatan terendah yang disimpan dalam bentuk file *pdb*.



Gambar 5. 5 Visualisasi *Alpha-2 Adrenergic* dan ligan dalam pelarut air

Tahapan berikutnya yakni pembuatan topologi dan koordinat. Tahapan ini dilakukan agar simulasi berlangsung dalam keadaan susunan struktur *Alpha-2 Adrenergic* dan ligan yang tetap (tidak mengalami perubahan struktur) walaupun mengalami perubahan posisi selama proses simulasi dinamika molekul. Pada tahap ini pula dilakukan penambahan ion  $\text{Na}^+$  atau  $\text{Cl}^-$  supaya diperoleh sistem (protein target *Alpha-2 Adrenergic* dan ligan) dengan keadaan netral dengan sistem dilarutkan pada model pelarut air TIP3P dalam keadaan kotak dengan jarak 10 Å untuk mengefisienkan waktu simulasi. Pembuatan kotak dengan jarak 10 Å karena merupakan jarak standar untuk simulasi dinamika molekul (Garcia et al., 2012).

Selanjutnya dilakukan tahap minimisasi untuk menghindari kontak antar atom yang tidak diinginkan. Setelah itu tahap pemanasan, dilakukan dari suhu 0°K -310°K. Pemanasan ini dilakukan secara bertahap, tahap pertama pemanasan dari 0°K – 100°K, kemudian tahap kedua dari 100°K- 200°K, dan terakhir dari 200°K – 310°K dan tekannanya sebesar 1 atm secara konstan, pemanasan ini bertujuan karena ingin mendekati suhu dalam tubuh manusia  $\pm 37^\circ\text{C}$  atau setara 310°K. Selanjutnya tahap ekuilibrasi dilakukan untuk menstabilkan sistem sehingga sistem mencapai keadaan yang stabil (D.A. Case, *et al.*, 2020). Tahap terakhir yaitu produksi yang dilakukan selama 100 ns. Dari hasil produksi tersebut, kemudian dilakukan analisis dengan menganalisis nilai RMSD, RMSF, dan MMGBSA.

## Analisis hasil simulasi dinamika molekul

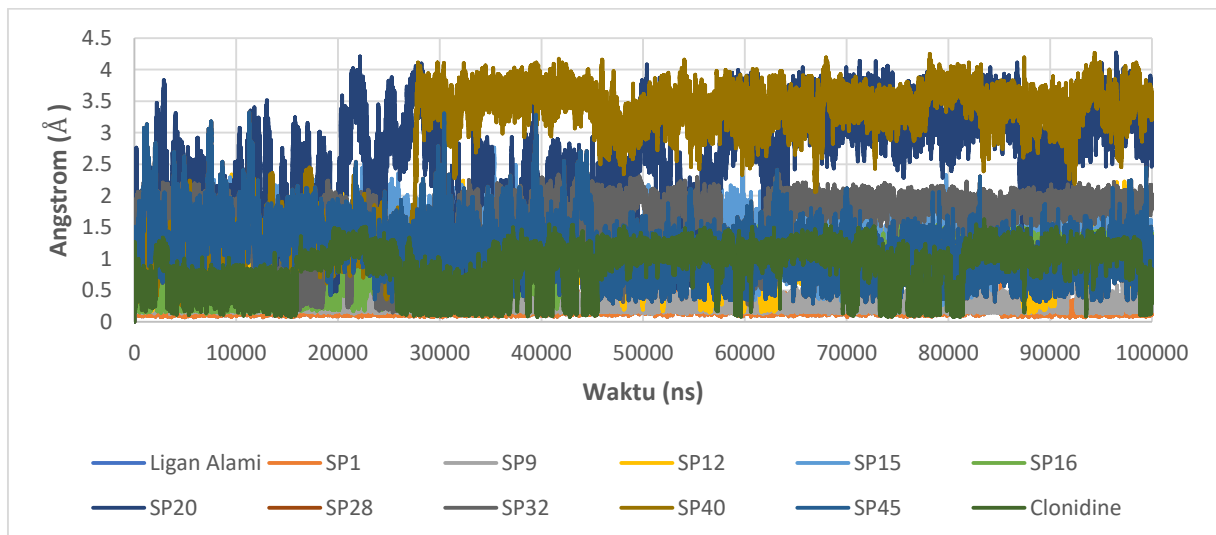
### 1. *Root mean square deviation (RMSD)*

RMSD dilakukan untuk menggambarkan pergerakan atau konformasi ligan dan protein target dalam bentuk grafik deviasi pergerakan (Å ) terhadap waktu (ns) (Xie *et al.*, 2015). RMSD digunakan untuk membandingkan pergeseran atau perubahan konformasi molekul selama proses simulasi berlangsung. Analisis RMSD dilakukan terhadap 12 sistem (kompleks protein

target *Alpha-2 Adrenergic*-ligan alami, ligan uji dan ligan pembanding) terdapat pada lampiran 2.

Tabel 5. 6 Pergerakan Rata Rata dan Rentang RMSD

Kode Ligan	Pergerakan Rata-Rata Deviasi (Å)	Rentang RMSD (Å)
Ligan Alami	0,244	0,067 – 0,871
SP1	0,244	0,067 – 0,871
SP9	0,284	0,113 – 0,749
SP12	1,058	0,138 – 2,338
SP15	1,372	0,252 – 2,763
SP16	0,838	0,129 – 1,671
SP20	2,532	0,304 – 4,270
SP28	1,119	0,288 – 3,324
SP32	1,514	0,150 – 2,373
SP40	2,832	0,210 – 4,265
SP45	1,119	0,288 – 3,324
<i>Clonidine</i>	0,878	0,075 – 1,628



Gambar 5. 6 Grafik RMSD Ligan selama 100 ns

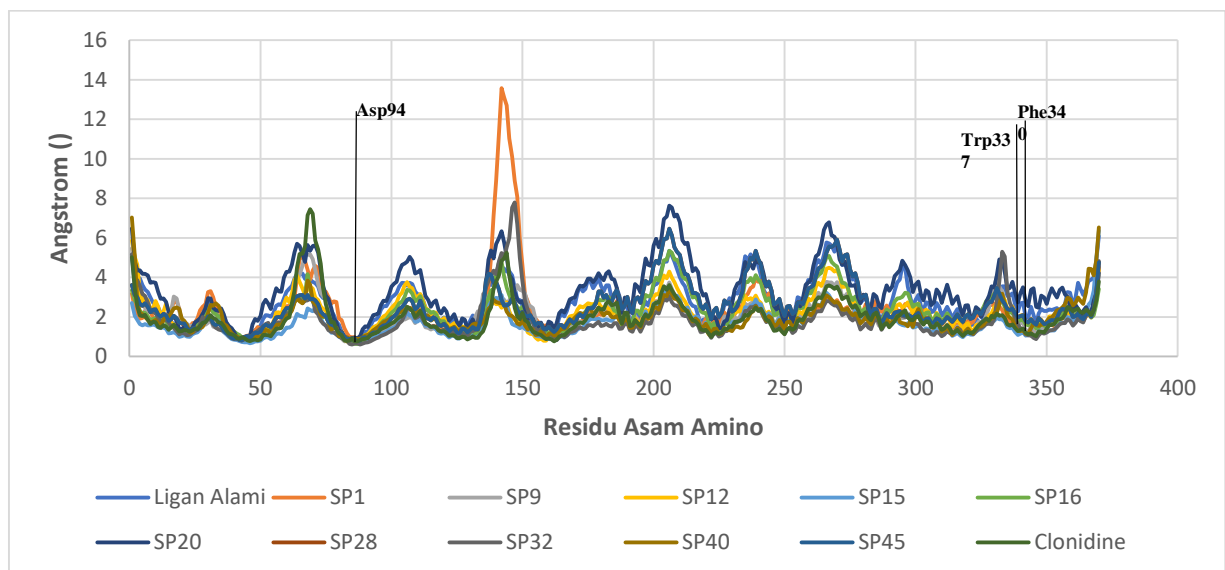
Data yang didapat saat simulasi dinamika molekul menghasilkan data yang beragam. Berdasarkan grafik diatas ligan uji *betulinic acid* memiliki grafik yang konstan dari awal hingga akhir sehingga dapat diartikan bahwa interaksi antara protein dan senyawa uji cukup stabil, sehingga memiliki kecenderungan dalam mempertahankan strukturnya. Pada Tabel 5.6, ligan



uji 3-epimasclenic acid memiliki nilai pergerakan rata-rata deviasi dan rentang RMSD yang sama dengan ligan alami yaitu  $0.244 \text{ \AA}$  dan  $0.067 \text{ \AA} - 0.871 \text{ \AA}$ .

## 2. Root Mean Square Fluctuation (RMSF)

RMSF merupakan ukuran yang menggambarkan fluktuasi pergerakan masing-masing residu selama proses simulasi dinamika molekul. RMSF dilakukan untuk mengukur kestabilan residu asam amino dalam kantong pengikatan selama simulasi dinamika molekul berlangsung, analisis RMSF dilakukan selama 100 ns yang digambarkan dalam bentuk grafik deviasi fluktuasi ( $\text{\AA}$ ) terhadap residu asam amino (Xie et al., 2015). Nilai RMSF secara garis besar akan menggambarkan fleksibilitas residu asam amino.



Gambar 5. 7 Grafik RMSF

Berdasarkan data diatas menunjukkan hasil yang beragam. Pergerakan rata-rata fluktuasi residu asam amino ligan alami, SP1, SP9, SP12, P15, SP19, SP20, SP28, SP32, SP40, SP45 dan *clonidine* berturut turut yaitu  $2,7519 \text{ \AA}$ ,  $2,3545 \text{ \AA}$ ,  $2,0406 \text{ \AA}$ ,  $2,1713 \text{ \AA}$ ,  $1,6665 \text{ \AA}$ ,  $2,2978 \text{ \AA}$ ,  $3,2457 \text{ \AA}$ ,  $2,4556 \text{ \AA}$ ,  $1,8352 \text{ \AA}$ ,  $1,9309 \text{ \AA}$ ,  $2,4556 \text{ \AA}$  dan  $1,9362 \text{ \AA}$ . Residu dengan fluktuasi yang rendah menunjukkan bahwa residu tersebut tidak memberikan fleksibilitas yang tinggi dan dapat dikatakan memiliki interaksi atau ikatan yang stabil dan berperan aktif pada situs pengikatan ligan-reseptor pada saat simulai yaitu Asp113 (Asp94), Phe390 (Phe340) dan Trp387 (Trp 337) menunjukkan nilai RMSF yang kurang dari  $2 \text{ \AA}$  sehingga dapat dikatakan jika residu tersebut merupakan residu penting pada sisi pengikatan sisi aktif pengikatan reseptor, sedangkan residu dengan fluktuasi tinggi menunjukkan residu tersebut memiliki fleksibilitas yang tinggi dan dapat dikatakan memiliki interaksi atau ikatan yang tidak stabil

karena mengalami banyak perubahan posisi selama proses simulasi berlangsung, sehingga dapat dikatakan bahwa residu tersebut tidak berperan aktif pada situs pengikatan ligan-reseptor.

### 3. Molecular Mechanic Generalized Born Surface Area (MMGBSA)

MMGBSA digunakan untuk memprediksi nilai energi bebas ikatan yang dihasilkan dari ligan terhadap sisi aktif reseptor selama proses simulasi dinamika molekul berlangsung (Xie *et al.*, 2015). Perhitungan MMGBSA ditentukan terhadap energi *van der waals* ( $\Delta E_{vdw}$ ), energi elektronik ( $\Delta E_{ele}$ ) dan energi bebas pengikatan ( $\Delta G$  Pengikatan) dan dinyatakan dalam satuan kilo kalori terhadap mol (kcal/mol).

Tabel 5. 7 Hasil Perhitungan MMGBSA

Kode Ligan	EVDW	EEL	EGB	ESURF	$\Delta G$ GAS	$\Delta G$ SOLV	$\Delta$ TOTAL
Ligan Alami	-35.6315	-2.1455	11.0748	-4.1362	-37.7770	6.9387	-30.8384
SP1	-24.7603	-16.8790	24.3197	-3.2680	-43.1646	21.0517	-22.1129
SP9	-35.3975	-10.2752	18.8896	-4.4515	-25,1223	14.4381	-31,2346
SP12	-26.9717	-3.2881	9.5613	-3.3021	-30.5975	6.2593	-24.3383
SP15	-19.8097	-55.1753	64.1171	-3.8110	-74.985	60.3061	-14.6789
SP16	432.8805	-21.7160	32.6039	-3.9803	411.1645	28.6235	439.7881
SP20	-19.0561	-27.6224	37.1431	-2.7174	-50.5801	34.4257	-16.1544
SP28	-27.2568	-11.7131	20.9334	-4.0588	-39.1207	16.8754	-22.2453
SP32	-20.2781	-14.2066	25.1083	-3.0385	-34.4847	22.0697	-12.4149
SP40	-26.8284	-28.7557	44.1948	-4.2254	-55.5842	39.9695	-15.6147
SP45	-32.0918	-9.2282	16.6959	-4.1100	-41.3200	12.5859	-28.7341
Clonidine	-16.9706	-6.1720	8.0949	-2.0330	-23.1426	6.0619	-17.0806

Ligan alami digunakan sebagai acuan untuk menentukan ligan uji yang paling baik. Berdasarkan Tabel 5.7 menunjukkan bahwa ligan alami memiliki nilai energi bebas ikatan total ( $\Delta G$  Total) yang lebih rendah dibandingkan dengan ligan uji SP1, SP12, SP15, SP16, SP20, SP28, SP32, SP40, SP45 dan *clonidine*. Hal ini menunjukkan bahwa tingkat afinitas ligan uji SP9 (*betulinic acid*) terhadap *Alpha-2 Adrenergic* diprediksi lebih baik sebagai obat anti hipertensi golongan vasodilator dibandingkan ligan alami dan ligan uji lainnya.

#### 4. Okupansi Ikatan Hidrogen

Tabel 5. 8 Okupansi Ikatan Hidrogen

Kode Ligan	Akseptor	Donor	Okupansi (%)
SP12	ASP_245	MOL_371	17,41
	ASP_245	MOL_371	4,51
	GLU_203	MOL_371	0,45
SP15	MOL_371	TRP_192	31,15
	GLU_203	MOL_371	21,65
	GLU_203	MOL_371	20,44
SP16	GLN_256	MOL_371	58,44
	GLN_256	MOL_371	13,06
	LEU_279	MOL_371	6,12
SP28	THR_282	MOL_371	44,58
	MOL_371	GLN_256	16,06
	MOL_371	GLN_278	9,2
SP45	MOL_371	TRP_192	31,15
	GLU_203	MOL_371	21,65
	GLU_203	MOL_371	20,44

Berdasarkan Tabel 5. 8 ligan uji SP12 memiliki nilai okupansi tertinggi sebesar 17,41% sebagai donor dengan Asp245. Ligan uji SP15 memiliki nilai okupansi tertinggi sebesar 31,15% sebagai akseptor dengan Trp192. Ligan uji SP16 memiliki nilai okupansi tertinggi sebesar 58,44% sebagai donor dengan Gln256. Ligan uji SP28 memiliki nilai okupansi sebesar 44,58% sebagai donor Thr282. Ligan uji SP45 memiliki nilai okupansi sebesar 31,15% sebagai akseptor Trp192. Persentase okupansi menjadi tolak ukur kuat lemahnya suatu ikatan hidrogen. Suatu ikatan hidrogen dapat dikatakan kuat apabila memiliki nilai okupansi yang tinggi ( $\geq 80$ ) (Shu *et al.*, 2011).

## BAB VI. KESIMPULAN

### 6.1 Kesimpulan

1. Berdasarkan hasil *docking*, terdapat 37 ligan uji yang memiliki interaksi dan afinitas lebih baik dibandingkan dengan reseptor dibandingkan dengan ligan pembanding (*Clonidine*).
2. Berdasarkan hasil dinamika molekul, ligan uji *betulinic acid* yang terdapat pada tanaman pegagan memiliki kestabilan interaksi dan nilai energi bebas ikatan yang lebih baik dari *clonidine* yang memiliki nilai energi bebas total sebesar -31,2346 kcal/mol.

### 6.2 Saran

1. Untuk disesuaikan dengan pembuktian secara *in vivo* terhadap ligan yang telah teruji secara *in silico* yang diprediksi berpotensi sebagai agonis *Alpha-2 Adrenergic*.
2. Dilakukan prediksi toksisitas secara *in silico* terhadap parameter uji lainnya

## DAFTAR PUSTAKA

- Arwansyah, A., Ambarsari, L., & Sumaryada, T. I. (2014). Simulasi *Docking* Senyawa Kurkumin dan Analognya Sebagai Inhibitor Reseptor Androgen pada Kanker Prostat. *Current Biochemistry*, 1(1), 11–19. <https://doi.org/10.29244/cb.1.1.11-19>
- Chisholm-Burns, M. A., Schwinghammer, T. L., Wells, B. G., Malone, P. M., Kolesar, J. M., & DiPiro, J. T. (2016). *Pharmacotherapy Principles & Practice (4th ed.)*.
- D.A. Case, K. Belfon, I.Y. Ben-Shalom, S.R. Brozell, D.S. Cerutti, T.E. Cheatham, III, V.W.D. Cruzeiro, T.A. Darden, R.E. Duke, G. Giambasu, M.K. Gilson, H. Gohlke, A.W. Goetz, R. Harris, S. Izadi, S.A. Izmailov, K. Kasavajhala, A. Kovalenko, ... P.A. Kollman. (2020). *Amber 2020*.
- DiPiro, J. T., Yee, G. C., Posey, L. M., Haines, S. T., Nolin, T. D., & Ellingrod, V. (2020). *Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach, Eleventh Edition*.
- Dipiro, J.T., Talbert, R.L., Yee, G.C., Matzake, G.R., Wells, B.G., Posey, L. M. (2015). *Pharmacotherapy Handbook Pharmacotherapy A Pathophysiologic Approach Ninth Edition*. McGraw-Hill Education.
- Fadilah, F., Edina, B. C., Rahmawati, R. A., Wiyono, L., Erlina, L., Paramita, R. I., & Tedjo, A. (2018). *Molecular dynamic of pinostrobin and pinocembrin from Kaempferia pandurata Roxb. towards estrogen receptor positive (ESR) and estrogen receptor negative (VEGFR) of breast cancer*. 2018(4), 1473–1480.
- Fauzi, R. N. (2019). Studi Docking Dan Dinamika Molekul Senyawa Alkaloid Indol Sebagai Inhibitor BCL-2 Terhadap Kanker Paruparu Serta Predikis Toksisitasnya. Universitas Bhakti Kencana.
- Ferreira, L. G., Santos, R. N., Oliva, G., & Andricopulo, A. D. (2015). *Molecular Docking and Structure-Based Drug Design Strategies*. <https://doi.org/10.3390/molecules200713384>
- Ferwadi, S., Gunawan, R., & Astuti, W. (2017). Studi Docking Molekular Senyawa Asam Sinamat Dan Derivatnya Sebagai Inhibitor Protein 1J4X Pada Sel Kanker Serviks Molecular Docking Study of Cinnamate Acid Compound and Its Derivatives As Protein 1J4X Inhibitor To Cervical Cancer Cell. *Jurnal Kimia Mulawarman*, 14(2), 85–90.
- Garcia, M. V. R., Marciela, W. N., Gomes, R. D. S., & Do Amaral, M. S. (2012). A tutorial for

- molecular dynamics simulations using Amber package. *Orbital - The Electronic Journal of Chemistry*, 4(3). <https://doi.org/10.17807/orbital.v4i3.330>
- Hollingsworth, S. A., & Dror, R. O. (2018). Molecular Dynamics Simulation for All. In *Neuron*. *Neuron*, 99(6), 1129–1143. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.08.011>
- Imam, S. S., & Gilani, S. J. (2017). *Computer Aided Drug Design : A Novel Loom To Drug Discovery*. 1(4). <https://doi.org/10.19080/OMCIJ.2017.01.555567>
- Kemenkes, R. (2013). *Riset Kesehatan Dasar; RISKESDAS*.
- Kemenkes, R. (2019). *Infodatin Hipertensi Si Pembunuh Senyap*.
- Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, P. J. (2012). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings i. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 64, 4–17. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.09.019>
- López-Camacho, E., García-Godoy, M. J., García-Nieto, J., Nebro, A. J., & Aldana-Montes, J. F. (2016). *A New Multi-objective Approach for Molecular Docking Based on RMSD and Binding Energy*. 65–77. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-38827-4>
- Macalino, S. J. Y., Gosu, V., Hong, S., & Choi, S. (2015). Role of computer-aided drug design in modern drug discovery. *Archives of Pharmacal Research*, 38(9), 1686–1701. <https://doi.org/10.1007/s12272-015-0640-5>
- Morris, G. M., Goodsell, D. S., Pique, M. E., Lindstrom, W. L., Huey, R., Hart, W. E., Halliday, S., Belew, R., & Olson, A. J. (2014). *AutoDock Version 4.2*. 1–69.
- Morris, G. M., Huey, R., & Olson, A. J. (2008). UNIT using AutoDock for ligand-receptor docking. In *Current Protocols in Bioinformatics* (Issue SUPPL. 24). <https://doi.org/10.1002/0471250953.bi0814s24>
- Muhadi. (2016). *ANALISIS JNC 8 : Evidence-based Guideline Penanganan Pasien Hipertensi Dewasa*. 43(1), 54–59.
- Nur Indah Sari, Yanita. (2017). *Berdamai dengan Hipertensi*. Jakarta: Tim Bumi Medika.
- Pamungkas, G., & Sanjaya, I. G. M. (2013). Kajian Teoritis Untuk Menentukan Celah Energi Porfirin Terkonjugasi Logam Kalsium Menggunakan Teori Fungsional Kerapatan ( DFT ). *Unesa Journal of Chemistry*, 2(1), 54–61.

- Pongajow, N. T., Juliandri, J., & Hastiawan, I. (2017). Penentuan Geometri Dan Karakteristik Ikatan Senyawa Kompleks Ni(II)-Dibutilditiokarbamat Dengan Metode Density Functional Theory. *Indonesian Journal of Applied Sciences*, 7(2), 33–36. <https://doi.org/10.24198/ijas.v7i2.2601>
- Protein Data Bank. (2019). RCSB PDB : Homepage. In *Rcsb Pdb*
- Ruswanto, R., Ratnasari, A., & Tuslinah, L. (2015). SINTESIS SENYAWA N'-(3,5-DINITROBENZOYL)-ISONICOTINOHYDRAZIDE DAN STUDI INTERAKSINYA PADA Mycobacterium tuberculosis ENOYL ACYL CARRIER PROTEIN REDUCTASE (INHA). *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-Ilmu Keperawatan, Analisis Kesehatan Dan Farmasi*, 14(1), 63. <https://doi.org/10.36465/jkbth.v14i1.112>
- Ruvinsky, A. M., & Kozintsev, A. V. (2006). *Novel statistical-thermodynamic methods to predict protein-ligand binding positions using probability distribution functions. Proteins: Structure, Function and Genetics*. 208(November 2005), 202–208. <https://doi.org/10.1002/prot.20673>
- Sholl, D. S., & Steckel, J. A. (2009). *Density Functional Theory: A Practical Introduction*.
- Shu, M., Lin, Z., Zhang, Y., Wu, Y., Mei, H., & Jiang, Y. (2011). Molecular dynamics simulation of oseltamivir resistance in neuraminidase of avian influenza H5N1 virus. *Journal of Molecular Modeling*, 17(3), 587–592. <https://doi.org/10.1007/s00894-010-0757-x>
- Sneha, P., & Priya Doss, C. G. (2015). Molecular Dynamics: New Frontier in Personalized Medicine. In *Personalized medicine* (1st ed.). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/bs.apcsb.2015.09.004>
- Suhasini, M., Sailatha, E., Gunasekaran, S., & Ramkumaar, G. R. (2015). Vibrational and electronic investigations, thermodynamic parameters, HOMO and LUMO analysis on Lornoxicam by density functional theory. *Journal of Molecular Structure*. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2015.07.003>
- Surabhi, S., & Singh, B. (2018). *COMPUTER AIDED DRUG DESIGN : AN OVERVIEW*. 8(5), 504–509. <https://doi.org/10.22270/jddt.v8i5.1894>
- Susetyarini, R. E., Latifa, R., Wahyono, P., & Nurrohman, E. (2020). *ATLAS MORFOLOGI DAN ANATOMI PEGAGAN (Centella asiatica (L.) Urban)*.
- Sutardi, S. (2016). *KANDUNGAN BAHAN AKTIF TANAMAN PEGAGAN DAN KHASIATNYA*

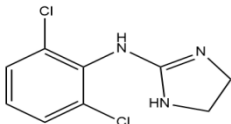
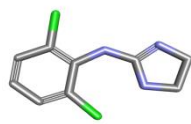
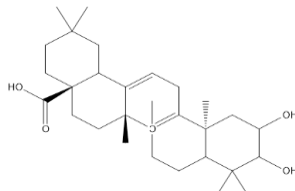
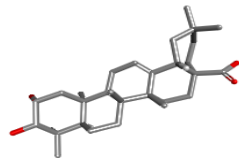
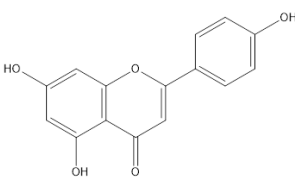
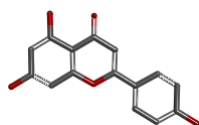
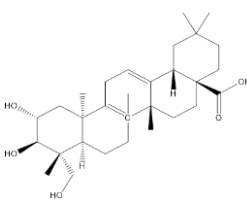
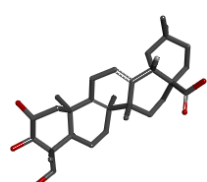
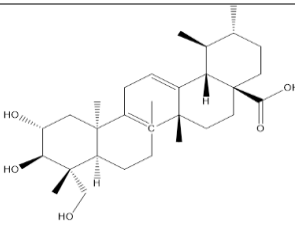
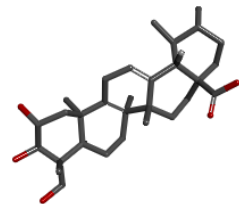
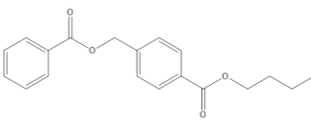
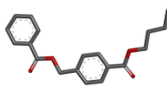
*UNTUK MENINGKATKAN SISTEM IMUN TUBUH Bioactive Compounds in Pegagan Plant and Its Use for Increasing Immune System.*  
<https://doi.org/10.21082/jp3.v35n3.2016.p121-130>

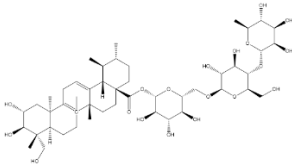
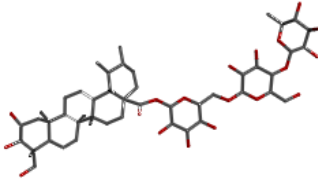
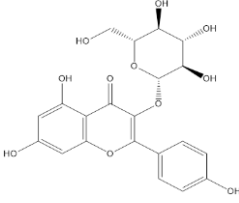
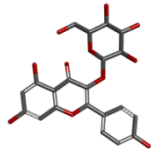
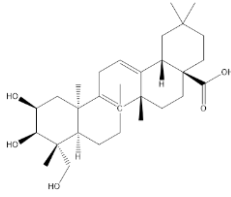
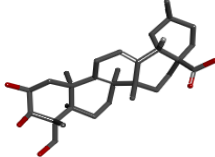
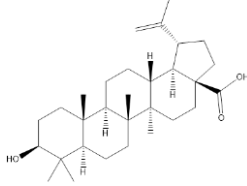
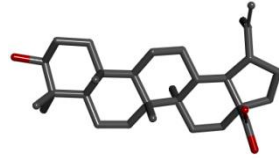
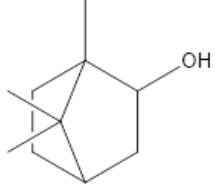
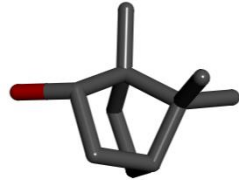
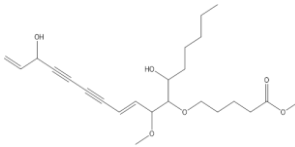
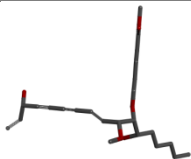
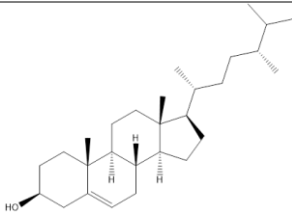
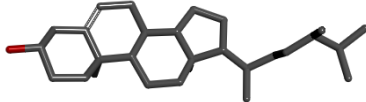
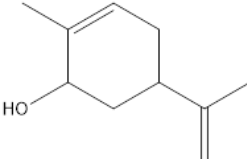
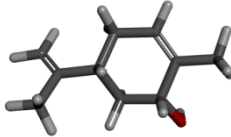
- Syahputra, G., Ambarsari, L., & Sumaryada, T. (2014). *SIMULASI DOCKING KURKUMIN ENOL , BISDEMETOKSIKURKUMIN DAN ANALOGNYA SEBAGAI INHIBITOR ENZIM12-LIPOKSIGENASE*. 10(1), 55–67.
- Tahir, I., Mada, U. G., Pranowo, H. D., Mada, U. G., Wijaya, K., & Mada, U. G. (2005). Analisis Sifat Fotosintesis Senyawa Antibakteri Turunan Fluorokuinolon Berdasarkan Data Transisi Elektronik Dan Selisih Energi Orbital HOMO-LUMO. *Conference on Pharmaceutical and Biomedical Analysis School of Pharmacy*.
- Tomberg, A. (2009). *Gaussian 09W tutorial: An introduction to computational chemistry using G09W and Avogadro software*. In *Gaussian 09 (Revision D.2)*.
- Wang, X., Cai, X., Wang, W. U., Jin, Y. I., Chen, M., Huang, X., Zhu, X., & Wang, L. (2018). *Effect of asiaticoside on endothelial cells in hypoxia - induced pulmonary hypertension*. 2893–2900. <https://doi.org/10.3892/mmr.2017.8254>
- Xie, H., Li, Y., Yu, F., Xie, X., Qiu, K., & Fu, J. (2015). An investigation of molecular docking and molecular dynamic simulation on imidazopyridines as B-raf kinase inhibitors. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(11), 27350–27361. <https://doi.org/10.3390/ijms161126026>
- Ylilauri, M., & Pentikäinen, O. T. (2013). *Article MMGBSA as a tool to understand the binding affinities of filamin-peptide interactions*. <https://doi.org/10.1021/ci4002475>
- Zhou, H., Chen, J., Meagher, J. L., Yang, C. Y., Aguilar, A., Liu, L., Bai, L., Cong, X., Cai, Q., Fang, X., Stuckey, J. A., & Wang, S. (2012). Design of Bcl-2 and Bcl-xL inhibitors with subnanomolar binding affinities based upon a new scaffold. *Journal of Medicinal Chemistry*, 55(10), 4664–4682. <https://doi.org/10.1021/jm300178u>

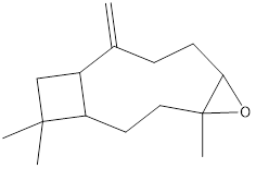
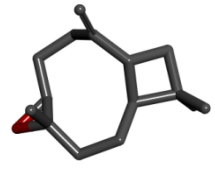
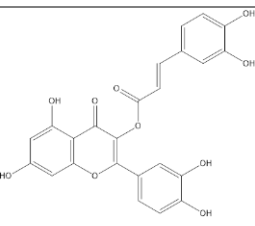
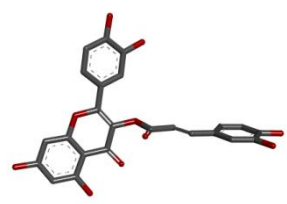
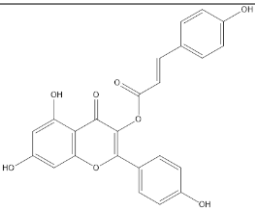
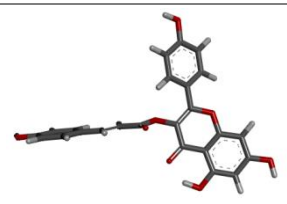
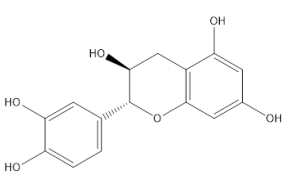
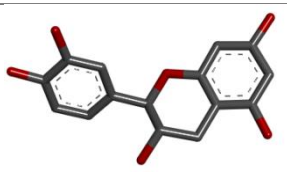
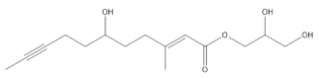
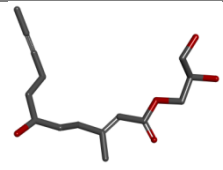
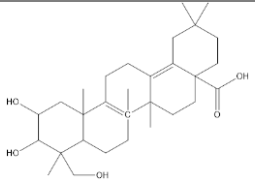
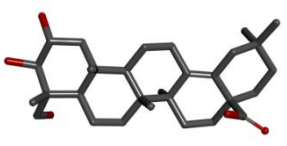
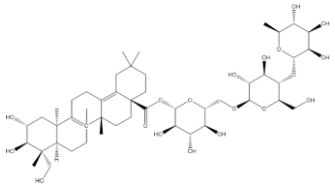
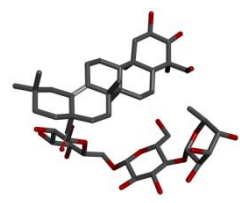
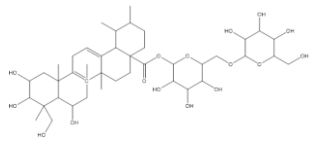



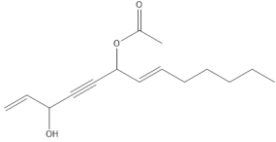
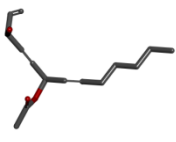
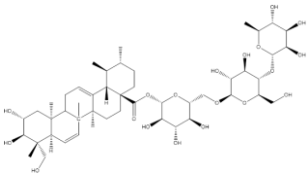
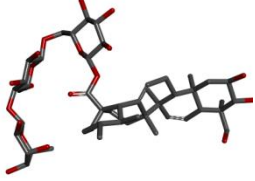
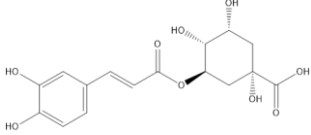
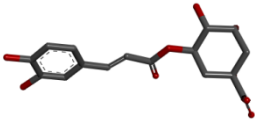
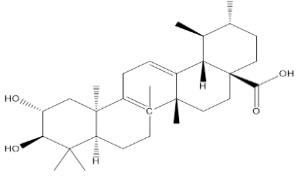
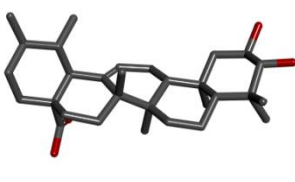
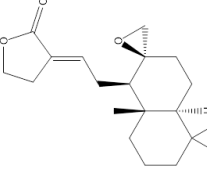
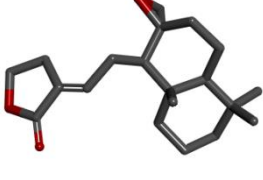
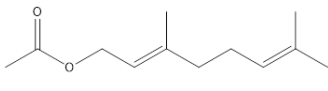
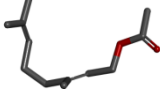
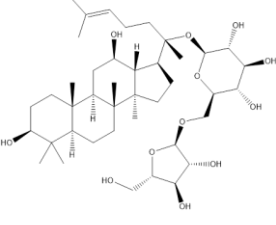
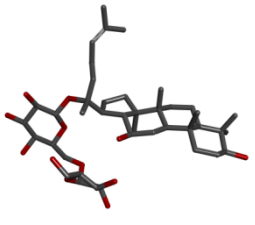
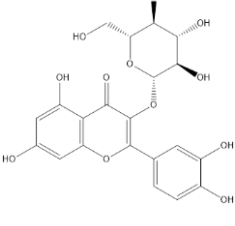
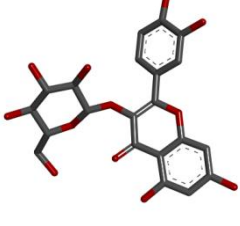
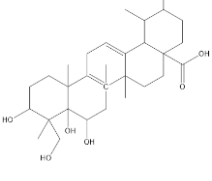
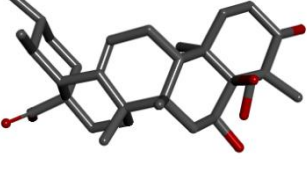
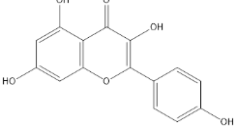
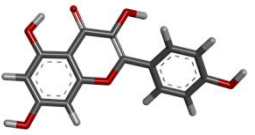
## LAMPIRAN

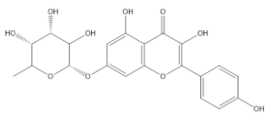
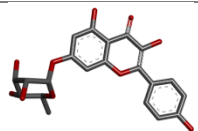
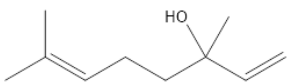
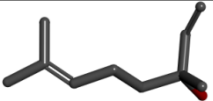
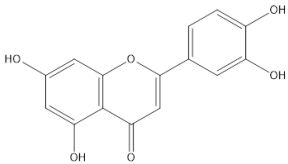
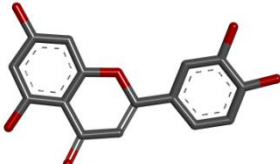
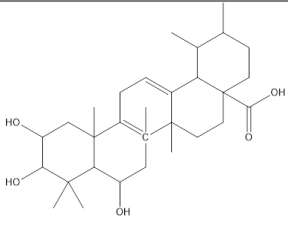
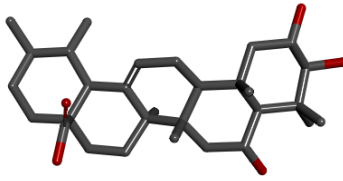
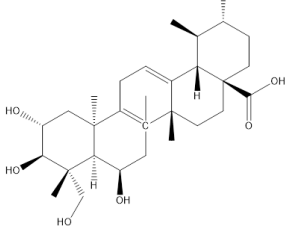
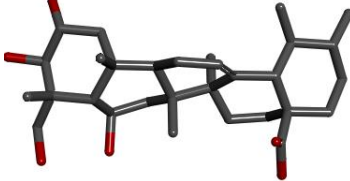
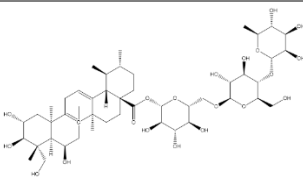
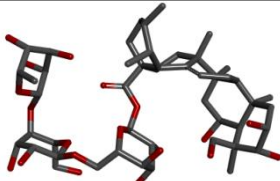
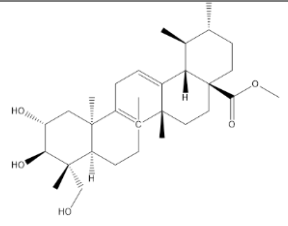
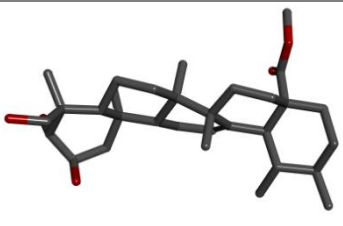
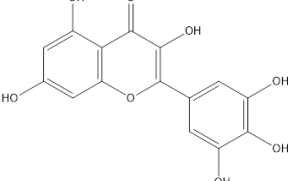
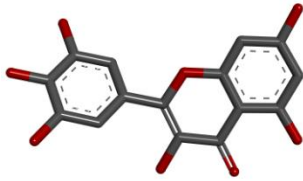
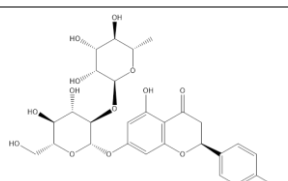
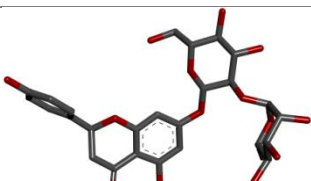
### Lampiran 1 Daftar Senyawa Uji Yang Digunakan

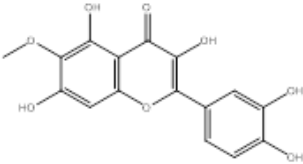
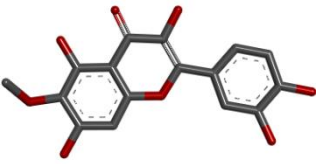
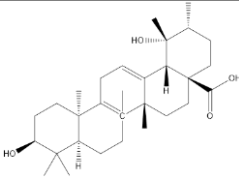
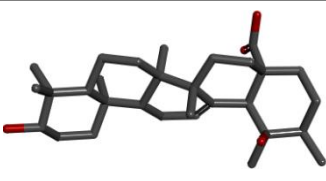
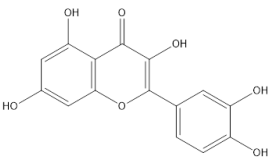
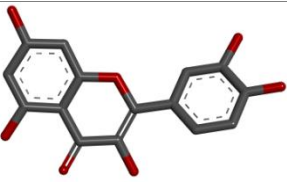
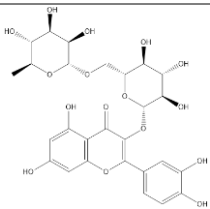
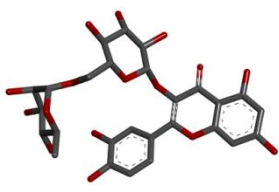
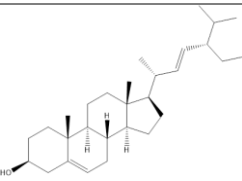
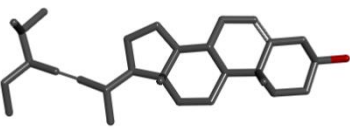
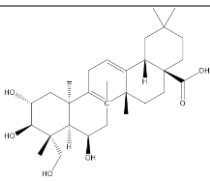
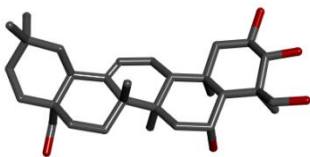
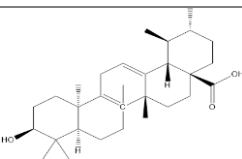
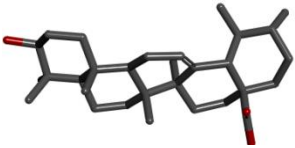
Kode Ligan	Rumus Kimia	Struktur 2D	Struktur 3D
P	$C_9H_9Cl_2N_3$		
SP1	$C_{30}H_{48}O_4$		
SP2	$C_{15}H_{10}O_5$		
SP3	$C_{30}H_{48}O_5$		
SP4	$C_{30}H_{48}O_5$		
SP5	$C_{30}H_{48}O_5$		

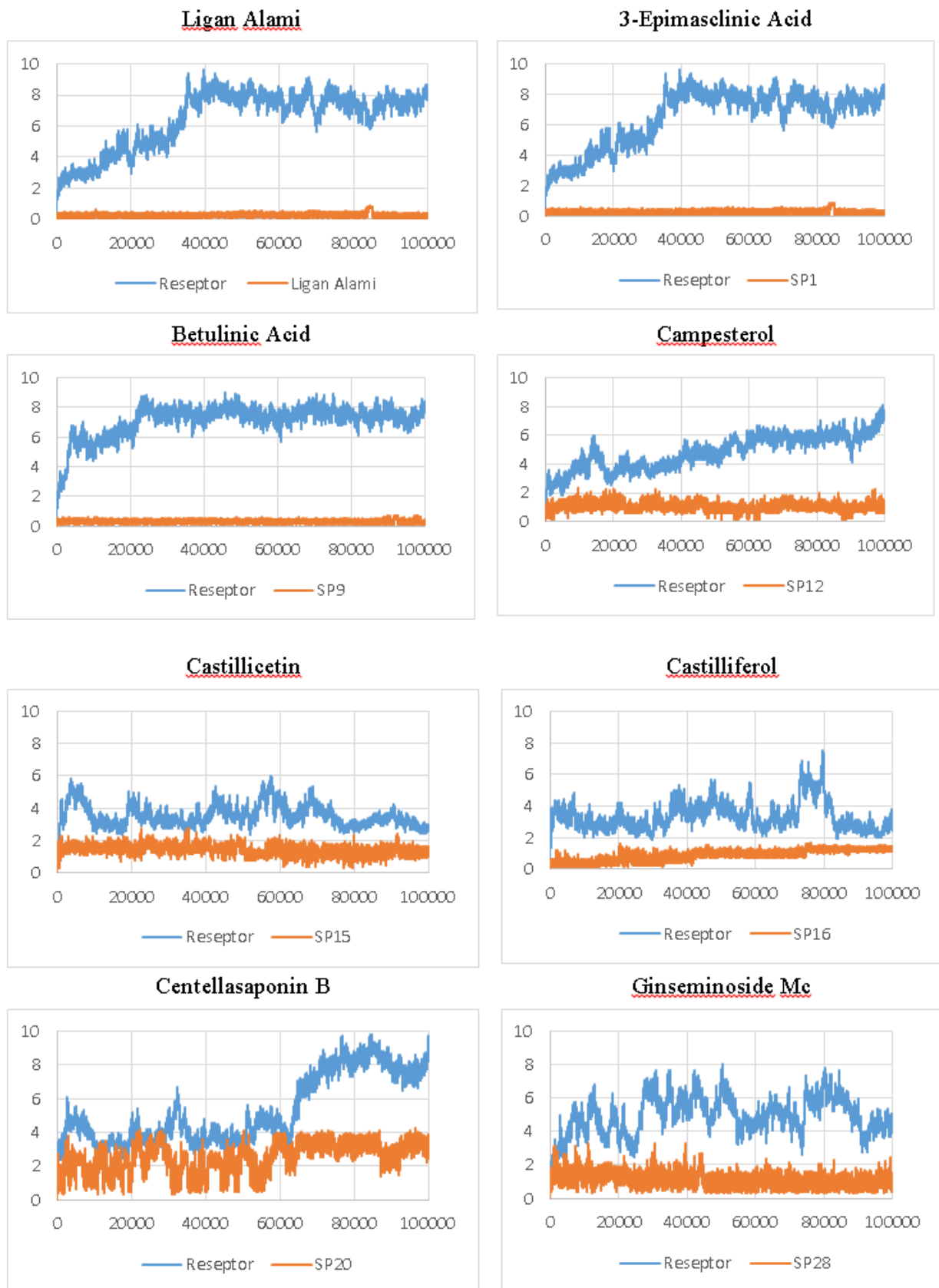
SP6	$C_{48}H_{78}O_{19}$		
SP7	$C_{21}H_{20}O_{11}$		
SP8	$C_{30}H_{48}O_5$		
SP9	$C_{30}H_{48}O_3$		
SP10	$C_{10}H_{18}O$		
SP11	$C_{24}H_{36}O_6$		
SP12	$C_{28}H_{48}O$		
SP13	$C_{10}H_{16}O$		

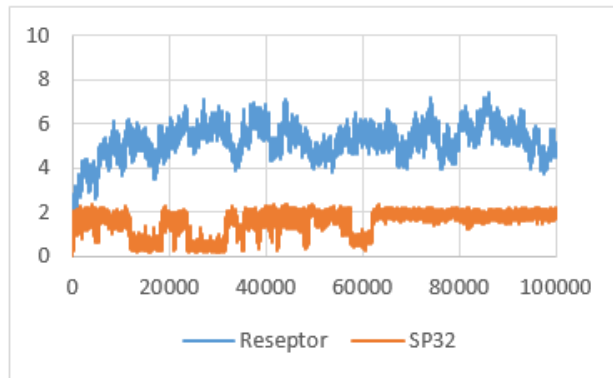
SP14	$C_{15}H_{24}O$		
SP15	$C_{24}H_{16}O_{10}$		
SP16	$C_{24}H_{16}O_8$		
SP17	$C_{15}H_{14}O_6$		
SP18	$C_{30}H_{48}O_5$		
SP19	$C_{30}H_{48}O_5$		
SP20	$C_{48}H_{78}O_{19}$		
SP21	$C_{42}H_{68}O_{16}$		

SP22	$C_{15}H_{22}O_3$		
SP23	$C_{48}H_{76}O_{19}$		
SP24	$C_{16}H_{18}O_9$		
SP25	$C_{30}H_{48}O_4$		
SP26	$C_{20}H_{30}O_3$		
SP27	$C_{12}H_{20}O_2$		
SP28	$C_{41}H_{70}O_{12}$		
SP29	$C_{21}H_{20}O_{12}$		
SP30	$C_{30}H_{48}O_6$		
SP31	$C_{15}H_{10}O_6$		

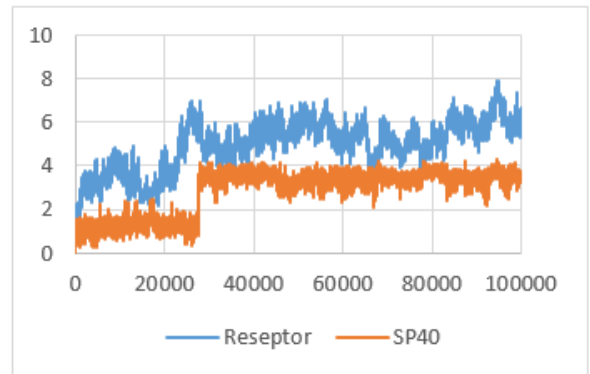
SP32	$C_{21}H_{20}O_{10}$		
SP33	$C_{10}H_{18}O$		
SP34	$C_{15}H_{10}O_6$		
SP35	$C_{30}H_{48}O_5$		
SP36	$C_{30}H_{48}O_6$		
SP37	$C_{48}H_{78}O_{20}$		
SP38	$C_{31}H_{50}O_5$		
SP39	$C_{15}H_{10}O_8$		
SP40	$C_{27}H_{32}O_{14}$		

SP41	$C_{16}H_{12}O_8$		
SP42	$C_{30}H_{48}O_4$		
SP43	$C_{15}H_{10}O_7$		
SP44	$C_{27}H_{30}O_{16}$		
SP45	$C_{29}H_{48}O$		
SP46	$C_{30}H_{48}O_6$		
SP47	$C_{30}H_{48}O_3$		

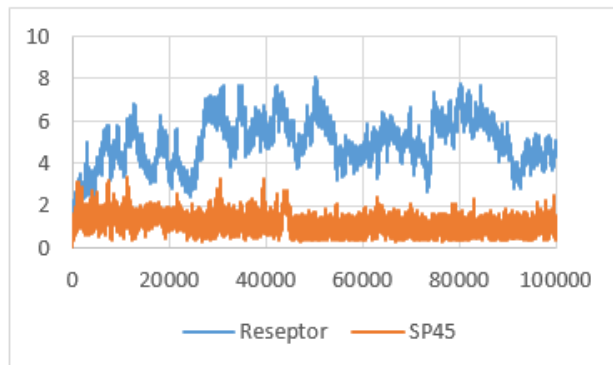
**Lampiran 2. Grafik RMSD Hasil Simulasi Dinamika Molekul**

Kaempferol 7-rhamnoside

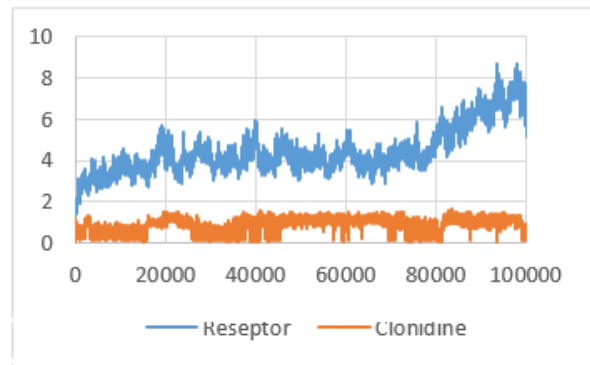
## Naringin



## Sigmasterol



## Clonidine





**Lampiran 3 Surat Pernyataan Bebas Plagiasi****SURAT PERNYATAAN**

Yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Nursafitri Diah Lestari

NPN : 11181091

Adalah mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Bhakti Kencana Bandung, menyatakan dengan sesungguhnya bahwa Naskah Skripsi yang saya tulis dengan judul:

**DOCKING DAN DINAMIKA MOLEKUL SENYAWA AKTIF DARI  
TANAMAN HERBA PEGAGAN (*Centella asiatica* (L)) TERHADAP ALPHA-2  
ADRENERGIC SEBAGAI ANTIHIPERTENSI**

*Adalah benar-benar merupakan hasil karya Saya sendiri. Apabila dikemudian hari diketahui bahwa isi Naskah Skripsi ini merupakan hasil plagiasi, maka Saya bersedia menerima sanksi berupa pembatalan kelulusan dan/atau pencabutan gelar yang Saya peroleh.*

Demikian surat ini Saya buat untuk dipergunakan sebagaimana semestinya.

Bandung, 31 Agustus 2022

Yang membuat pernyataan,

The image shows a rectangular official stamp of Universitas Bhakti Kencana on the left and a circular 'METERAI' (stamp duty) stamp on the right. The meterai stamp features the Garuda Pancasila emblem and the text 'METERAI', 'TAMPEK', and 'C07AJX965004'. A handwritten signature in black ink is written over the meterai stamp.

(Nursafitri Diah Lestari)

11181091

**Lampiran 4 Surat Persetujuan Untuk Dipublikasikan Di Media Online****SURAT PERNYATAAN**

Yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Nursafitri Diah Lestari

NPM : 11181091

Menyatakan bahwa, demi kepentingan perkembangan ilmu pengetahuan, Saya menyetujui abstrak Skripsi yang saya tulis dengan judul:

***DOCKING DAN DINAMIKA MOLEKUL SENYAWA AKTIF DARI  
TANAMAN HERBA PEGAGAN (*Centella asiatica* (L)) TERHADAP ALPHA-2  
ADRENERGIC SEBAGAI ANTIHIPERTENSI***

Untuk dipublikasikan atau ditampilkan di internet atau media lain yaitu *Digital Library* Perpustakaan Universitas Bhakti Kencana, untuk kepentingan akademik, sebagtas sesuai dengan Undang-Undang Hak Cipta.

Demikian surat pernyataan ini Saya buat untuk dapat dipergunakan sebagaimana semestinya.

Bandung, 31 Agustus 2022

Yang membuat pernyataan,

The image shows an official stamp of Universitas Bhakti Kencana, which includes the university's logo and name. Overlaid on the stamp is a handwritten signature in black ink.

(Nursafitri Diah Lestari)

11181091