



UNIVERSITAS INDONESIA

**PENAMBATAN MOLEKULER BEBERAPA SENYAWA
XANTON DARI TANAMAN *Garcinia mangostana* Linn. PADA
ENZIM PLASMEPSIN DAN REDUKTASE PROTEIN
PEMBAWA ENOIL ASIL *Plasmodium falciparum***

SKRIPSI

**MOCHAMAD REZZA ZUCHRIAN
0606070850**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
DEPARTEMEN FARMASI
DEPOK
JULI 2010**



UNIVERSITAS INDONESIA

**PENAMBATAN MOLEKULER BEBERAPA SENYAWA
XANTON dari TANAMAN *Garcinia mangostana* Linn. pada
ENZIM PLASMEPSIN dan REDUKTASE PROTEIN
PEMBAWA ENOIL ASIL *Plasmodium falciparum***

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Farmasi**

**MOCHAMAD REZZA ZUCHRIAN
0606070850**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
DEPARTEMEN FARMASI
DEPOK
JULI 2010**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Mochamad Rezza Zuchrian

NPM : 0606070850

Tanda Tangan : 

Tanggal : 14 Juli 2010

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Mochamad Rezza Zuchrian
NPM : 0606070850
Program Studi : S1 Farmasi
Judul Skripsi : Penambatan Molekuler Beberapa Senyawa Xanton dari Tanaman *Garcinia mangostana* Linn. pada enzim plasmepsin dan reduktase protein pembawa enoil asil *Plasmodium falciparum*

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan telah diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Departemen Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I	: Dr. Arry Yanuar, M.Si.	(.....)
Pembimbing II	: Dr. Berna Elya, Apt., M.Si.	(.....)
Penguji I	: Dr. Harmita, Apt.	(.....)
Penguji II	: Prof. Dr. Heru Suhartanto, M.Sc. Ph.	(.....)
Penguji III	: Dr. Silvia Surini, M.Pharm.Sc.	(.....)

Ditetapkan di : Depok
Tanggal : 14 Juli 2010

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT karena atas berkat, rahmat serta karunia dan perlindungan-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Shalawat serta salam tak lupa dihaturkan ke hadirat Rasulullah Muhammad SAW.

Skripsi ini dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Departemen Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia. Penulis menyadari bahwa, tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, sangatlah sulit bagi penulis untuk menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

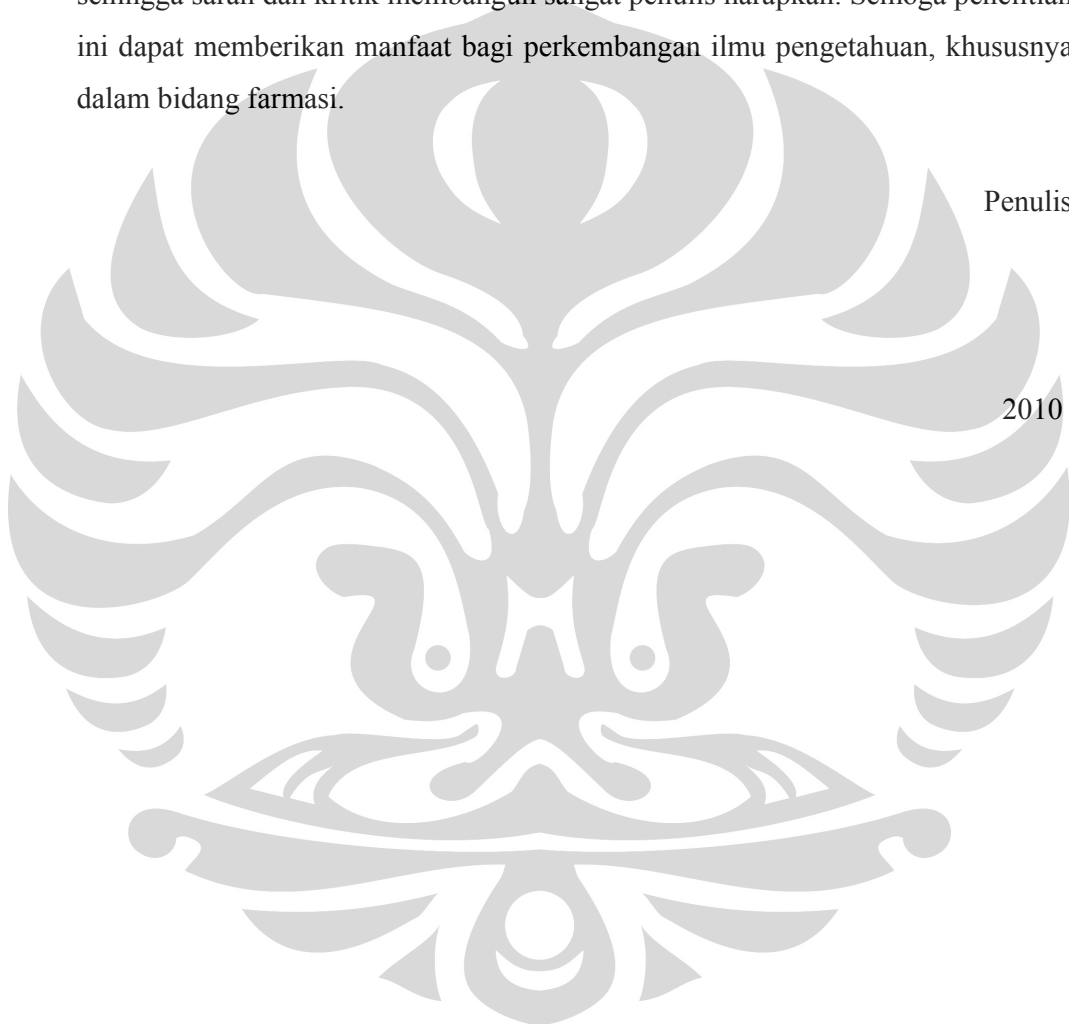
1. Bapak Dr. Arry Yanuar, Apt., MSi., selaku Pembimbing I yang telah memberikan bimbingan, saran, bantuan, dukungan, dan solusi terhadap permasalahan yang dihadapi selama penelitian dan penyusunan skripsi.
2. Ibu Dr. Berna Elya, Apt., MSi., selaku Pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, saran, bantuan, dan dukungan selama penelitian dan penyusunan skripsi.
3. Ibu Dr. Yahdiana Harahap, MS., Apt., selaku Ketua Departemen Farmasi, FMIPA, UI, yang telah memberikan kesempatan untuk melakukan penelitian dan penyusunan skripsi ini.
4. Bapak Dr. Hasan Rachmat Marsono, MS. dan Ibu Dr. Katrin, MS., selaku Pembimbing Akademik yang telah membimbing penulis dari awal perkuliahan sampai awal penelitian ini..
5. Seluruh staf pengajar serta karyawan Departemen Farmasi, FMIPA, UI, atas bantuannya selama penulis menimba ilmu.
6. Mama dan papa, abang, dan adikku yang selalu memberikan dukungan, doa, semangat, saran, dan bantuan untuk penulis.
7. Keluarga besar penulis di Lampung terima kasih selalu memberikan dukungan selama penulis mengerjakan penelitian ini.

8. Sahabat-sahabat dan teman-teman satu perjuangan selama penelitian, serta seluruh teman angkatan 2006 Farmasi UI yang telah memberikan bantuan serta semangat dalam melaksanakan penelitian.
9. Seluruh pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu, yang telah membantu dalam proses penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari masih adanya kekurangan yang terdapat dalam skripsi ini, sehingga saran dan kritik membangun sangat penulis harapkan. Semoga penelitian ini dapat memberikan manfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan, khususnya dalam bidang farmasi.

Penulis

2010



**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Mochamad Rezza Zuchrian
NPM : 0606070850
Program Studi : S1 Farmasi
Departemen : Farmasi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis karya : Skripsi

demikian demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul :

Penambatan Molekuler Beberapa Senyawa Xanton dari Tanaman *Garcinia mangostana* Linn. pada Enzim Plasmeptsin dan Reduktase Protein Pembawa Enoil Asil *Plasmodium falciparum*

berserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

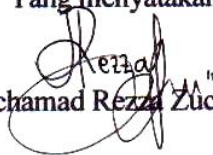
Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok

Pada tanggal : 14 Juli 2010

Yang menyatakan

(Mochamad Rezza Zuchrian)



ABSTRAK

Nama : Mochamad Rezza Zuchrian
Program Studi : Farmasi
Judul : Penambatan Molekuler Beberapa Senyawa Xanton dari *Garcinia mangostana* Linn. pada enzim Plasmeptsin dan Reduktase Protein Pembawa Protein Enoil Asil *Plasmodium falciparum*

Plasmeptsin adalah enzim utama di dalam siklus hidup parasit malaria. Plasmeptsin bekerja dengan mendegradasi hemoglobin selama fase eritrosit didalam vakuola makanan. Reduktase protein pembawa enoil asil *Plasmodium falciparum* (PfENR) adalah enzim yang berperan penting dalam biosintesis asam lemak tipe II yang terjadi dalam *Plasmodium falciparum*. Struktur kedua enzim ini telah berhasil dikristalkan dan menunjukkan bahwa struktur kedua enzim ini memiliki situs aktif sehingga memberikan kemungkinan interaksi dengan suatu senyawa. Xanton, senyawa polifenolik aktif dari *Garcinia mangostana* Linn. dan analog xanton yang diisolasi menunjukkan adanya aktivitas inhibisi pada *Plasmodium falciparum* secara *in vitro*. Pada penelitian ini, teknik penambatan molekuler digunakan untuk memperoleh aktivitas inhibisi kedua enzim. Hasil penambatan molekuler senyawa xanton pada enzim plasmeptsin menunjukkan bahwa lebih dari satu ikatan hidrogen terlibat dalam proses inhibisinya. Pada enzim PfENR, hasil penambatan molekuler menunjukkan bahwa interaksi hidrofobik dan sedikitnya satu ikatan hidrogen terlibat dalam proses inhibisinya.

Kata Kunci: Analog Xanton, Inhibisi, Penambatan Molekuler, Plasmeptsin, Reduktase Protein Pembawa Enoil Asil *Plasmodium falciparum* (PfENR).

xiv + 90 halaman.; 19 gambar.; 12 tabel.; 8 lampiran.

Bibliografi : 38 (1998-2010)

ABSTRACT

Name : Mochamad Rezza Zuchrian
Study Program : Pharmacy
Title :Molecular Docking of Several Xanthone Compound from *Garcinia mangostana* Linn. to Plasmepsin enzyme and *Plasmodium falciparum* Enoyl Acyl Carrier Protein Reductase

Plasmepsin is a prime enzyme in malarial parasite life cycle. Plasmepsins are worked in the hemoglobin degradation inside the food vacuole during the erythrocytic phase. *Plasmodium falciparum* enoyl acyl carrier protein reductase (PfENR) is a main enzyme for fatty acid biosynthesis type II in *Plasmodium falciparum*. The structures of this enzyme are available through crystallography and shows that these structure have an active site which allows many of probabilities of ligand interaction. Xanthone, a compound of active polyphenolic from *Garcinia mangostana* Linn. and xanthone compounds which isolated from *Garcinia mangostana* Linn. shows an inhibition activity to *Plasmodium falciparum* through in vitro method. In this research, molecular docking method are used to study about inhibition activity of the enzyme. Molecular docking result xanthone analogues to plasmepsin shows that more than one hydrogen bond are involved in the inhibition process. For PfENR, molecular docking results shows that hydrofobic interaction at least one hydrogen bond are involved in the inhibition process.

Keywords : Inhibition, Molecular Docking, Plasmepsin, *Plasmodium falciparum* Enoyl Acyl Carrier Protein Reductase (PfENR), Xanthone Analogues.

xiv + 90 pages.; 19 figure.; 12 table.; 8 appendices.

Bibliography : 38 (1998-2010)

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN Sampul	i
HALAMAN Judul	ii
HALAMAN Pernyataan Orisinalitas	iii
HALAMAN Pengesahan	iv
Kata Pengantar	v
Lembar Persetujuan Publikasi Karya Ilmiah	vii
Abstrak	viii
Abstract	ix
Daftar Isi	x
Daftar Gambar	xii
Daftar Tabel	xiii
Daftar Lampiran	xiv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 <i>Garcinia mangostana</i> Linn	4
2.2 Xanton	4
2.3 Ekstraksi dan Isolasi Xanton	6
2.4 Protein	6
2.5 Ikatan-ikatan pada Protein	8
2.6 Enzim	9
2.7 Reseptor	11
2.8 Malaria	12
2.9 Plasmepsin	14
2.10 Reduktase Protein Pembawa Enoil Asil <i>Plasmodium falciparum</i>	16
2.11 Penambatan Molekuler	17
2.12 Minimisasi Energi	18
2.12.1 <i>Steepest Descent</i>	18
2.12.2 <i>Conjugate Gradient</i>	19
2.13 Bank Data Protein (<i>Protein Data Bank</i>)	19
2.14 Perangkat Lunak	19
2.14.1 PyMOL	19
2.14.2 AutoDock	20
2.14.3 AutoDock Vina	21
2.14.4 GOLD	21
2.14.5 UCSF CHIMERA	21
2.14.6 VegaZZ	22
2.14.7 <i>Molecular Operating Environment</i>	22
2.14.8 <i>Collaborative Computational Project Number 4</i>	22
2.14.9 Cygwin	23

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN.....	24
3.1 Alat dan Bahan	24
3.1.1. Alat.....	24
3.1.2. Bahan.....	24
3.1.2.1. Struktur Tiga Dimensi dari Senyawa Xanton	24
3.1.2.2. Struktur Tiga Dimensi Kontrol Positif.....	26
3.1.2.3. Bank Data Protein dari Enzim Plasmepsin	27
3.1.2.4. Bank Data Protein dari Reduktase Protein Pembawa Enoil <i>Asil Plasmodium falciparum</i>	27
3.2 Cara Kerja.....	27
3.2.1. Pencarian Struktur Tiga Dimensi dan Optimasi Senyawa Xanton	27
3.2.2. Pengunduhan Makromolekul Target Penambatan	28
3.2.3. Pemisahan Rantai Makromolekul sebagai Target Penambatan	28
3.2.4. Superposisi Rantai.....	28
3.2.5. Optimasi Makromolekul sebagai Target Penambatan	28
3.2.6. Penambatan Molekul.....	29
3.2.6.1. AutoDock Tools	29
3.2.6.2. AutoDock Vina	30
3.2.6.3. GOLD.....	31
3.2.7. Analisis Penilaian Hasil Penambatan.....	31
 BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	 32
4.1 Pembuatan Struktur Tiga Dimensi dan Optimasi Senyawa Xanton	32
4.2 Pengunduhan Makromolekul Target Penambatan	33
4.3 Pemisahan Rantai Makromolekul sebagai Target Penambatan	33
4.4 Superposisi Rantai	34
4.5 Optimasi Makromolekul sebagai Target Penambatan	35
4.6 Penambatan Molekul	35
4.7 Analisis Penilaian Hasil Penambatan	38
 BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	 46
5.1 Kesimpulan	46
5.2 Saran	46
 DAFTAR ACUAN.....	 47

DAFTAR GAMBAR

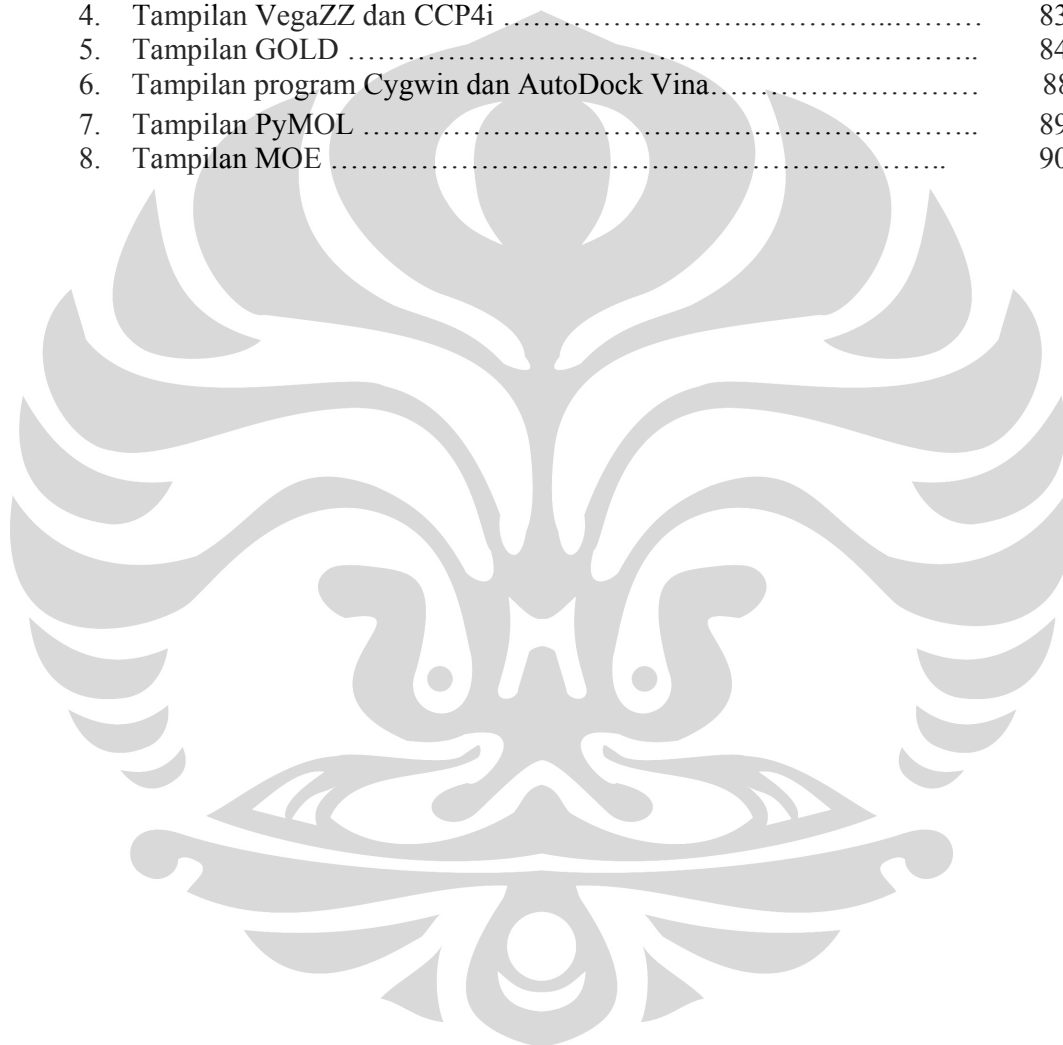
Gambar	Halaman
2.1. Analog Senyawa Mangostin dari <i>Garcinia mangostana</i> Linn.	5
2.2. Mekanisme Degradasi Hemoglobin Oleh Plasmeptin.....	14
2.3. Mekanisme Katalitik oleh Plasmeptin pada Hidrolisis Hemoglobin	15
2.4. Reaksi yang Dikatalisasi oleh Reduktase Protein Pembawa Enoil Asil <i>Plasmodium falciparum</i>	16
2.5. 20 Jenis Asam Amino Penyusun Protein.....	51
3.1. Struktur Tiga Dimensi Senyawa α -mangostin, β -mangostin, dan γ - mangostin.....	25
3.2. Struktur Tiga Dimensi Halofantrin dan Triklosan.....	26
4.1. Struktur Tiga Dimensi α -mangostin, β -mangostin, dan γ -mangostin Sebelum dan Sesudah Dioptimasi.....	52
4.2. Makromolekul 1LEE Sebelum dan Sesudah Dioptimasi	53
4.3. Makromolekul 1NHG <i>Chain A</i> Sebelum dan Sesudah Dioptimasi	54
4.4. Hasil Penambatan Molekuler AD4 pada Target 1LEE dengan Ligan α - mangostin, β -mangostin, dan γ -mangostin	55
4.5. Hasil Penambatan Molekuler AD4 pada Target 1NHG dengan Ligan α - mangostin, β -mangostin, dan γ -mangostin	56
4.6. Hasil Penambatan Molekuler AutoDock Vina pada Target 1LEE dengan Ligan α -mangostin, β -mangostin, dan γ -mangostin	57
4.7. Hasil Penambatan Molekuler AutoDock Vina pada Target 1NHG dengan Ligan α -mangostin, β -mangostin, dan γ -mangostin	58
4.8. Hasil Penambatan Molekuler GOLD pada Target 1LEE dengan Ligan α -mangostin, β -mangostin, dan γ -mangostin	59
4.9. Hasil Penambatan Molekuler GOLD pada Target 1NHG dengan Ligan α -mangostin, β -mangostin, dan γ -mangostin	60
4.10. Hasil Penambatan Molekuler GOLD Kontrol Positif dengan Ligan Halofantrin dan Triklosan	61
4.11. Hasil Penambatan Molekuler AutoDock Vina Kontrol Positif dengan Ligan Halofantrin dan Triklosan	62
4.12. Hasil Penambatan Molekuler GOLD Kontrol Positif dengan Ligan Halofantrin dan Triklosan	63

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1. Target-target antimalaria	13
4.1. Daftar Struktur Plasmeptin yang tersedia di PDB	64
4.2. Daftar Struktur PfENR yang tersedia di PDB	64
4.3. Data ΔG dan K_i Hasil Penambatan pada Enzim Plasmeptin Program AD4.....	65
4.4. Data ΔG Hasil Penambatan pada Enzim Plasmeptin Program Vina	66
4.5. Data GOLDScore Hasil Penambatan pada enzim Plasmeptin program GOLD	67
4.6. Data ΔG dan K_i Hasil Penambatan pada PfENR Program AD4.....	68
4.7. Data ΔG Hasil Penambatan pada PfENR Program Vina.....	69
4.8. Data GOLDScore Hasil Penambatan pada PfENR Program GOLD	70
4.9.Data ΔG dan K_i Hasil Penambatan Kontrol Positif pada Enzim Plasmeptin dan PfENR pada Program AD4	71
4.10.Data ΔG Hasil Penambatan Kontrol Positif pada Enzim Plasmeptin dan PfENR Program Vina	72
4.11.Data GOLDScore Hasil Penambatan Molekuler Kontrol Positif pada Program GOLD	73

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Urutan tahap kerja penelitian dan program yang digunakan	74
2. Skema cara kerja penelitian	75
3. Tampilan program AutoDock Tools	76
4. Tampilan VegaZZ dan CCP4i	83
5. Tampilan GOLD	84
6. Tampilan program Cygwin dan AutoDock Vina.....	88
7. Tampilan PyMOL	89
8. Tampilan MOE	90



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. LATAR BELAKANG

Setiap tahun, milyaran orang terjangkit malaria dan sekitar tiga juta orang meninggal karena penyakit tersebut. Malaria disebabkan oleh empat spesies utama, yaitu *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae*, dan *Plasmodium ovale*. Diantara empat spesies utama ini, tercatat lebih dari 95% kasus malaria disebabkan oleh *Plasmodium falciparum* (Suguna, Kesavulu, Ramya, Gowda, & Surolia). Meskipun beberapa obat antimalaria sangat efektif untuk mengendalikan penyakit malaria, obat antimalaria yang tersedia saat ini tidak terlalu efektif karena *Plasmodium falciparum* telah resisten terhadap obat-obat tersebut. Resistensi terhadap obat antimalaria dapat terjadi karena struktur dan aktivitas target obat pada parasit malaria cepat sekali mengalami mutasi yang spontan (*The Use Of Antimalarial Drugs*, 2010). Pencarian obat antimalaria yang bekerja spesifik pada target parasit merupakan tugas yang mendesak. Dalam sepuluh tahun terakhir, telah ditemukan target yang potensial untuk obat antimalaria (Kyle, et al., 2001). Beberapa target yang potensial adalah enzim plasmepsin dan reduktase protein pembawa enoil asil *Plasmodium falciparum* (PfENR).

Plasmepsin adalah enzim utama di dalam siklus hidup parasit malaria. Plasmepsin berada di dalam vakuola makanan dan bekerja dengan mendegradasi hemoglobin selama fase eritrosit (*Plasmepsin*, 2010). Pada fase eritrosit, parasit malaria bergantung pada hemoglobin manusia sebagai sumber makanan. Keberadaan plasmepsin sangat penting untuk degradasi hemoglobin dan logis menjadi target obat antimalaria (Kyle, et al., 2001). Reduktase protein pembawa enoil asil *Plasmodium falciparum* (PfENR) adalah enzim yang berperan penting dalam biosintesis asam lemak tipe II yang terjadi dalam *Plasmodium falciparum*. PfENR mengkatalisasi langkah akhir dari siklus elongasi pada biosintesis asam lemak. PfENR bekerja dengan mengurangi ikatan rangkap karbon pada enoil yang terikat secara kovalen pada pembawa protein asil (Surolia, Kapoor, Gopalakrishnapai, & Surolia, 2004).

Senyawa-senyawa xanton yang diisolasi dari *Garcinia mangostana* Linn. merupakan senyawa yang dinilai dapat menjadi obat antimalaria terbaru. Hal ini didasari pada penelitian yang telah dilakukan oleh beberapa peneliti. Peneliti tersebut menemukan bahwa xanton yang diisolasi dari *Garcinia mangostana* Linn. menunjukkan efek antimalaria secara *in vitro* terhadap *Plasmodium falciparum*, yaitu senyawa α -mangostin dan β -mangostin (Chaverri, et al., 2008).

Penelitian terhadap senyawa xanton dilakukan melalui suatu prediksi ikatan kandidat senyawa yang mempunyai aktivitas berdasarkan kemampuan interaksinya (konstanta inhibisi) dengan enzim yang berkaitan. Dalam penelitian ini, *virtual screening* terhadap kemampuan interaksi senyawa xanton dilakukan melalui pendekatan *in silico*. Pendekatan *in silico* memiliki keuntungan dibandingkan metode *in vivo* dan *in vitro*. Keuntungan utamanya adalah efisiensi biaya (Istyastono, 2007).

Penelitian *in silico* bukan merupakan pengganti dari penelitian dengan metode konvensional seperti metode *in vivo* dan *in vitro*, tetapi metode ini merupakan komplemen dari metode yang telah ada. Hasil analisis dari penelitian ini dapat digunakan untuk memvalidasi hasil yang telah diperoleh dari *wet lab* ataupun sebagai langkah awal untuk memeriksa suatu sistem atau permasalahan yang masih sangat sulit dilakukan dengan metode konvensional (Andry, 2009). Metode *in silico* yang digunakan untuk menganalisis interaksi senyawa xanton adalah penambatan molekuler atau *molecular docking*.

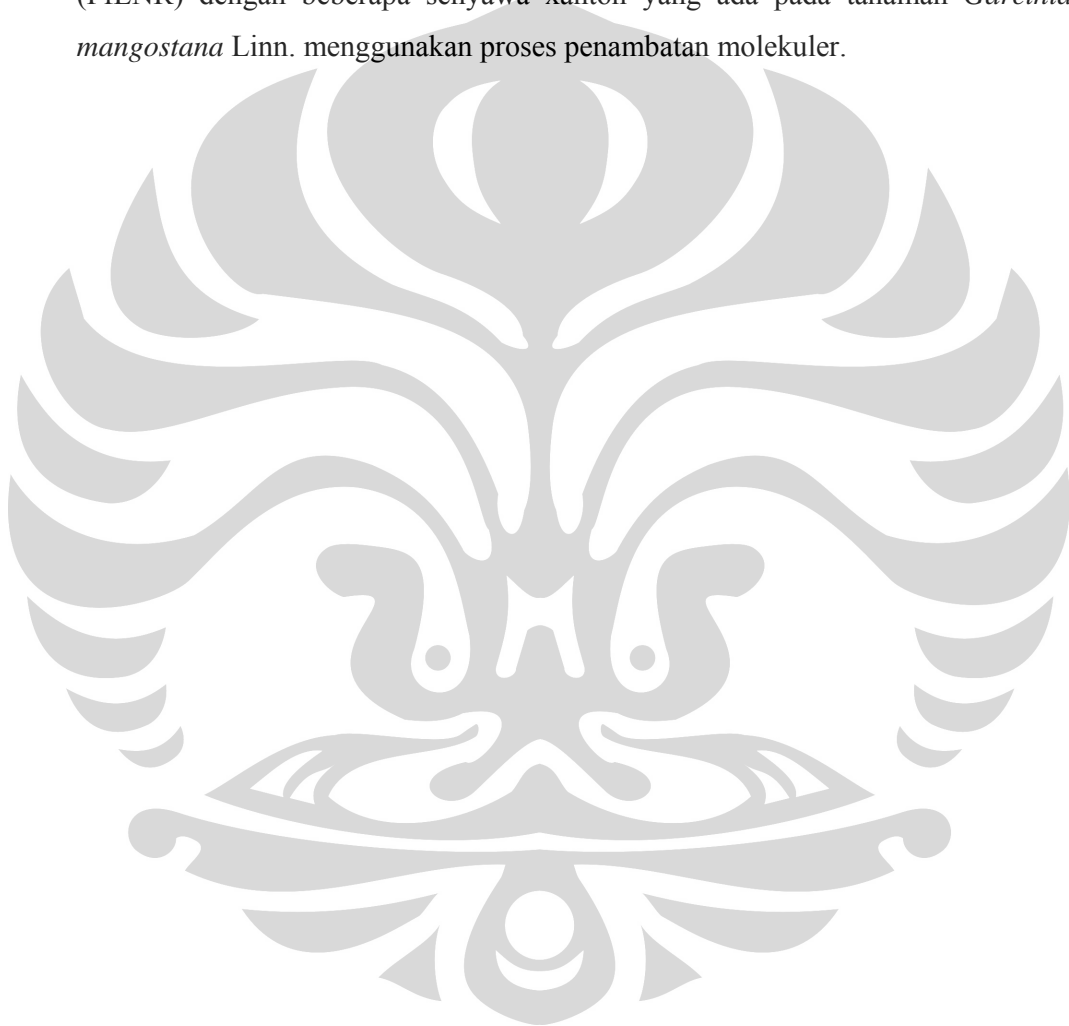
Penambatan molekuler atau *molecular docking* merupakan prosedur komputasional yang mencoba untuk memprediksi ikatan non-kovalen antara makromolekul (target) dengan molekul kecil (ligan) secara efisien. Tujuan metode ini adalah untuk memprediksi konformasi ikatan yang terjadi serta afinitas ikatan yang terbentuk. Prediksi ini penting karena digunakan sebagai *virtual screening* untuk senyawa yang memiliki potensi sehingga dapat dikembangkan menjadi obat baru (Trott & Olson, 2009).

Senyawa-senyawa xanton yang ada pada tanaman *Garcinia mangostana* Linn., yaitu α - dan β -mangostin, serta γ -mangostin akan ditambatkan pada enzim plasmepsin dan reduktase protein pembawa enoil asil *Plasmodium falciparum* dengan menggunakan tiga program penambatan, yaitu AutoDock Tools,

AutoDock Vina, dan GOLD. Diharapkan hasil penambatan ini sesuai dengan aktivitasnya sebagai obat antimalaria.

1.2. TUJUAN PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh informasi interaksi pada enzim plasmepsin dan reduktase protein pembawa enoil asil Plasmodium falciparum (PfENR) dengan beberapa senyawa xanton yang ada pada tanaman *Garcinia mangostana* Linn. menggunakan proses penambatan molekuler.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Garcinia mangostana* Linn.

Garcinia mangostana Linn. (*mangosteen*) atau buah manggis merupakan salah satu dari beberapa buah terkenal yang diberi nama *The Queen of Fruit*. Tanaman ini telah diketahui memiliki nilai sebagai obat dan dahulu digunakan sebagai pengobatan untuk diare, disentri, sakit perut, ulkus kronik, gonorea (Kosem, Nuttavut, Yoon-Hee Han, Primchanien Moongkarndi.,2007). Tanaman ini berasal dari negara yang mempunyai hutan tropis di asia tenggara seperti di Indonesia, Malaysia, Filipina dan Thailand. Diameter buahnya sekitar 2,5-7,5 cm, dengan tebal kulit berkisar antara 0,6-1,0 cm dengan kandungan pigmen ungu di dalamnya. Daging buah di dalamnya terdapat dalam delapan bagian berwarna putih (Akao, Yukihiro et al.,2008). Kandungan kimia yang terdapat dalam buah manggis diantaranya adalah xanton, antosianin, polisakarida, tanin, vitamin B1, B2, dan C (Kosem, Nuttavut, Yoon-Hee Han, Primchanien Moongkarndi.,2007).

Klasifikasi dari *Garcinia mangostana* adalah (Osman & Milan, 2006)

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Orde	: Malphigiales
Famili	: Clusiaceae
Genus	: <i>Garcinia</i>
Spesies	: <i>Garcinia mangostana</i>

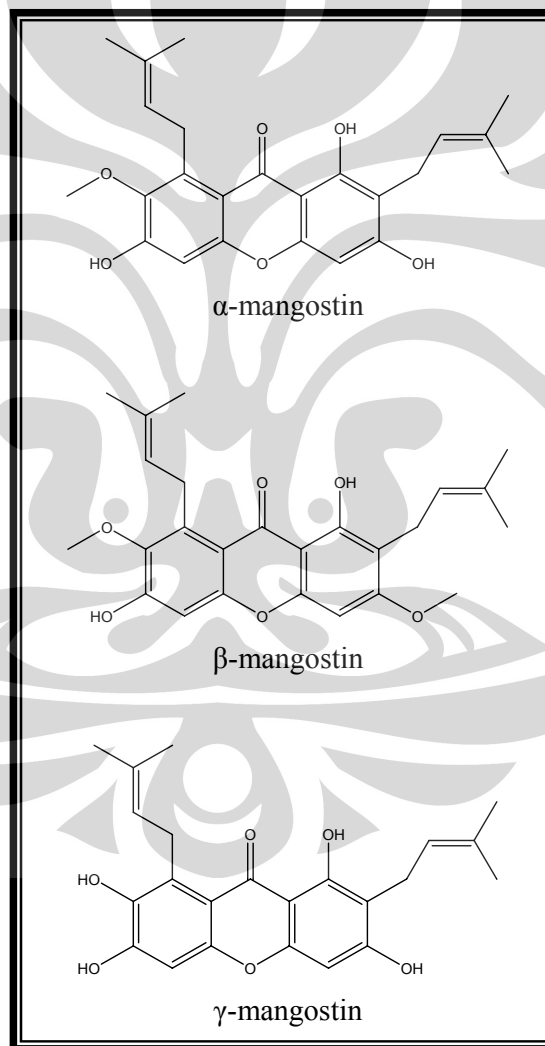
2.2. Xanton

Xanton adalah senyawa polifenolik aktif yang strukturnya mirip dengan bioflavonoid. Xanton yang terdapat di alam jumlahnya sangat terbatas. Sebagian dari xanton ditemukan pada dua kelas tanaman tinggi yaitu guttiferae dan gentianaceae.

Xanton secara biologi merupakan molekul aktif dengan enam cincin karbon terkonjugasi yang mempunyai ikatan rangkap dua. Ikatan rangkap dua ini yang

menyebabkan molekul xanton sangat stabil. Semua xanton memiliki struktur dasar yang sama. Perbedaan antar molekul xanton terletak pada rantai samping yang terikat dengan molekul karbon (*MangosteenMD : Xanthone, 2010*).

Senyawa analog xanton yang telah berhasil diidentifikasi, diisolasi dan mempunyai aktivitas sebagai antimalaria adalah α -mangostin dan β -mangostin. Menurut hasil penelitian tersebut, α - dan β -mangostin memiliki nilai konstanta inhibisi sebesar 7 dan 5,1 μ M (Chaverri, J. P. et al., 2008). Analog lain, yaitu γ -mangostin kemungkinan memiliki aktivitas yang sama karena ketiga struktur tersebut sangat mirip seperti terlihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1. Analog senyawa mangostin dari *Garcinia mangostana* Linn. (Chaverri, et al., 2008).

2.3. Ekstraksi dan Isolasi Xanton

Serbuk kering dari kulit buah *Garcinia mangostana* diekstraksi dengan menggunakan etil asetat dan metanol pada suhu 50°C di dalam *waterbath* selama 48 jam untuk masing-masing pelarut. Setelah diekstraksi, pelarut diuapkan sehingga dihasilkan ekstrak etil asetat dan ekstrak metanol. Ekstrak etil asetat diperiksa dengan kromatografi kolom dipercepat menggunakan kolom gel silika dengan gradien pelarut heksan-CH₂Cl₂, CH₂Cl₂, CH₂Cl₂-etil asetat, etil asetat, dan etil asetat-metanol (5% peningkatan pelarut polar untuk 500 ml tiap bagian) dan digabungkan menjadi sembilan fraksi utama dengan pemeriksaan TLC. Fraksi 1 dikristalisasi dengan heksan untuk menghasilkan *twaitesixanton*. Fraksi 2 dikromatografi dengan gel silika menggunakan gradien pengelusi heksan-CH₂Cl₂ (70:30) dan CH₂Cl₂ dengan peningkatan 5% pada pelarut polar agar memberikan fraksi 2a-m. Fraksi 2e difraksinasi dengan kolom gel silika (dalam heksan-CH₂Cl₂, 40:60 sampai 5:95) sehingga menghasilkan β -mangostin. Fraksi 3-5 merupakan metabolit utama, yaitu α -mangostin. Fraksi 7 dikristalisasi menggunakan CHCl₃ sehingga memberikan γ -mangostin (Suksamrarn, 2006).

2.4. Protein

Asam amino merupakan unit dasar struktur protein. Suatu asam amino terdiri dari gugus amino, gugus karboksil, atom H, dan gugus R tertentu yang terikat pada atom karbon α . Atom karbon ini disebut α karena bersebelahan dengan gugus karboksil (asam). Gugus R menyatakan rantai samping.

Susunan tetrahedral dari empat gugus yang berbeda terhadap atom karbon α menyebabkan asam amino mempunyai aktivitas optik. Dua bentuk bayangan cermin yang disebut isomer L dan isomer D. Protein hanya terdiri dari asam amino L. Umumnya, protein memiliki 20 jenis rantai samping yang bervariasi dalam ukuran dan bentuk. Struktur 20 jenis rantai samping asam amino penyusun protein terdapat pada Gambar 2.5.

Pada protein terdapat empat tingkat struktur yang berbeda, yaitu struktur primer, struktur sekunder, struktur tersier, dan struktur kuartener (Sari, 2007).

1. Struktur Primer

Struktur primer suatu protein adalah urutan asam amino yang disatukan oleh ikatan peptida yang mencakup lokasi setiap ikatan disulfida. Tidak terjadi percabangan rantai.

2. Struktur Sekunder

Daerah di dalam rantai peptida dapat membentuk struktur regular, berulang, dan lokal yang terjadi akibat adanya ikatan hidrogen antara atom-atom ikatan peptida. Daerah yang terkenal dari struktur sekunder mencakup heliks α , β *sheet*, dan *loop*.

Pada suatu heliks α , ikatan hidrogen antara masing-masing atom oksigen karbonil terbentuk pada suatu ikatan peptida dengan hidrogen yang melekat ke atom nitrogen amida pada suatu ikatan peptida empat residu asam amino di sepanjang rantai polipeptida. Jika tulang punggung polipeptida ini terpilin dengan jumlah yang sama, akan terbentuk struktur *coil* atau *heliks* (ulir) dimana masing-masing ikatan peptida dihubungkan dengan ikatan hidrogen ke ikatan residu asam amino didepannya dan empat asam amino dibelakangnya dalam urutan primer.

Berbeda dengan kumparan heliks α , β *sheet* terbentuk melalui ikatan hidrogen antara daerah linier rantai polipeptida. Ikatan hidrogen ini terjadi antara oksigen karboil dari satu ikatan peptida dan nitrogen dari ikatan peptide lainnya. Ikatan hidrogen dapat terbentuk antara dua rantai polipeptida yang terpisah atau antara dua daerah pada sebuah rantai tunggal yang melipat sendiri. Pelipatan ini sering melibatkan empat struktur asam amino yang dikenal sebagai β *turn*.

3. Struktur Tersier

Struktur tersier menggambarkan pengaturan ruang residu asam amino yang berjauhan dalam urutan linier dan pola ikatan-ikatan disulfida. Istilah struktur tersier mengacu pada hubungan spasial antar unsur struktur sekunder. Pelipatan polipeptida pada suatu domain biasanya terjadi tanpa tergantung pada pelipatan domain lainnya. Struktur tersier menjelaskan hubungan antara domain ini, cara dimana pelipatan protein dapat

menyatukan asam amino yang letaknya terpisah dalam pengertian struktur primer, dan ikatan yang menstabilkan konformasi ini.

Interaksi non-kovalen antara rantai sisi residu asam amino penting untuk menstabilkan struktur tersier dan terdiri dari interaksi hidrofobik dan elektrostatik serta ikatan hidrogen.

4. Struktur Kuartener

Struktur kuartener menggambarkan pengaturan subunit protein dalam ruang. Protein dengan dua atau lebih rantai polipeptida yang terikat oleh kekuatan non-kovalen akan memperlihatkan struktur kovalen. Dalam protein multimerik ini, masing-masing rantai polipeptida disebut protomer atau subunit. Subunit tersebut disatukan oleh jenis interaksi non-kovalen yang sama dan berperan dalam struktur tersier yaitu interaksi elektrostatik dan hidrofobik serta ikatan hidrogen. Protein yang tersusun dari dua atau empat subunit masing-masing disebut protein dimerik atau tetramerik (Sari, 2007).

2.5. Ikatan-ikatan pada Protein

a. Interaksi Elektrostatik

Pada interaksi elektrostatik, terdapat dua macam ikatan, yaitu ikatan ion dan ikatan van der Waals. Ikatan ion adalah interaksi antara 2 gugus protein yang mempunyai muatan berlawanan yang dikenal dengan pasangan ion. Ikatan ini kuat tetapi perannya sedikit dalam menstabilkan struktur suatu protein. Hal ini disebabkan oleh pasangan ion yang tersembunyi (*unsolvated*) jarang dijumpai pada protein dan pasangan ion yang terpampang ke bagian luar pada umumnya ada tetapi *poorly conserved* pada protein homolog. Jenis ikatan yang kedua adalah ikatan van der Waals. Ikatan van der Waals terjadi karena adanya interaksi elektrostatik diantara dipol-dipol. Ikatan ini bertanggung jawab terhadap berbagai interaksi antara atom-atom yang berdekatan. Interaksi antara dipol yang permanen, antara gugus karboksil, dan gugus amida dalam rangka protein merupakan ikatan penting. Ikatan van der Waals

merupakan ikatan lemah tetapi karena terjadi dalam jumlah besar maka ikatan ini mempunyai peran penting dalam menentukan stabilitas protein.

b. Ikatan Hidrogen

Ikatan hidrogen merupakan interaksi elektrostatik antara gugus donor yang bersifat asam lemah dengan atom reseptor dengan terbentuknya pasangan elektron bebas. Ikatan hidrogen ini terbentuk diantara sesama molekul dalam polipeptida (internal) ataupun antara molekul polipeptida dengan air. Ikatan hidrogen internal tersusun sedemikian rupa sehingga memungkinkan semua ikatan hidrogen terbentuk. Ikatan hidrogen merupakan ikatan utama yang menjaga kestabilan protein.

c. Interaksi Hidrofobik

Interaksi hidrofobik adalah gaya yang menyebabkan senyawa non-polar mengatur dirinya sedemikian rupa sehingga seminimal mungkin kontak dengan air maupun senyawa amfipatik, membentuk struktur seperti misel di dalam air. Karena protein membentuk semacam misel dimana sebagian besar rantai sampingnya yang bersifat non polar menjauhi kontak dengan air, maka interaksi hidrofobik merupakan gaya yang penting dalam mendukung kestabilan suatu protein (*Bioenergetik dan Metabolisme*, 2007).

2.6. Enzim

Enzim merupakan polimer biologi yang mengkatalisis reaksi kimia dalam tubuh. Pemecahan nutrisi untuk memasok energi dan unsur-unsur kimia pembangun tubuh (*building blocks*); pengumpulan *building blocks* tersebut menjadi protein, DNA, membrane, sel, dan jaringan, serta penggunaan energi untuk pergerakan sel dan kontraksi otot, semua ini dimungkinkan dengan adanya kerja enzim-enzim yang terkoordinasi secara cermat. Enzim mengkatalisasi perubahan satu atau lebih senyawa (substrat) menjadi satu atau lebih senyawa yang berbeda (produk). Enzim merupakan katalis yang sangat selektif. Enzim tersedia khusus untuk tiap reaksi yang dikatalisasi dan untuk setiap substrat atau senyawa lain yang mirip dengan substrat tersebut.

Umumnya, enzim diberi nama berdasarkan kemampuannya dalam mengkatalisasi reaksi kimia yang spesifik. Penamaan enzim umumnya diikuti dengan akhiran “-ase” berdasarkan reaksi yang dikatalisasi, contohnya dehidrogenase untuk melepaskan atom hidrogen atau protease untuk menghidrolisis protein. Dengan semakin banyaknya enzim yang ditemukan, terjadi ketidakjelasan (ambigu) dalam hal penamaan enzim. Untuk mengatasi masalah ini, *International Union of Biochemists (IUB)* telah mengembangkan sistem yang kompleks tetapi tidak ambigu pada sistem penamaan enzim (Murray, et al., 2003).

Enam kelas system penamaan enzim berdasarkan reaksi yang dikatalisasi oleh enzim tersebut adalah:

1. Oksireduktase, mengkatalisasi reaksi oksidasi dan reduksi.
2. Transferase, mengkatalisasi pemindahan grup seperti metal atau glikosil dari molekul donor ke molekul reseptor.
3. Hidrolase, mengkatalisasi reaksi hidrolitik pemisahan C-C, C-O, C-N, P-O, dan beberapa ikatan tertentu, termasuk ikatan asam anhidrat.
4. Liase, mengkatalisasi pemisahan C-C, C-O, C-N, dan ikatan lain melalui eliminasi, menghilangkan ikatan rangkap.
5. Isomerase, mengkatalisasi perubahan struktural atau geometri dalam satu struktur.
6. Ligase, mengkatalisasi reaksi penggabungan dua molekul, berpasangan dengan hidrolisis pirofosforil dalam ATP.

Suatu senyawa yang dapat menghambat kerja enzim melalui beberapa mekanisme antara lain inhibisi kompetitif dan non-kompetitif. Inhibisi kompetitif dapat terjadi jika inhibitor membentuk kompleks dengan enzim pada situs aktif enzim sehingga menghambat substrat masuk ke dalam situs tersebut, karena struktur inhibitor kompetitif menyerupai substrat alami tersebut.

Pada inhibisi non-kompetitif, terbentuknya kompleks inhibitor dengan enzim terjadi pada tempat yang berbeda dengan kompleks enzim-substrat. Dengan meningkatnya jumlah konsentrasi inhibitor, kerja enzim dapat terhambat secara total. Inhibisi non-kompetitif dapat dikaitkan dengan fenomena alosterik.

Inhibisi alosterik merupakan penghambatan dimana enzim dihambat oleh suatu inhibitor yang strukturnya tidak mirip dengan substrat. Inhibitor alosterik berikatan dengan enzim pada tempat di luar bagian situs aktif enzim. Terbentuknya ikatan antara enzim dengan inhibitor dapat mempengaruhi konformasi enzim, sehingga situs aktif enzim mengalami perubahan bentuk. Akibat inhibisi ini adalah penggabungan substrat pada situs aktif enzim akan terhambat (Harmita, Yahdiana, Hayun, 2006).

2.7. Reseptor

Reseptor adalah suatu makromolekul seluler yang secara spesifik dan langsung berikatan dengan ligan (obat, hormon, neurotransmitter) untuk memicu tanda atau sinyal kimia antara dan dalam sel sehingga menimbulkan efek. Sebagai makromolekul fungsional, reseptor memiliki dua konsep penting, yaitu ligan dapat mengubah kecepatan faal tubuh dan ligan tidak menimbulkan suatu fungsi baru, tetapi hanya memodulasi fungsi yang sudah ada.

Reseptor berfungsi untuk mengenal dan mengikat suatu ligan dengan spesifisitas yang tinggi, serta meneruskan tanda atau sinyal ke dalam sel melalui perubahan permeabilitas membran, pembentukan pembawa kedua (*second messenger*), dan mempengaruhi transkripsi gen. Dalam melakukan fungsinya, reseptor terbagi menjadi dua jenis, yaitu reseptor agonis dan reseptor antagonis.

Reseptor agonis adalah suatu ligan yang dapat berikatan dengan reseptor sehingga memberikan efek maksimum. Reseptor agonis terbagi menjadi dua, yaitu agonis langsung dan agonis tidak langsung. Agonis langsung adalah respon yang berasal dari interaksi ligan dengan reseptor yang menyebabkan perubahan konformasi reseptor sehingga reseptor menjadi aktif dan menginisiasi proses biokimiawi sel. Sedangkan, agonis tidak langsung adalah respon yang berasal dari interaksi ligan reseptor dimana ligan mempengaruhi senyawa endogen dalam menjalankan fungsinya. Agonis tidak langsung melibatkan proses modulasi atau potensiasi efek dari senyawa endogen dan umumnya bersifat alosterik.

Reseptor antagonis adalah suatu ligan yang dapat berikatan dengan reseptor tetapi interaksi tersebut akan menurunkan aksi ligan dalam menimbulkan efek. Reseptor antagonis terbagi menjadi dua, yaitu antagonis kompetitif dan antagonis

non-kompetitif. Antagonis kompetitif adalah suatu agonis dan antagonis memperebutkan posisinya dalam reseptor pada sisi ikatan yang sama dengan agonis atau sisi agonis dan antagonis pada reseptor berdekatan, ikatan antagonis pada sisi aktifnya mengganggu secara fisik interaksi agonis dengan sisi aktifnya. Sedangkan, antagonis non-kompetitif adalah suatu agonis dan antagonis berikatan pada waktu yang bersamaan, tetapi pada daerah selain reseptor. Pada antagonis non-kompetitif, sebagian prosesnya bersifat ireversibel (*Reseptor sebagai target aksi obat*. 2010).

2.8. Malaria

Malaria merupakan penyakit yang menyerang manusia, burung, kera dan primata lainnya, hewan melata dan hewan pengerat, yang disebabkan oleh infeksi protozoa dari genus *Plasmodium*. Gejala-gejala yang ditimbulkan dari infeksi ini mudah dikenali yaitu panas (dingin menggigil) serta demam berkepanjangan. Dalam beberapa kasus yang tidak disertai dengan pengobatan, gejala-gejala muncul kembali secara periodik.

Penyakit malaria yang terjadi pada manusia terdapat 4 jenis, dan masing-masing disebabkan oleh spesies parasit yang berbeda. Jenis malaria yang paling ringan adalah malaria tertiana yang disebabkan oleh *Plasmodium vivax*. Gejala malaria tertiana dapat terjadi setiap dua hari sekali setelah gejala pertama terjadi. Demam rimba atau malaria tropika yang disebabkan oleh *Plasmodium falciparum*. Malaria tropika merupakan penyebab sebagian besar kematian akibat malaria. Organisme ini menghalangi jalan darah ke otak, sehingga menyebabkan koma, mengigau, serta kematian. Malaria kuartana yang disebabkan oleh *Plasmodium malariae* memiliki masa inkubasi lebih lama daripada malaria tertiana atau tropika. Gejala pertama malaria kuartana biasanya tidak terjadi antara 18 sampai 40 hari setelah infeksi terjadi. Jenis malaria ke empat dan paling jarang ditemukan adalah yang disebabkan oleh *Plasmodium ovale* yang mirip dengan malaria tertiana. Parasit malaria yang paling banyak menyerang Indonesia adalah *Plasmodium falciparum* (*Malaria*, 2005).

Penanganan terhadap penyakit malaria yang disebabkan oleh *Plasmodium falciparum* telah banyak dilakukan. Usaha untuk menemukan dan

mengembangkan obat antimalaria terbaru sangat meningkat karena obat antimalaria sangat rentan untuk terjadi resistensi (*The Use Of Antimalarial Drugs*, 2010). Resistensi obat telah menegaskan bahwa parasit mampu bertahan hidup atau berkembang biak pada konsentrasi obat normal yang seharusnya dapat menghambat perkembangbiakan atau membunuh parasit tersebut. Obat baru sangat dibutuhkan untuk melawan masalah resistensi obat. Sekarang ini, penemuan dan proyek pengembangan malaria banyak dilakukan. Dalam hal ini, termasuk juga penemuan dan pengembangan target obat baru untuk terapi malaria (Tabel 3). Tujuannya adalah untuk menghasilkan obat yang aman dan mampu melawan parasit malaria yang telah resisten terhadap obat yang telah ada (Karla, et al, 2006).

Berdasarkan Tabel 2.1., protein yang akan digunakan sebagai target penambatan adalah enzim plasmepsin dan reduktase protein pembawa enoil asil *Plasmodium falciparum* (PfENR).

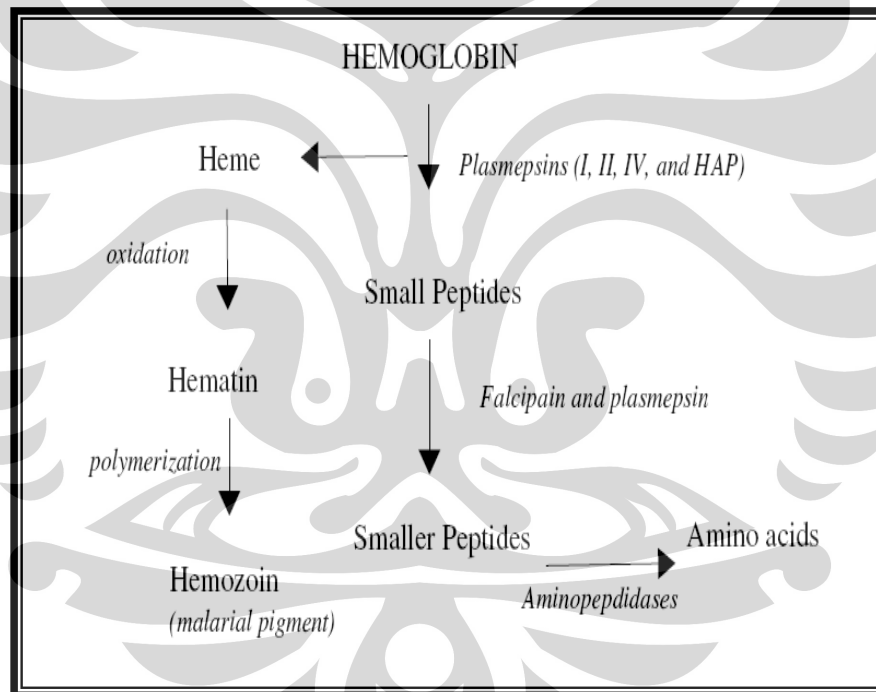
Tabel 2.1. Target-target antimalaria

Lokasi	Mekanisme	Molekul target	Terapi yang ada	Senyawa baru
Sitosol	• Metabolisme Folat	Dihidrofolat reduktase	Pirimetamin	Klorproguanil
	• Glikolisis	Timidilat sintase		5-fluorourat
Vakuola makanan	Hidrolisis Hemoglobin	Plasmepsin		Protease inhibitor
Apikoplas	Biosintesis asam lemak tipe 2	FabH PfENR		Tiolaktomisin Triklolan

Membran	Sintesis fosfolipid	Pembawa	G25
Parasit		kolin	
Ekstraselular	Invasi eritrosit	Subtilisin	Protease
		serin	inhibitor
		protease	

2.9. Plasmepsin

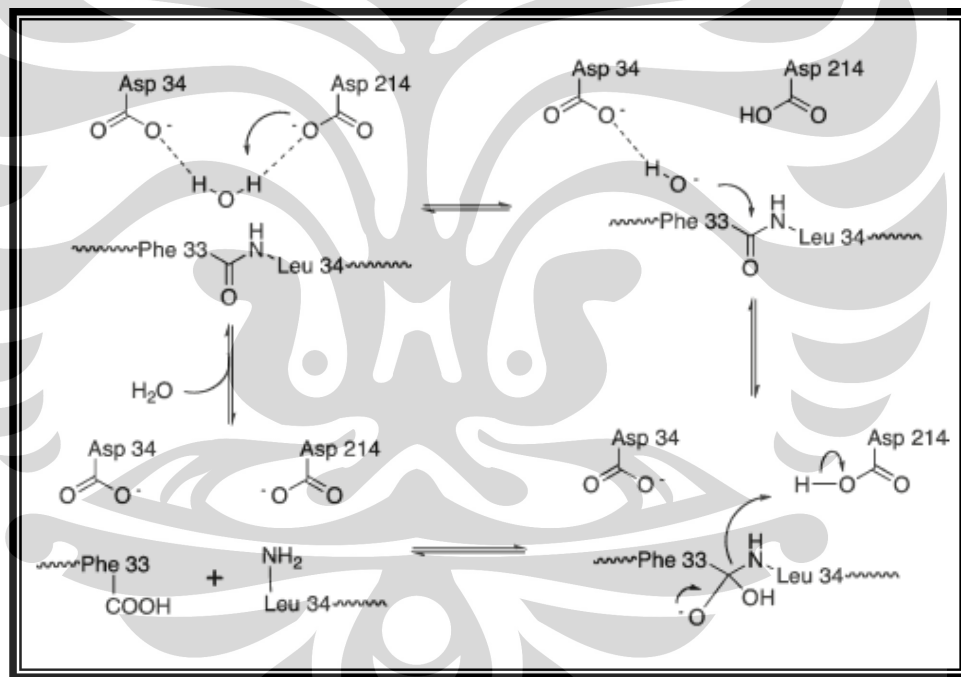
Plasmepsin adalah enzim utama didalam siklus hidup parasit malaria. Plasmepsin terletak di dalam vakuola makanan dan akan bekerja dengan mendegradasi hemoglobin untuk dijadikan sumber makanan.



Gambar 2.2. Mekanisme degradasi hemoglobin oleh Plasmepsin (*Plasmepsins*, 2010)

Berdasarkan Gambar 2.2., dua homolog plasmepsin, yaitu plasmepsin I dan II bertanggung jawab sebagai penyerang awal pada rantai alfa hemoglobin diantara residu Phe33 dan Leu34, dalam daerah *hinge* (engsel). Daerah ini bertanggung jawab untuk menjaga stabilitas dari bentuk hemoglobin yang

tetramer. Heme yang pecah (Fe^{2+}) akan teroksidasi menjadi hematin (Fe^{3+}). Langkah akhir, hematin akan berpolimerisasi menjadi hemozoin, yaitu pigmen malaria (*Plasmepsins*, 2010). Sedangkan, Plasmepsin IV dan HAP berperan pada degradasi produk fase pertama agar menjadi molekul peptide yang lebih kecil (Suguna K. et al, 2010). Mekanisme katalitik Plasmepsin dalam menghidrolisis hemoglobin, yaitu melalui situs aktif yang terdiri dari Asp34 dan Asp214. Residu Asp34 dan Asp214 mengkoordinasi molekul air, diikuti dengan pemisahan proton oleh Asp214, menyerang ikatan peptida Phe33-Leu34 seperti yang terlihat pada Gambar 2.3. (Gupta D. R., 2010). Selama berada dalam eritrosit, parasit malaria bergantung pada hemoglobin manusia sebagai sumber makanan. Keberadaan plasmepsin sangat penting untuk degradasi hemoglobin dan sangat logis menjadi target obat antimalaria (Kyle, Dennis E. et al., 2001).



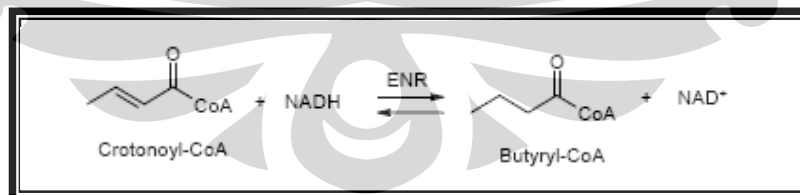
Gambar 2.3. Mekanisme Katalitik oleh Plasmepsin pada hidrolisis hemoglobin (Gupta D. R., 2010)

Penelitian mengenai plasmepsin sebagai target baru obat antimalaria telah banyak dilakukan. Salah satu obat antimalaria yang pernah ditambatkan pada Plasmepsin adalah halofantrin. Menurut hasil penelitian ini, halofantrin diduga memiliki dua tipe aksi ikatan. Pertama, jika gugus nitrogen dari halofantrin sangat

dekat dengan Asp34, maka akan terbentuk ikatan hidrogen dengan Asp34. Kedua, halofantrin akan membentuk ikatan hidrogen dengan gugus hidroksil dari Tyr 192 atau gugus karbonil dari Gly36. Kedua tipe jenis ikatan tersebut juga akan membentuk ikatan hidrogen dengan gugus hidroksil dari Asp 214 (A, Caflisch, Friedman R.,2009).

2.10.Reduktase Protein Pembawa Enoil Asil *Plasmodium falciparum*

Reduktase protein pembawa enoil asil *Plasmodium falciparum* (PfENR) terletak di dalam *apicoplast*, dimana organel tersebut merupakan tempat terjadinya beberapa proses metabolisme dalam *P. falciparum* (Moreno, Edinson Lucumi., 2005). PfENR adalah enzim yang berperan penting dalam biosintesis asam lemak tipe II yang terjadi dalam *Plasmodium falciparum* (Surolia, Avadesha. wt al., 2004). Asam lemak sangat dibutuhkan untuk menyediakan prekursor dalam pembuatan membran biologis dan sangat penting sebagai sumber cadangan energi (Moreno, Edinson Lucumi., 2005). PfENR mengkatalisasi langkah akhir dari siklus elongasi pada biosintesis asam lemak. PfENR bekerja dengan mengurangi ikatan rangkap karbon pada enoil yang terikat secara kovalen pada pembawa protein asil (Surolia, Avadesha. Et al., 2004), yaitu konversi trans-2-asil-ACP menjadi asil-ACP seperti terlihat pada Gambar 2.4. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa PfENR menggunakan NADH sebagai kofaktor dalam reaksi katalisis dimana *crotonoyl-CoA* diubah menjadi *butyryl-CoA* (Moreno, Edinson Lucumi., 2005).



Gambar 2.4. Reaksi yang dikatalisasi oleh *Plasmodium falciparum* Enoil Asil Karier Protein Reduktase (Moreno, Edinson Lucumi., 2005)

Baru-baru ini, PfENR digunakan sebagai target beberapa obat yang dapat digunakan sebagai inhibitor enzim ini, salah satunya adalah triklosan. Senyawa 5-kloro-2-(2',4'-diklorofenoksi) fenol, disebut juga triklosan merupakan bahan

kimia yang digunakan sejak tahun 1960 sebagai agen antibakteri dan antijamur. Sebagai obat antimalaria, triklosan menghambat biosintesis lemak secara spesifik dengan cara menyerupai substrat alami dari enzim reduktase protein pembawa enoil asil *Plasmodium falciparum*. Studi penambatan molekuler mengenai triklosan yang ditambatkan pada enzim PfENR telah dilakukan. Hasil dari penelitian tersebut menunjukkan bahwa situs aktif dari PfENR terbagi berdasarkan cincin fenol yang terdapat dalam triklosan. Pada cincin A, atom kloro pada posisi 5 akan membentuk ikatan van der Waals dengan residu Tyr267, Pro314, dan Phe368. Pada cincin B, atom kloro pada posisi 4 akan membentuk ikatan dengan residu Val222 dan Met281, sedangkan atom kloro pada posisi 2 akan membentuk ikatan dengan residu Ala217. Berdasarkan informasi yang diperoleh dari struktur kristal PfENR, diketahui bahwa situs aktif enzim ini pada dasarnya dikelilingi oleh residu hidrofobik. Residu hidrofobik tersebut adalah Val222, Tyr277, Tyr267, Phe368, Pro314, Gly315, Leu315, His214, Ala217, Asn218, Ala219, Lys220, Met231, dan Lys285 (Moreno, Edinson Lucumi., 2005).

Proses biosintesis asam lemak sangat penting untuk bertahan hidup. Penghambatan pada PfENR akan menyebabkan kematian pada parasit malaria (Surolia, Avadesha. et al., 2004). Berdasarkan hasil penelitian ini, diharapkan senyawa xanton yang akan ditambatkan dapat berikatan pada sisi aktif enzim tersebut.

2.11. Penambatan Molekuler

Penambatan molekuler adalah studi yang mempelajari bagaimana dua atau lebih struktur molekul dapat berikatan satu sama lain, dengan kata lain memecahkan masalah secara 3 dimensi. Penambatan molekuler digunakan untuk memprediksi struktur kompleks intermolekular yang terbentuk antara dua atau lebih molekul. Penambatan molekuler yang paling menarik adalah interaksi antara ligan dengan protein. Terdapat beberapa kemungkinan dalam tempat terikatnya dengan protein. Peneliti harus mempelajari kualitas dan kuantitas energi antara partikel yang berinteraksi (Ojanen, Janne, Kaapro Aatu.,2002).

Penambatan molekuler digunakan pada beberapa tingkat proses penemuan obat dengan tiga tujuan utama: (1) memprediksi cara pengikatan dari ligan yang diketahui memiliki aktivitas; (2) mencari ligan baru secara virtual screening; (3) memprediksi afinitas ikatan dari seri senyawa yang diketahui aktif (Leach, Shoicet, & Peishoff, 2006).

Pada penambatan molekuler, digunakan beberapa metode pencarian konformasi, antara lain simulasi Monte Carlo, *simulated annealing*, dan algoritma genetik. Pada simulasi Monte Carlo, pencarian konformasi terbaik dilakukan dengan perhitungan energi dari setiap langkah dan dibandingkan dengan langkah sebelumnya. Jika energi baru lebih rendah dari sebelumnya, maka langkah pencarian energi tersebut diterima. Semakin kecil energi yang diberikan, semakin besar kemungkinan langkah tersebut diterima. Pada *simulated annealing*, pencarian konformasi terbaik dilakukan secara global, kemudian satu per satu pencarian disimpan dalam komputer, dan hanya menggunakan hasil pencarian sebelumnya untuk menciptakan pencarian baru. Pada algoritma genetik, pencarian konformasi dilakukan dengan membentuk beberapa populasi. Setiap anggota dari populasi diberikan suatu fungsi nilai. Selama pencarian global, populasi baru terbentuk dari anggota-anggota yang telah diseleksi. Anggota-anggota ini mempunyai keturunan untuk menciptakan populasi baru. Keturunan-keturunan yang dihasilkan menggantikan anggota dari populasi. Proses ini terus berlanjut, hingga akhirnya diperoleh hasil dengan nilai yang terbaik untuk diidentifikasi ketepatan ikatannya (Orengo, David, & Janet., 2003).

2.12. Minimisasi Energi

Ketika mengunduh suatu struktur molekul tiga dimensi, struktur tersebut belum mengalami proses minimisasi. Pada struktur tersebut, dilakukan proses optimasi yang bertujuan untuk mendapatkan konformasi struktur dengan energi yang minimum. Metode fase pertama yang dapat digunakan dalam proses minimisasi energi adalah *steepest descent* dan *conjugate gradient*.

2.12.1. Steepest Descent

Metode *steepest descent* merupakan suatu pencarian energi potensial minimum pada permukaan molekul. Proses minimisasi dimulai dengan setiap atom digerakkan atau dipindahkan menuju suatu ruang dan setiap perubahan energi akan tercatat. Pencari konformasi akan berubah arah ke penurunan energi total terbesar. Proses akan berhenti ketika perbedaan perubahan energi cukup kecil.

2.12.2. *Conjugate Gradient*

Metode *conjugate gradient* merupakan metode pencarian energi dengan membuat suatu arah untuk mengarahkan atom. Kemudian, perubahan energi dari setiap langkah dicatat dan digunakan untuk menentukan langkah selanjutnya. Hal ini dilakukan untuk mencegah proses kembali ke bagian awal (Tiikkainen, 2010).

2.13. Bank Data Protein (*Protein Data Bank*)

Protein Data Bank (PDB) adalah sebuah dokumen atau kumpulan data eksperimental struktur tiga dimensi dari makromolekul. Data-data tersebut berisi koordinat atom, struktur kristalografi, dan data eksperimen mengenai NMR. Setiap data memiliki nama molekul, informasi mengenai struktur utama dan tambahan, keterangan sekuens database, serta informasi mengenai ligan.

Research Collaboratory for Structural Bioinformatics (RCSB) yang bertanggung jawab dalam pengaturan data dalam PDB. Secara umum, RCSB berkeinginan untuk menciptakan sumber berdasarkan teknologi modern sehingga data dapat digunakan untuk analisis struktur, yang lebih lanjut dapat digunakan untuk analisis secara biologis (*Protein Data Bank Contents Guide: Atomic Coordinate Entry Format Description Version 3.20.*, 2008)

2.14. Perangkat Lunak

2.14.1. PyMOL

PyMOL adalah suatu program yang digunakan untuk memeriksa molekul tiga dimensi, dan dimaksudkan untuk menggambarkan struktur kimia secara tiga

dimensi termasuk struktur protein, asam nukleat (RNA, DNA, tRNA), molekul kecil penuntun obat, inhibitor, metabolit, dan ligan lain seperti garam anorganik. PyMOL dapat menjelaskan hubungan stereokimia secara tiga dimensi. PyMOL juga dapat digunakan untuk peta densitas elektron, peta potensial elektrostatik, dan kumpulan data volumetrik lainnya (*Pymol Molecular Viewer*.,2009).

2.14.2. AutoDock

Program AutoDock dikembangkan untuk mempersiapkan sebuah prosedur dalam memprediksi interaksi antara molekul kecil dengan makromolekul (target). Keinginan untuk mengembangkan prosedur ini didasarkan atas masalah-masalah yang timbul pada saat merancang komponen bioaktif, terutama untuk merancang obat menggunakan komputer.

AutoDock merupakan alat untuk menambatkan suatu molekul secara otomatis. AutoDock terdiri atas dua program utama yaitu AutoDock yang digunakan untuk proses penambatan ligan ke protein target dan *autogrid* yang digunakan untuk menghitung seberapa besar energi yang dihasilkan ketika ligan tersebut telah selesai ditambatkan.

Pada setiap proses penambatan, dua masalah yang bertentangan harus seimbang, yaitu keinginan untuk mendapatkan prosedur yang akurat dan kuat, dan keinginan untuk menjaga syarat perhitungan secara komputasi pada tingkat yang masih dapat dipahami. Prosedur penambatan yang ideal dapat ditemukan jika energi interaksi antara substrat dan protein target yang dihasilkan minimum, melalui proses eksplorasi dari setiap derajat kebebasan (*degree of freedom*) yang terdapat didalam sistem. Akan tetapi, prosedur ini harus dibandingkan dengan penelitian struktur yang dilakukan dalam laboratorium dalam jumlah waktu tertentu untuk dibandingkan dengan hasil yang diperoleh melalui komputasi. Salah satu teknik yang biasa digunakan adalah *manually assisted docking*. Pada teknik ini, derajat kebebasan orientasional dan internal diatur oleh kontrol interaktif.

Prosedur asli yang digunakan untuk mengembangkan AutoDock adalah *Monte Carlo simulated annealing*, yaitu teknik untuk mengeksplorasi konfigurasi dengan evaluasi energi yang cepat menggunakan tenaga dari afinitas molekuler

berdasarkan basis *grid*. Jadi, teknik ini menggabungkan keuntungan antara peneksplorasi dalam skala besar dengan evaluasi energi yang kuat. Teknik ini membuktikan pendekatan yang kuat terhadap masalah yang timbul pada penambatan substrat yang fleksibel pada sisi protein yang statik. Peneliti menentukan volume rektanguler di sekitar protein, ikatan yang dapat dirotasikan untuk substrat, konfigurasi awal acak, dan prosedur yang menghasilkan *docking* yang tidak bias (Olson, Arthur J. et al., 2001).

2.14.3. AutoDock Vina

AutoDock Vina merupakan sebuah program baru untuk penambatan molekuler dan *virtual screening*. Pada AutoDock Vina, kecepatan dan keakuratan dalam memprediksi tempat berikatan pada proses penambatan molekuler lebih meningkat dibandingkan program sebelumnya (AutoDock 4). AutoDock Vina secara otomatis menghitung *grid maps* dan mengelompokkan hasil penambatan. AutoDock Vina menggunakan bentuk file format .pdbqt yang juga digunakan untuk Autodock. Autdock Vina tidak memiliki batas dalam hal jumlah atom maksimum dan ukuran maksimum *grid map* (Olson, Arthur J.,2009).

2.14.4. GOLD

GOLD (*Genetic Operation For Ligand Docking*) adalah suatu program untuk meningkatkan algoritma komputasi dan membantu untuk memproses secara paralel. GOLD menggunakan algoritma genetik untuk membantu penambatan antara ligan dan protein dengan adanya gugus hidroksil. GOLD menjadi pilihan ketika pada tempat ikatan terkandung asam amino yang dapat membentuk ikatan hidrogen dengan ligan (Ojanen, Janne, Kaapro Aatu et al., 2002).

2.14.5. UCSF CHIMERA

UCSF (*University of California at San Fransisco*) CHIMERA adalah suatu program yang secara luas digunakan untuk visualisasi interaktif dan analisis struktur molekul, serta data terkait, termasuk peta densitas, pertemuan supramolekul, penjajaran sekuens, hasil penambatan, dan trajektori. CHIMERA

dapat menghasilkan gambar dan animasi kualitas tinggi. Dokumentasi dan beberapa tutorial dari CHIMERA dapat diunduh secara gratis untuk kepentingan akademik, pemerintahan, non-profit, dan untuk penggunaan pribadi. CHIMERA dikembangkan oleh *Resource for biocomputing, Visualization, and Informatics*, dan didanai oleh *National Center for research resources (UCSF CHIMERA : An Extensible Molecular Modelling System, 2010)*

2.14.6. VegaZZ

VegaZZ adalah suatu program yang dikembangkan untuk *molecular modeling* dengan antarmuka tiga dimensi. Pada awalnya, VegaZZ digunakan untuk mempermudah *molecular docking* yang lengkap dengan grafik tiga dimensinya. Saat ini, program VegaZZ telah dibuat lebih lengkap sehingga dapat digunakan untuk memecahkan berbagai masalah kimia komputasi antara lain desain obat, optimasi ligan, *homology modeling* dari protein, dan kalkulasi QSAR (*Quantitative Structural Analysis Relationship*) molecular (Vistoli, Giulio, Alessandro Pedretti, Angelica Mazzolari, 2010).

2.14.7. Molecular Operating Environment

MOE (*Molecular Operating Environment*) adalah suatu program yang dapat merepresentasikan struktur kimia secara fleksibel sehingga dapat dijadikan pegangan yang baik untuk *molecular modeling* dan *computational chemistry*. MOE dapat digunakan untuk memvalidasi *forcefields* yang berbeda. MOE juga dapat digunakan untuk membuat atau mengedit struktur molekul (*Molecular Modelling and Simulation, 2010*).

2.14.8. Collaborative Computational Project Number 4

Collaborative Computational Project Number 4 (CCP4) adalah sebuah kumpulan program dan data-data terkait yang dapat digunakan untuk menentukan struktur makromolekul pada kristalografi. Program ini didesain secara fleksibel, sehingga pengguna dapat menggunakan beberapa metode dan program untuk memenuhi tujuan penggunaannya (*The CCP4 Suite : Programs For Protein Crystallography, 2010*).

2.14.9. Cygwin

Cygwin adalah suatu program yang menyediakan lingkungan pemrograman seperti Linux untuk Windows. Cygwin digunakan untuk melakukan kalkulasi autogrid dan autodock. Cygwin mencakup DLL (*Data Link Layer*) yang bertindak seperti lapisan pengemulasi sebagai POSIX (*Portable Operating System Interface*), fungsi pemanggilan sistem dan peralatan seperti pada Linux (*Cygwin User's Guide*, 2010).



BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1. ALAT DAN BAHAN

3.1.1. Alat

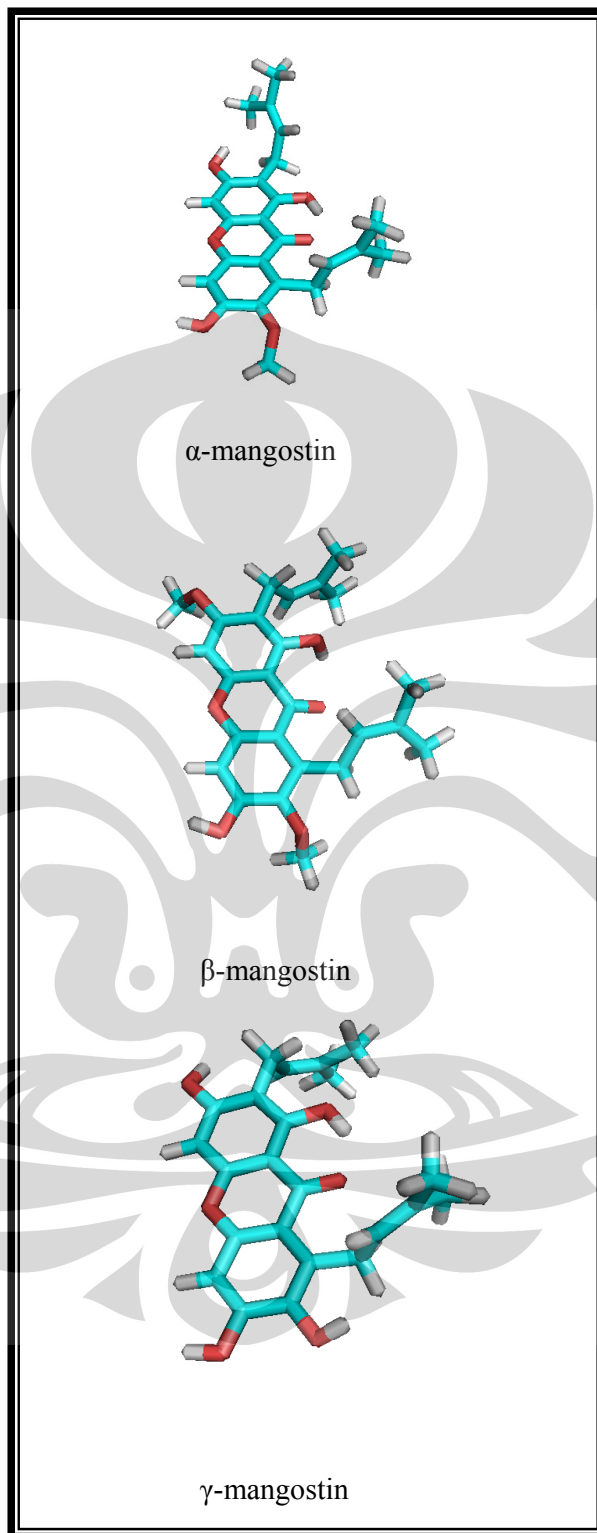
Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah perangkat keras berupa komputer serta kelengkapannya (*monitor, CPU, keyboard, dan mouse*) dengan spesifikasi RAM (*Random Access Memory*) sebesar 1 GB. Komputer terhubung dengan internet dan UPS (*Uninterrupted Power Supply*) yang diproduksi oleh *ASUSTek Computer Inc.*

Perangkat lunak yang digunakan berupa Pymol diproduksi dari *DeLano Scientific*, CCP4 diproduksi dari *Daresbury Laboratory*, UCSF CHIMERA diproduksi dari *Universitas California*, Autodock Tools dan Autodock Vina dari *Scripps Research Institute*, GOLD dari *Universitas Sheffield, GlaxoSmithKline*, dan CCDC, VegaZZ diproduksi dari *Milano, Itali*, Cygwin diproduksi dari *Red Hat Inc.*, dan MOE diproduksi dari *Chemical Computing Group Inc.*

3.1.2. Bahan

3.1.2.1. Struktur tiga dimensi dari senyawa xanton

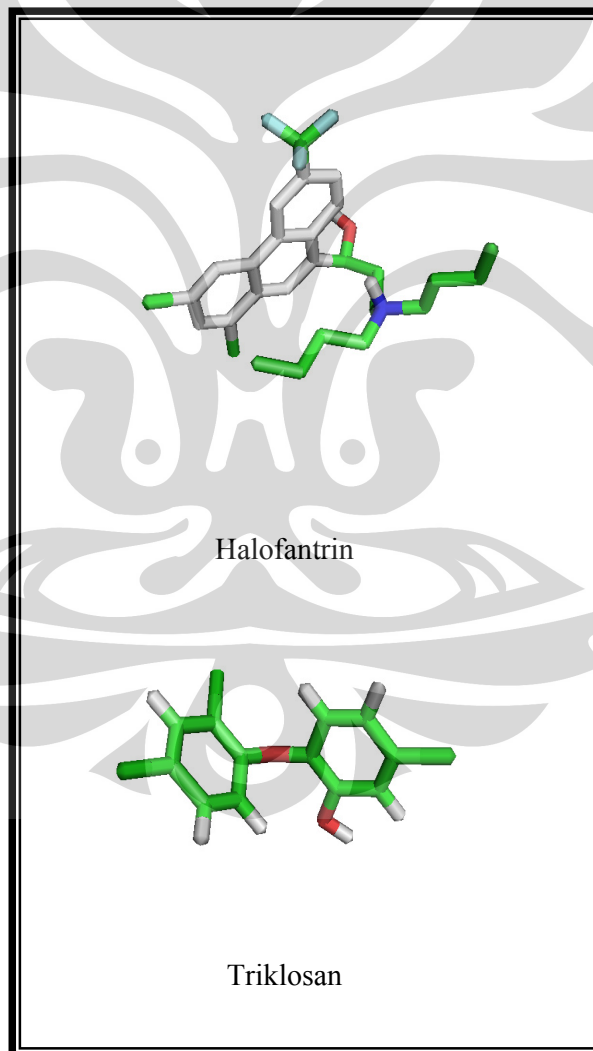
Senyawa xanton yang digunakan dalam penelitian ini adalah α -mangostin, γ -mangostin, dan β -mangostin. Struktur tiga dimensi dari α -mangostin dan γ -mangostin dapat diunduh dari *Pubchem Compound* dengan situs *PubChem Compound*. Struktur tiga dimensi tersebut dapat diunduh dalam bentuk format *.sdf*. Sedangkan, untuk β -mangostin, struktur tiga dimensinya tidak tersedia dalam *Pubchem Compound*, sehingga peneliti merekonstruksinya sendiri. Struktur tiga dimensi senyawa mangostin dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1. Struktur tiga dimensi α -mangostin, β -mangostin, dan γ -mangostin

3.1.2.2. Struktur tiga dimensi kontrol positif

Obat-obat yang memiliki aktivitas untuk menghambat kerja enzim plasmepsin dan reduktase protein pembawa enoil asil *Plasmodium falciparum* digunakan sebagai bahan pembanding. Obat-obat tersebut akan dibandingkan potensi aktivitas inhibisinya dengan senyawa yang diuji. Kontrol positif yang digunakan untuk enzim plasmepsin adalah halofantrin. Sedangkan, kontrol positif yang digunakan untuk PfENR adalah triklosan. Struktur tiga dimensi kedua obat tersebut dapat diunduh dari *Pubchem Compound* dan dapat dilihat pada Gambar 3.2.



Gambar 3.2. Struktur tiga dimensi Halofantrin dan Triklosan

3.1.2.3. Bank data protein dari enzim plasmepsin

Struktur tiga dimensi makromolekul Plasmepsin dapat diunduh dari *Protein Data Bank* (PDB). Pada situs tersebut, makromolekul yang digunakan dalam penelitian ini adalah makromolekul dengan identitas 1LEE. Makromolekul dengan identitas 1LEE adalah enzim plasmepsin yang terikat dengan ligan inhibitor R36.

3.1.2.4. Bank data protein dari reduktase protein pembawa enoil asil *Plasmodium falciparum*

Struktur tiga dimensi makromolekul reduktase protein pembawa enoil asil *Plasmodium falciparum* dapat diunduh dari situs *Protein Data Bank* (PDB). Pada alamat situs tersebut, makromolekul yang digunakan dalam penelitian ini adalah makromolekul dengan identitas 1NHG. Makromolekul dengan identitas 1NHG adalah reduktase protein pembawa enoil asil *Plasmodium falciparum* yang terikat dengan ligan NAD dan TCL (*Triclosan*).

3.2. Cara Kerja

3.2.1. Pencarian struktur tiga dimensi dan optimasi senyawa xanton

Struktur tiga dimensi senyawa α -mangostin dan γ -mangostin dapat diunduh pada situs *PubChem Compound*. Sedangkan, untuk senyawa β -mangostin, peneliti merekonstruksi berdasarkan struktur dua dimensinya. Kemudian, dilakukan proses minimisasi energi dan konformasi geometris dengan menggunakan program VegaZZ. Ketiga senyawa tersebut diminimisasi sebanyak 1000 kali menggunakan *Trust*. Setelah diminimisasi, dilakukan konformasi geometris menggunakan program yang sama. Hasil pencarian konformasi terbaik dipilih sebagai struktur senyawa yang akan ditambahkan pada makromolekul. Hasil konformasi kemudian disimpan dalam bentuk format .pdb.

3.2.2. Pengunduhan Makromolekul Target Penambatan

Makromolekul diunduh pada situs penyedia makromolekul, yaitu *Protein Data Bank*. Kemudian, ketik identitas makromolekul yang akan diunduh. Makromolekul disimpan dalam bentuk format *.pdb*. Pada penelitian ini, makromolekul yang diunduh adalah dengan identitas 1LEE (enzim plasmepsin yang terikat dengan ligan inhibitor R36) dan 1NHG (reduktase protein pembawa enoil asil *Plasmodium falciparum* yang terikat dengan ligan NAD dan TCL).

3.2.3. Pemisahan Rantai Makromolekul sebagai Target Penambatan

Struktur tiga dimensi dari makromolekul yang diunduh memiliki rantai atau ligan yang terikat. Dengan menggunakan program UCSF CHIMERA, rantai atau ligan tersebut dipisahkan dari makromolekul. Hasil dari pemisahan disimpan dalam bentuk format *.pdb*. Hasil pemisahan ini juga digunakan dalam pengujian superposisi rantai.

3.2.4. Superposisi Rantai

Superposisi dilakukan dengan menggunakan program CCP4. Hasil pemisahan makromolekul dengan program UCSF CHIMERA digunakan sebagai bahan superposisi. Atur direktori yang diinginkan sebagai proyek baru. Rantai dalam satu makromolekul disuperposisikan dengan rantai lain dalam makromolekul tersebut. Rantai-rantai tersebut dibandingkan kemiripan struktur sekundernya. Hasil dari superposisi disimpan dalam bentuk format *.pdb*.

3.2.5. Optimasi Makromolekul sebagai Target Penambatan

Hasil dari superposisi makromolekul digunakan sebagai target penambatan. Makromolekul dioptimasi dengan menggunakan program VegaZZ. Makromolekul tersebut ditambahkan atom-atom hidrogen pada tiap-tiap ujung residu. Makromolekul kemudian ditambahkan muatan parsial *Gasteiger Charges* dan diberi *forcefield* Autodock. Untuk plasmepsin, makromolekul diminimisasi dengan menggunakan *Steepest*

Descent sebanyak 100 langkah dan *Conjugate Gradient* sebanyak 1000 langkah. Sedangkan, *Plasmodium falciparum* enoil asil karier protein reduktase tidak dilakukan proses minimisasi. Hasil dari minimisasi makromolekul disimpan dalam bentuk format .pdb.

3.2.6. Penambatan Molekul

Proses penambatan molekul dilakukan dengan menggunakan program AutoDock Tools (ADT), AutoDock Vina, dan GOLD. Makromolekul serta ligan yang akan ditambatkan dan telah dioptimasi disimpan dalam satu folder yang sama. Kemudian, kedua struktur tersebut dikonversi bentuk format *file* penyimpanannya dari .pdb menjadi .pdbqt. Kemudian, dilakukan persiapan parameter *grid* menggunakan AutoDock Tools. Prosedur penambatan yang dilakukan adalah sebagai berikut:

3.2.6.1. AutoDock Tools

- a) Membuka aplikasi Autodock 4.0
- b) Membuka makromolekul dengan memilih “Grid” → *Macromolecule* → *open*, lalu *browse* makromolekul sebagai target penambatan.
- c) Membuka ligan dengan memilih “Ligand” → *open*, lalu *browse* ligan yang diinginkan.
- d) Menentukan parameter *grid* penambatan
- e) Pilih menu “Grid” lalu, masukkan parameter grid.
- f) Untuk 1LEE, parameter *grid*: X = 55; Y = 50; Z = 55; *Spacing* = 0,375 Å; *Center X* = 30,971; Y = 26,776; Z = 17,839.
- g) Untuk 1NHG, parameter *grid*: X = 40; Y = 40; Z = 40; *Spacing* = 0,375 Å; *Center X* = 49,875; Y = 88,392; Z = 38,321.
- h) Membuka program *Cygwin*, untuk kalkulasi autogrid, ketik perintah pada *command line* sebagai berikut:

Universitas Indonesia

```
autogrid4 -p 1lee9.gpf -l 1lee9.glg
&
```

Proses kalkulasi berjalan.

- i) Menentukan parameter penambatan.
- j) Setelah proses kalkulasi *autogrid* selesai, lakukan proses kalkulasi docking dengan mengetikkan perintah sebagai berikut:

```
autodock4 -p 1lee99.dpf -l
1lee99.dlg &
```

Proses kalkulasi berjalan.

3.2.6.2. AutoDock VINA

- a) Memasukkan makromolekul dan ligan dalam bentuk format *.pdbqt*, serta *input.txt* dan program VINA kedalam satu folder.
- b) Mengatur parameter pada *file input.txt*.
- c) Untuk 1LEE, parameter: *protein = 1lee.pdbqt*; *ligand = alphamangostin_o1.pdbqt*; *X = 20,625*; *Y = 18,75*; *Z = 20,625*; *Center X = 30,971*; *Y = 26,776*; *Z = 17,839*; *ms_modes = 100*.
- d) Untuk 1NHG, parameter: *protein = nhga1.pdbqt*; *ligand = alphamangostin_o1.pdbqt*; *X = 15*; *Y = 15*; *Z = 15*; *Center X = 49,875*; *Y = 88,392*; *Z = 38,321*; *ms_modes = 100*.
- e) Membuka program *Command prompt*, ketik perintah sebagai berikut:

```
vina.exe --config input.txt --log
leav.txt
```

Proses kalkulasi berjalan.

3.2.6.3. GOLD

- a) Membuat bentuk file format `.mol` untuk protein dan ligan yang akan digunakan menggunakan program PyMOL.
- b) Membuka program GOLD 4.1
- c) Memilih menu GOLD, lalu klik *wizard*.
- d) Memilih protein yang digunakan, contohnya `1lee.mol`. Klik *next*.
- e) Menghilangkan ligan yang terdapat pada protein (jika ada), lalu klik *add hydrogen*. Klik *next*.
- f) Memilih *template* yang digunakan dalam proses penambatan, lalu klik *load template*. Klik *next*.
- g) Memilih ligan yang akan ditambahkan, contohnya `bemas.mol`, lalu ubah *number GA* menjadi 100. Klik *next*.
- h) Melanjutkan klik *next* sampai pada kalimat *run GOLD*. Klik *run GOLD*.
- i) Memilih *folder* yang digunakan sebagai tempat penyimpanan hasil penambatan, lalu klik OK.
- j) Proses kalkulasi berjalan.

3.2.7. Analisis Penilaian Hasil Penambatan

Hasil penambatan divisualisasikan menggunakan AutoDock. Pengamatan dilakukan dari histogram pada tiap kluster. Pada histogram tersebut, dapat diketahui pula afinitas energi ikatan (ΔG) terendah pada setiap hasil penambatan. Untuk melihat konstanta inhibisi dan kluster terbaik, buka *file* hasil penambatan dalam bentuk format `.dlg` menggunakan *wordpad*. Dengan program PyMOL, dapat divisualisasikan ikatan-ikatan yang terjadi antara ligan pada masing-masing makromolekul.

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Pembuatan Struktur Tiga Dimensi dan Optimasi Senyawa Xanton

Struktur tiga dimensi senyawa α -mangostin dan γ -mangostin dapat diunduh pada situs *PubChem Compound*. Sedangkan, untuk senyawa β -mangostin, peneliti merekonstruksi sendiri berdasarkan struktur dua dimensinya. Setelah tersedia struktur tiga dimensinya, dilakukan proses optimasi terhadap ligan tersebut untuk digunakan pada proses penambatan molekular. Proses optimasi dilakukan dengan menambahkan atom hidrogen, menghapus molekul air, *force field* SP4, dan muatan parsial *Gasteiger Charges*. Metode minimisasi dengan cara *trust* sebanyak 1000 kali. Kemudian, dilakukan pencarian konformasi geometris berdasarkan torsi dari masing-masing senyawa dan mendapatkan konformasi geometri dengan energi terendah.

Pada tahap ini, dipersiapkan struktur ligan yang akan digunakan dalam proses penambatan molekular. Setelah dibentuk, hasil struktur ini kemudian dioptimasi. Hal ini dilakukan untuk mengubah geometri awal senyawa menjadi bentuk dengan energi dan konformasi yang lebih rendah sehingga didapatkan struktur yang lebih stabil. Setiap senyawa yang dicari konformasi geometrisnya memiliki jumlah torsi yang berbeda-beda. Semakin banyak torsi fleksibel yang dimiliki, semakin lama waktu yang dibutuhkan untuk mendapatkan struktur yang stabil dan semakin sulit untuk memperoleh hasil penambatan yang baik, meskipun dilakukan penambatan berulang. Untuk α -mangostin, jumlah torsinya adalah 5. Untuk β -mangostin, jumlah torsinya adalah 6. Sedangkan, untuk γ -mangostin, jumlah torsinya adalah 4. Konformasi senyawa α -mangostin, β -mangostin, dan γ -mangostin hasil pencarian konformasi ditunjukkan pada Gambar 4.1.

4.2. Pengunduhan Makromolekul Target Penambatan

Makromolekul sebagai target penambatan diunduh pada situs penyedia makromolekul dengan situs *Protein Data Bank* (PDB). Untuk enzim plasmepsin, jumlah makromolekul yang tersedia sekitar 6 struktur kristal. Identitas PDB masing-masing struktur kristal adalah 1LF4, 1LEE, 1LF3, 1LS5, 1LF2, dan 1SME. Untuk reduktase protein pembawa enoil asil *Plasmodium falciparum*, jumlah makromolekul yang tersedia sekitar 4 struktur kristal. Identitas masing-masing struktur kristal adalah 1NHG, 1UH5, 2OL4, dan 2NQ8. Hasil pengunduhan struktur kedua enzim dapat dilihat pada Tabel 4.1 dan Tabel 4.2.

Pada tahap ini, dicari target penambatan dari masing-masing enzim. Untuk enzim plasmepsin, PDB memiliki enam struktur kristal dengan kondisi dan kualitas kristal yang berbeda. Dari keenam identitas PDB tersebut, dipilih identitas 1LEE sebagai target penambatan untuk enzim plasmepsin. Pemilihan identitas 1LEE karena memiliki resolusi kristal terkecil (1,9 Å) dan hanya memiliki satu *chain* atau subunit (monomer). Untuk reduktase protein pembawa enoil asil *Plasmodium falciparum*, PDB memiliki empat struktur kristal dengan kondisi dan kualitas kristal yang berbeda. Dari keempat identitas PDB tersebut, dipilih identitas 1NHG sebagai target penambatan untuk reduktase protein pembawa enoil asil *Plasmodium falciparum*. Pemilihan identitas 1NHG karena sistem ekspresi identitas ini tidak menggunakan sistem ekspresi *E. coli*, sedangkan identitas yang lain menggunakan sistem ekspresi *E. coli*. Untuk resolusi, 1NHG memiliki nilai resolusi yang cukup besar (2,43 Å) dan memiliki empat *chain* atau subunit (tetramer). Hasil pengunduhan bentuk kristal untuk 1LEE dan 1NHG ditunjukkan pada Gambar 4.2. dan Gambar 4.3.

4.3. Pemisahan Rantai Makromolekul sebagai Target Penambatan

Struktur tiga dimensi dari makromolekul yang diunduh memiliki rantai atau ligan yang terikat. Untuk enzim Plasmepsin, struktur 1LEE hanya memiliki satu *chain*, yaitu *chain* A. Sedangkan, untuk PfENR, struktur 1NHG memiliki empat *chain*, yaitu *chain* A, B, C, dan D.

Sebelum dipisahkan, tiap rantai dari masing-masing makromolekul target dibersihkan dari molekul solven atau pelarut, yaitu air. Setelah penghilangan molekul air, makromolekul dibersihkan dari struktur ligan yang tertambat pada makromolekul tersebut ketika diunduh dari situs PDB. Untuk 1LEE, struktur kristal ini memiliki ligan yang tertambat, yaitu inhibitor R36. Untuk 1NHG, struktur kristal ini memiliki ligan yang tertambat, yaitu NAD dan TCL.

Pada tahap ini, dilakukan pemisahan rantai atau ligan yang tertambat pada makromolekul ketika diunduh dari situs PDB. Untuk 1LEE, struktur kristal ini hanya memiliki satu *chain* (*chain A*), sehingga hanya dilakukan pemisahan ligan saja. Untuk 1NHG, struktur kristal ini memiliki empat *chain*, sehingga setelah dilakukan pemisahan ligan, masing-masing *chain* tersebut dipisahkan satu sama lain. Dari 1NHG, didapatkan empat *chain* yang akan digunakan sebagai bahan untuk superposisi. Setiap hasil pemisahan, baik ligan maupun *chain*, disimpan dalam bentuk file format *.pdb*.

4.4. Superposisi Rantai

Struktur kristal 1NHG memiliki empat *chain* yang disejajarkan terlebih dahulu. Hasil penyejajaran menunjukkan bahwa terdapat kemiripan sekuens asam amino hingga 100% antara *chain A* dengan *chain B* dan *chain C* dengan *chain D*. Superposisi antara *chain A* dengan *chain B* memberikan nilai RMSD sebesar 0,240. Superposisi *chain C* dengan *chain D* memberikan nilai RMSD sebesar 0,177. Kemudian, dicoba melakukan superposisi antara *chain A* dengan *chain C* yang memberikan nilai RMSD sebesar 2,792.

Pada tahap ini, dilakukan superposisi rantai pada 1NHG (PfENR). Hasil dari superposisi menunjukkan bahwa tiap *chain* yang terdapat dalam 1NHG merupakan unit yang identik satu dengan yang lainnya, sehingga dapat digunakan salah satu dari keempat *chain* tersebut sebagai target penambatan. Berdasarkan hasil penyejajaran sekuens dan superposisi antar *chain*, struktur 1NHG (PfENR) yang digunakan untuk penambatan molekular adalah *chain A*. Selain itu, pemilihan *chain A* dikarenakan sisi aktif dari PfENR terdapat dalam

chain tersebut. Untuk 1LEE (enzim Plasmepsin), tidak dilakukan superposisi karena hanya terdiri dari satu *chain*.

4.5. Optimasi Makromolekul sebagai Target Penambatan

Optimasi struktur tiga dimensi enzim Plasmepsin pada program Vega ZZ dilakukan setelah menambahkan atom hidrogen, menghapus molekul air, menambahkan *force-field* AutoDock dan muatan partial *Gasteiger Charges*. Metode minimisasi dengan cara *steepest descent* sebanyak 100 langkah dan *conjugate gradient* sebanyak 1000 langkah.

Pada tahap ini, struktur makromolekul yang diperoleh dari PDB memerlukan proses optimasi terlebih dahulu. Optimasi struktur perlu dilakukan karena adanya beberapa karakter yang dapat mengganggu proses penambatan molekuler. Optimasi dengan melakukan penghilangan molekul pelarut, yaitu air bertujuan agar tidak mengganggu proses penambatan molekuler. Penambahan atom hidrogen perlu dilakukan karena dengan adanya atom hidrogen dapat mempengaruhi hasil interaksi molekuler. Penambahan *force field* dan muatan parsial juga diperlukan dalam melakukan perhitungan atau *scoring*. *Force field* yang digunakan adalah *force-field* AutoDock agar sama dengan program penambatan yang digunakan dan diharapkan konformasi yang dihasilkan lebih stabil. Metode minimisasi yang digunakan adalah *steepest descent* yang sering digunakan untuk meminimisasi protein. Hasil optimasi dari 1LEE dapat dilihat pada Gambar 4.2. Untuk 1NHG (PfENR), tidak dilakukan minimisasi dan hanya dilakukan penambahan atom hidrogen, penghilangan molekul air, dan penambahan *force field* serta muatan parsial.

4.6. Penambatan Molekul

Pada program AutoDock, proses penambatan senyawa α -mangostin, β -mangostin, dan γ -mangostin masing-masing berlangsung sekitar 16 jam dengan jumlah evaluasi algoritma sebanyak 5.000.000 untuk enzim plasmepsin pada setiap penambatan. Untuk reduktase protein pembawa enoil asil *Plasmodium falciparum*, proses penambatan masing-masing ligan berlangsung sekitar 45

menit dengan jumlah evaluasi algoritme sebanyak 250.000 pada setiap penambatan. Penambatan molekuler pada kedua enzim menghasilkan seratus konformasi pada masing-masing situs aktif kedua enzim untuk setiap ligan. Data hasil penambatan molekuler masing-masing ligan dapat dilihat pada Tabel 4.3. dan Tabel 4.6.

Pada program AutoDock Vina, proses penambatan senyawa α -mangostin, β -mangostin, γ -mangostin masing-masing berlangsung sekitar 5 sampai 10 menit untuk setiap penambatan. Untuk enzim plasmepsin, dihasilkan sekitar 8 sampai 20 kluster untuk setiap ligan. Untuk reduktase protein pembawa enoil asil *Plasmodium falciparum*, dihasilkan data sekitar 23 sampai 28 kluster untuk setiap ligan. Data hasil penambatan molekuler masing-masing ligan dapat dilihat pada Tabel 4.4. dan Tabel 4.7.

Pada program GOLD, proses penambatan senyawa α -mangostin, β -mangostin, dan γ -mangostin masing-masing berlangsung sekitar 30 menit sampai 1 jam untuk setiap penambatan. Untuk enzim plasmepsin, dihasilkan seratus konformasi pada sisi aktifnya untuk setiap ligan. Untuk reduktase protein pembawa enoil asil *Plasmodium falciparum*, dihasilkan sekitar 3 sampai 100 konformasi pada sisi aktifnya untuk setiap ligan. Data hasil penambatan molekuler masing-masing ligan dapat dilihat pada Tabel 4.5. dan Tabel 4.8.

Penambatan molekuler menggunakan AutoDock dilakukan dengan bantuan Cygwin. Hal ini karena komputer yang digunakan memiliki sistem operasi Windows, sedangkan program AutoDock adalah program yang bekerja pada sistem operasi Linux. Penambatan molekuler pada program AutoDock menggunakan *docking algorithm*, yaitu *Lamarckian genetic algorithm*. Algoritme ini merupakan antara *genetic algorithm* (pencarian optimum global) dengan *local search* (pencarian optimum terlokalisasi). Volume *grid box* yang digunakan diatur sebesar 55 x 50 x 55 Å (1LEE) dan 40 x 40 x 40 Å (1NHG) agar tersedia ruangan yang cukup besar untuk ligan dalam mencari posisi terbaik pada situs aktif masing-masing makromolekul. Jumlah penambatan pada satu kali proses diubah menjadi 100 agar hasilnya lebih mudah dianalisis

dan jumlah *cluster* yang dihasilkan terlihat lebih signifikan. Jumlah evaluasi pada *genetic algorithm* ditetapkan sebanyak 5.000.000 untuk 1LEE dan 250.000 untuk 1NHG. Jumlah evaluasi ini diperlukan untuk memperoleh hasil penambatan yang konvergen.

Penambatan molekuler dengan AutoDock Vina dilakukan dengan *command prompt*, dapat juga dijalankan dengan Cygwin. Pada AutoDock Vina, *spacing* yang digunakan sebesar 1 Å, sehingga volume *grid box* yang digunakan pada program AutoDock terlebih dahulu dikalikan dengan 0,375 Å. Volume *grid box* yang digunakan setelah dikalikan adalah 20,625 x 18,75 x 20,625 Å untuk 1LEE dan 15 x 15 x 15 Å untuk 1NHG. Jumlah penambatan juga diubah menjadi 100 pada satu kali proses penambatan.

Penambatan molekuler dengan program GOLD dilakukan setelah file yang dibutuhkan diubah bentuk formatnya menjadi *.mol*, dalam hal ini makromolekul dan ligan. Bentuk format file harus diubah karena program GOLD tidak dapat membaca bentuk *.pdbqt* yang digunakan pada program AutoDock dan AutoDock Vina. Pada program GOLD, proses penambatan dilakukan pada *grid* yang sama dengan radius 15 Å sebagai luas daerah. Jarak radius digunakan karena batas penambatan ketika koordinat situs aktif dimasukkan akan terbentuk suatu titik berbentuk bola atau sferis. Sehingga proses penambatan tidak terjadi secara global, tetapi hanya terjadi pada titik aktif masing-masing makromolekul hingga jarak yang ditentukan. Jumlah evaluasi juga diubah menjadi 100 untuk satu kali proses penambatan.

Hasil penambatan masing-masing ligan pada enzim plasmepsin memberikan hasil yang seragam antar proses penambatan yang berulang, baik pada program AutoDock, AutoDock Vina, dan GOLD. *Cluster* yang dihasilkan cukup seragam karena adanya konformasi yang signifikan (*cluster* terbaik), bahkan *cluster* terbaik memiliki energi bebas pengikatan terendah. Ikatan-ikatan yang terjadi pun hampir sama untuk masing-masing ligan pada proses penambatan berulang. Untuk reduktase protein pembawa enoil asil *Plasmodium falciparum*, hasil penambatan memberikan hasil yang seragam untuk senyawa α -mangostin antar proses penambatan yang dilakukan berulang.

Untuk senyawa β -mangostin dan γ -mangostin, hasil penambatan memberikan hasil yang kurang seragam antar proses penambatan yang dilakukan berulang. Jumlah *cluster* yang dihasilkan kurang signifikan, sehingga konformasi yang dihasilkan berbeda-beda. Ikatan-ikatan yang terbentuk pun terdapat sedikit perbedaan pada proses penambatan berulang.

4.7. Analisis Penilaian Hasil Penambatan

Hasil penambatan masing-masing ligan pada enzim plasmepsin memberikan hasil yang seragam antar proses penambatan yang berulang, baik pada program AutoDock, AutoDock Vina, dan GOLD. *Cluster* yang dihasilkan cukup seragam karena adanya konformasi yang signifikan (*cluster* terbaik), bahkan *cluster* terbaik memiliki energi bebas pengikatan terendah. Ikatan-ikatan yang terjadi pun hampir sama untuk masing-masing ligan pada proses penambatan berulang. Konformasi terbaik hasil penambatan masing-masing ligan dapat dilihat pada Gambar 4.4, Gambar 4.6, dan Gambar 4.8.

Untuk reduktase protein pembawa enoil asil *Plasmodium falciparum*, hasil penambatan memberikan hasil yang seragam untuk senyawa α -mangostin antar proses penambatan yang dilakukan berulang. Untuk senyawa β -mangostin dan γ -mangostin, hasil penambatan memberikan hasil yang kurang seragam antar proses penambatan yang dilakukan berulang. Jumlah *cluster* yang dihasilkan kurang signifikan, sehingga konformasi yang dihasilkan berbeda-beda. Ikatan-ikatan yang terbentuk pun terdapat sedikit perbedaan pada proses penambatan berulang. Konformasi terbaik hasil penambatan masing-masing ligan dapat dilihat pada Gambar 4.5, Gambar 4.7, dan Gambar 4.9.

Hasil penambatan molekuler pada enzim plasmepsin menunjukkan bahwa senyawa α -mangostin, β -mangostin, dan γ -mangostin berinteraksi dengan situs aktif plasmepsin melalui sekitar 2 atau lebih ikatan hidrogen pada masing-masing program penambatan. Ikatan hidrogen dibentuk oleh gugus hidroksi yang menjadi pusat struktur, gugus amida (ikatan peptida), dan atau gugus lain yang dapat menjadi donor atau akseptor ikatan hidrogen.

Situs aktif plasmepsin terdiri dari Asp34 dan Asp 214. Residu Asp34 dan Asp214 mengkoordinasi molekul air, dimana Asp214 berperan sebagai donor proton, yang kemudian akan menyerang ikatan peptida yang ada pada hemoglobin, yaitu residu Phe33-Leu34. Hasil penambatan menunjukkan bahwa dua senyawa (α -mangostin, dan γ -mangostin) terikat pada situs aktif plasmepsin. Sedangkan, untuk β -mangostin, terikat pada rantai samping situs aktif dari plasmepsin.

Senyawa α -mangostin membentuk ikatan hidrogen pada residu Asp34, Asp214, dan Ser79. Pada ikatan hidrogen yang terbentuk dengan residu Asp34 dan Asp214, α -mangostin mendapatkan pinjaman proton dari kedua residu tersebut. Untuk Asp34, pinjaman proton diberikan pada cabang nomor 3 dari struktur α -mangostin dimana atom tersebut terikat dengan gugus hidroksi. Untuk Asp214, pinjaman proton diberikan pada cabang nomor 6 dari struktur α -mangostin dimana atom tersebut juga terikat dengan gugus hidroksi. Untuk Ser79, ikatan hidrogen terbentuk karena pada cabang nomor 1 dimana terikat gugus hidroksi dan Ser79 sama-sama terekspos atau terbuka untuk membentuk ikatan hidrogen, sehingga Ser79 termasuk dalam situs aktif plasmepsin, tetapi hanya sebagai rantai samping.

Senyawa γ -mangostin membentuk ikatan hidrogen pada residu Asp34, Ser79, dan Tyr192. Untuk Asp34, pinjaman proton diberikan pada cabang nomor 6 dari struktur γ -mangostin dimana atom tersebut terikat dengan gugus hidroksi. Untuk Ser79 dan Tyr192, ikatan hidrogen terbentuk karena pada cabang nomor 1 dan 3 dimana terikat gugus hidroksi dan Ser79, serta Tyr192 sama-sama terekspos atau terbuka untuk membentuk ikatan hidrogen.

Senyawa β -mangostin membentuk ikatan hidrogen pada residu Tyr192, Gly36, dan Ser79. Ketiga residu tersebut membentuk ikatan hidrogen pada cabang nomor 3 dimana terikat gugus metoksi dan cabang nomor 9 dimana terikat gugus keton pada struktur β -mangostin.

Dari ketiga senyawa yang ditambatkan pada enzim plasmepsin, α -mangostin memberikan hasil penambatan molekuler terbaik karena pada satu proses penambatan menunjukkan adanya *cluster* yang signifikan (*cluster*

terbaik) serta menempati urutan pertama (penambatan terbaik). Pada program AutoDock, konformasi α -mangostin terbaik memiliki nilai energi bebas pengikatan sebesar $-8,48 \text{ kkal mol}^{-1}$ dengan nilai konstanta inhibisi (K_i) sebesar $603,30 \text{ nM}$. Pada program AutoDock Vina dan GOLD, α -mangostin memiliki nilai bebas pengikatan sebesar $-5,0 \text{ kkal mol}^{-1}$ dan memiliki nilai GoldScore sebesar $38,4918$. Kedua program ini tidak memberikan nilai dari konstanta inhibisi, sehingga hasil penambatan pada kedua program ini hanya dibandingkan antar ikatannya terhadap hasil penambatan pada program AutoDock. Pada AutoDock Vina dan GOLD, hasil penambatan molekuler memberikan hasil tempat ikatan yang sama, yaitu terdapat ikatan hidrogen pada residu Gly36, Tyr192, dan Thr217 pada proses penambatan berulang. Hasil dari penambatan pada kedua program ini semakin mendukung bahwa α -mangostin memberikan hasil penambatan terbaik, karena selain tertambat pada sisi aktif plasmepsin, α -mangostin juga dapat tertambat pada rantai samping dari sisi aktif plasmepsin, serta memiliki nilai energi bebas pengikatan dan konstanta inhibisi terkecil.

Hasil penambatan molekuler terbaik kedua pada enzim plasmepsin adalah γ -mangostin karena pada satu proses penambatan menunjukkan adanya *cluster* yang signifikan (*cluster* terbaik) serta menempati urutan pertama (penambatan terbaik). Pada program AutoDock, konformasi γ -mangostin terbaik memiliki nilai energi bebas pengikatan sebesar $-8,07 \text{ kkal mol}^{-1}$ dengan nilai konstanta inhibisi (K_i) sebesar $1,21 \text{ }\mu\text{M}$. Pada program AutoDock Vina dan GOLD, γ -mangostin memiliki nilai energi bebas pengikatan sebesar $-4,8 \text{ kkal mol}^{-1}$ dan memiliki nilai Goldscore sebesar $10,7717$. Pada AutoDock Vina, hasil penambatan molekuler memberikan tempat ikatan yang sama, yaitu Asp34, Tyr192, dan Ser79 pada setiap proses penambatan berulang. Sedangkan, pada program GOLD, hasil penambatan molekuler memberikan hasil tempat ikatan yang sedikit berbeda, yaitu Ser79, Thr217, dan Ser218. Meskipun hasil penambatan pada tempat ikatannya sedikit berbeda, hasil tersebut cukup untuk mendukung bahwa γ -mangostin memiliki afinitas terhadap situs aktif plasmepsin. Pemilihan γ -mangostin sebagai terbaik kedua dilakukan

berdasarkan hasil nilai energi bebas pengikatan, nilai konstanta inhibisi, serta terikatnya senyawa tersebut pada salah satu situs aktif plasmepsin yang disertai dengan terikatnya pada rantai samping sisi aktif plasmepsin.

Hasil penambatan molekuler terbaik ketiga dan sekaligus menjadi urutan terakhir adalah β -mangostin. Meskipun berada pada urutan terakhir, β -mangostin tetap memberikan *cluster* yang signifikan (*cluster* terbaik) serta menempati urutan pertama (penambatan terbaik) pada setiap proses penambatan berulang. Pada program AutoDock, konformasi β -mangostin terbaik memiliki nilai energi bebas pengikatan sebesar $-7,17 \text{ kkal mol}^{-1}$ dengan nilai konstanta inhibisi (K_i) sebesar $5,57 \mu\text{M}$. Pada program Autodock Vina dan GOLD, β -mangostin memiliki nilai energi bebas pengikatan sebesar $-4,6 \text{ kkal mol}^{-1}$ dan memiliki nilai GOLDscore sebesar $10,7955$. Pada program Autodock Vina dan GOLD, hasil penambatan molekuler memberikan hasil tempat ikatan yang hampir sama, yaitu Gly36, Ser79, dan Thr217 pada setiap proses penambatan berulang. Hasil penambatan molekuler pada kedua program semakin mendukung pemilihan β -mangostin menempati urutan terakhir sebagai senyawa yang memiliki afinitas terhadap situs aktif plasmepsin. Pemilihan ini didasarkan atas nilai energi bebas pengikatan, nilai konstanta inhibisi, serta ikatan-ikatan yang terbentuk dimana ikatan yang terbentuk umumnya hanya terjadi pada rantai samping situs aktif plasmepsin.

Hasil penambatan molekuler pada reduktase protein pembawa enoil asil *Plasmodium falciparum* menunjukkan bahwa senyawa α -mangostin, β -mangostin, dan γ -mangostin berinteraksi dengan situs aktif PfENR melalui interaksi hidrofobik dan diperkuat dengan satu atau lebih ikatan hidrogen pada masing-masing program penambatan. Interaksi hidrofobik dapat terbentuk karena situs aktif dari PfENR dasarnya dikelilingi oleh residu-residu hidrofobik. Residu-residu hidrofobik tersebut antara lain Val222, Tyr277, Tyr267, Phe368, Pro314, Gly315, Leu315, His214, Ala217, Asn218, Ala219, Lys220, Met231, dan Lys285. Hasil penambatan menunjukkan bahwa dua senyawa (α -mangostin dan β -mangostin) terikat pada salah satu situs aktif

PfENR. Sedangkan, γ -mangostin tidak membentuk ikatan hidrogen sama sekali pada situs aktif PfENR.

Senyawa α -mangostin membentuk ikatan hidrogen dengan residu Lys285, Tyr111, dan Gly104 pada setiap penambatan berulang. Ikatan hidrogen yang terbentuk dengan Lys285 terjadi karena pada cabang nomor 1 dimana terikat gugus hidroksi berinteraksi dengan gugus nitrogen dari residu Lys285. Dengan menggunakan program PyMOL, jarak ikatan hidrogen yang terbentuk dengan Lys285 diukur, sehingga didapatkan jaraknya sebesar 3,68 Å. Jarak tersebut hanya membentuk ikatan hidrogen yang lemah, karena untuk membentuk ikatan hidrogen yang kuat, jarak maksimal yang harus dihasilkan adalah kurang dari 3 Å. Salah satu residu hidrofobik yang jaraknya paling dekat adalah residu Ala217 dengan jarak 3,21 Å.

Senyawa β -mangostin membentuk ikatan hidrogen dengan residu Lys285, Ala217, dan Ser215 pada setiap penambatan berulang. Ikatan hidrogen yang terbentuk dengan residu Lys285 terjadi karena pada cabang nomor 6 dimana terikat gugus hidroksi berinteraksi dengan gugus nitrogen dari residu Lys285. Ikatan hidrogen yang terbentuk dengan residu Ala217 terjadi karena atom O10 dikelilingi oleh residu Ala217 sehingga memungkinkan untuk terbentuk ikatan tersebut. Jarak ikatan hidrogen yang terbentuk sebesar 2,28 Å dengan residu Ala217 dan 2,04 Å dengan residu Lys285.

Senyawa γ -mangostin membentuk ikatan hidrogen tidak pada salah satu situs aktif PfENR, melainkan pada residu Gly112, Gly106, dan Asp107. Meskipun tidak terikat pada salah satu sisi aktif PfENR, γ -mangostin kemungkinan masih memiliki interaksi hidrofobik. Interaksi hidrofobik dapat terjadi karena γ -mangostin masuk pada celah dimana residu-residu hidrofobik dari situs aktif PfENR berada disekeliling senyawa tersebut. Dengan menggunakan bantuan program PyMOL, jarak antar ikatan yang terdekat diukur. Hasil pengukuran jarak tersebut adalah pada residu Ala217 memiliki jarak sebesar 2,92 Å dan pada residu Lys285 memiliki jarak sebesar 3,30 Å.

Dari ketiga senyawa yang ditambatkan pada PfENR, α -mangostin memberikan hasil penambatan molekuler terbaik karena pada satu proses

penambatan menunjukkan adanya *cluster* yang signifikan (*cluster* terbaik) serta menempati urutan pertama (penambatan terbaik). Pada program AutoDock, konformasi α -mangostin terbaik memiliki nilai energi bebas pengikatan sebesar $-9,76 \text{ kkal mol}^{-1}$ dengan nilai konstanta inhibisi (K_i) sebesar $70,68 \text{ nM}$. Pada program AutoDock Vina dan GOLD, α -mangostin memiliki nilai energi bebas pengikatan sebesar $-9,80 \text{ kkal mol}^{-1}$ dan memiliki nilai GOLDScore sebesar $49,991$. Pada program AutoDock Vina, α -mangostin tidak membentuk ikatan hidrogen pada salah satu situs aktif PfENR. Ikatan hidrogen yang terbentuk hanya terjadi pada residu Tyr111. Pada program ini, α -mangostin kemungkinan hanya terjadi interaksi hidrofobik yang diperkuat dengan satu ikatan hidrogen. Pada program GOLD, α -mangostin membentuk ikatan hidrogen pada residu Asn218 dan Ala217. Hasil penambatan molekuler dari kedua program tersebut semakin mendukung bahwa α -mangostin memberikan hasil penambatan terbaik. Pemilihan α -mangostin sebagai hasil penambatan terbaik berdasarkan pada nilai energi bebas pengikatan dan nilai konstanta inhibisi terkecil, serta *cluster* yang dihasil bersifat konvergen dan ikatan hidrogen yang terjadi situs aktif PfENR dapat memperkuat interaksi hidrofobik yang terjadi dalam situs aktifnya.

Hasil penambatan molekuler terbaik kedua pada PfENR adalah β -mangostin. Hasil penambatan senyawa ini tidak konvergen, yaitu jumlah *cluster* yang signifikan (*best cluster*) tidak menempati urutan pertama (*best docking*). Konformasi β -mangostin terbaik dianalisis berdasarkan *best docking* dan *best cluster*. Dari hasil analisis, konformasi β -mangostin terbaik dipilih berdasarkan *best cluster* karena membentuk ikatan hidrogen pada setiap proses penambatan berulang. Sedangkan, jika memilih berdasarkan *best cluster*, β -mangostin tidak membentuk ikatan hidrogen sama sekali. Pada program AutoDock, konformasi β -mangostin terbaik memiliki nilai energi bebas pengikatan sebesar $-8,95 \text{ kkal mol}^{-1}$ dengan nilai konstanta inhibisi (K_i) sebesar $276,88 \text{ nM}$. Pada program AutoDock Vina dan GOLD, β -mangostin memiliki nilai energi bebas pengikatan sebesar $-9,6 \text{ kkal mol}^{-1}$ dan memiliki nilai GOLDScore sebesar $28,0934$. Pada program AutoDock Vina dan GOLD, hasil

penambatan molekuler β -mangostin memberikan hasil tempat ikatan yang sama, yaitu pada residu Ala217 dan Tyr111 pada proses penambatan berulang.

Hasil penambatan molekuler terbaik ketiga dan sekaligus menjadi urutan terakhir adalah γ -mangostin. Salah satu hasil penambatan senyawa ini ada yang konvergen, sehingga konformasi γ -mangostin terbaik dipilih dari hasil tersebut. Pada program Autodock, konformasi γ -mangostin terbaik memiliki nilai energi bebas pengikatan sebesar $-9,44 \text{ kkal mol}^{-1}$ dengan nilai konstanta inhibisi sebesar 119,9 nM. Pada program Autodock Vina dan GOLD, γ -mangostin memiliki nilai energi bebas pengikatan sebesar $-9,8 \text{ kkal mol}^{-1}$ dan memiliki nilai GOLDScore sebesar 40,3566. Pada program AutoDock Vina dan GOLD, hasil penambatan molekuler γ -mangostin memberikan hasil tempat ikatan yang sama, yaitu pada residu Ala217 dengan ikatan hidrogen tambahan pada residu Gly104 dan Ser317.

Hasil penambatan molekuler ketiga senyawa tersebut dapat dibandingkan dengan hasil penambatan molekuler kontrol positif yang digunakan. Dalam penelitian ini, kontrol positif yang digunakan adalah halofantrin sebagai kontrol positif untuk enzim plasmepsin dan Triklosan sebagai kontrol positif PfENR.

Hasil penambatan molekuler halofantrin pada plasmepsin menggunakan program Autodock dan AutoDock Vina menunjukkan bahwa senyawa tersebut membentuk ikatan hidrogen pada residu Ser79. Residu tersebut merupakan rantai samping dari situs aktif Plasmepsin. Hasil penambatan molekuler yang lebih baik didapatkan dari program GOLD. Pada program GOLD, halofantrin membentuk ikatan hidrogen pada residu Asp34, Ser79, dan Thr217 pada setiap proses penambatan berulang. Jarak ikatan hidrogen yang terbentuk adalah dengan Asp34 memiliki jarak sebesar $2,828 \text{ \AA}$, dengan Ser79 memiliki jarak $2,734 \text{ \AA}$, dan dengan Thr217 memiliki jarak $2,702 \text{ \AA}$. Konformasi terbaik hasil penambatan halofantrin dapat dilihat pada Gambar 4.10, Gambar 4.11, dan Gambar 4.12.

Halofantrin memberikan hasil penambatan yang baik karena pada satu proses penambatan menunjukkan adanya *cluster* yang signifikan (*cluster*

terbaik) serta menempati urutan pertama (penambatan terbaik). Pada program AutoDock, konformasi halofantrin terbaik memiliki nilai energi bebas pengikatan sebesar $-7,58 \text{ kcal mol}^{-1}$ dengan nilai konstanta inhibisi (K_i) sebesar $2,8 \mu\text{M}$. Pada program AutoDock Vina dan GOLD, halofantrin memiliki nilai energi bebas pengikatan sebesar $-5,6 \text{ kcal mol}^{-1}$ dan memiliki nilai GOLDScore sebesar 31,7459.

Hasil penambatan molekuler triklosan pada PfENR menggunakan program AutoDock dan AutoDock Vina menunjukkan bahwa senyawa tersebut membentuk ikatan hidrogen tidak pada salah satu situs aktif PfENR. Ikatan hidrogen terbentuk dengan residu Trp131 dan Gly106. Pada program GOLD, ikatan hidrogen yang terbentuk tidak terlalu berbeda, yaitu pada residu Trp131, Ile105, Ser215, dan Gly104 pada setiap proses penambatan berulang. Meskipun tidak membentuk ikatan hidrogen pada situs aktif PfENR, triklosan dikelilingi oleh residu-residu hidrofobik dari situs aktif tersebut, sehingga memungkinkan terjadinya interaksi hidrofobik. Jarak triklosan dengan residu hidrofobik terdekat adalah dengan residu Ala217 yang memiliki jarak $4,40 \text{ \AA}$. Konformasi terbaik hasil penambatan triklosan dapat dilihat pada Gambar 4.10, Gambar 4.11, dan Gambar 4.12.

Triklosan memberikan hasil penambatan yang baik karena pada satu proses penambatan menunjukkan adanya *cluster* yang signifikan (*cluster* terbaik) serta menempati urutan pertama (penambatan terbaik). Pada program Autodock, konformasi triklosan terbaik memiliki nilai energi bebas pengikatan sebesar $-7,63 \text{ kcal mol}^{-1}$ dengan nilai konstanta inhibisi (K_i) sebesar $2,54 \mu\text{M}$. Pada program Autodock Vina dan GOLD, triklosan memiliki nilai energi bebas pengikatan sebesar $-7,6 \text{ kcal mol}^{-1}$ dan memiliki nilai GOLDScore sebesar 33.5939

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Pada proses penambatan molekuler, ditemukan adanya interaksi terbaik antara enzim plasmepsin dan reduktase protein pembawa enoil asil *Plasmodium falciparum* dengan senyawa α -mangostin. Pada enzim plasmepsin, interaksi dengan α -mangostin memiliki nilai ΔG sebesar $-8,48$ kkal mol⁻¹ serta nilai konstanta inhibisi $603,30$ nM dan disertai adanya ikatan-ikatan hidrogen yang terikat pada situs aktif plasmepsin, yaitu Asp34 dan Asp214. Pada reduktase protein pembawa enoil asil *Plasmodium falciparum*, interaksi dengan α -mangostin memiliki nilai ΔG sebesar $-9,76$ kkal mol⁻¹ serta nilai konstanta inhibisi $70,68$ nM, dan disertai adanya ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik yang dibentuk pada situs aktif, yaitu Ala217 dan Lys285.

5.2 Saran

1. Untuk memprediksi inhibisi enzim plasmepsin dan PfENR dengan metode penambatan molekuler, dapat dicoba mengubah algoritme, atau parameter dengan program yang memiliki kemampuan lebih baik.
2. Posisi yang didapatkan dari hasil penambatan molekuler pada enzim plasmepsin dan PfENR dapat digunakan dalam simulasi dinamika molekuler sehingga dapat memahami stabilitas dari kompleks enzim-inhibitor yang terbentuk.

DAFTAR ACUAN

- A, Cafilisch, Friedman R. (2009). Discovery of Plasmeptin Inhibitors by Fragment-Based Docking and Consensus Scoring. *ChemMedChem*. 4(8):1317-1326.
- Akao, Yukihiro, Yoshihito Nakagawa, Munekazu Iimuna, Yoshinori Nozawa. 2008. Anti-Cancer Effects of Xanthenes from Pericarps of Mango (Andry, 2009)steen. *Int. J. Mol. Sci.* **9**:355-370
- Andry. (2010). Penelitian *In Silico*. Diunduh tanggal 10 Januari 2010 pukul 16.58 dari <http://andrykidd.wordpress.com/2009/04/27/penelitian-in-silico/>
- Bioenergetik dan Metabolisme*. (2007). Diunduh 3 Juni 2010 dari www.usu.ac.id: <http://e-course.usu.ac.id/content/biologi/biokimia/textbook.pdf>
- Chaverri, J. P., Noemi C. R., Marisol O. I., Jazmin M. Perez-Rojas. (2008) Medical Properties of Mangosteen (*Garcinia mangostana*). *Food and Chemical Toxicolog.* **46**:3227-3239
- Cygwin User's Guide*. (2010). Diunduh tanggal 10 Januari 2010 pukul 19.44 dari <http://www.cygwin.com/cygwin-ug-net/cygwin-ug-net.html>
- Gupta, D. R. (2010). Mechanism-Based Inhibitors of the Aspartyl Protease Plasmeptin II as Potential Antimalarial Agents. *Medicinal Chemistry* , 4234-4247.
- Harmita, Yahdiana Harahap, Hayun. (2006). Buku Ajar Kimia Medisinal. Cipta Kreasi Bersama: Jakarta.
- Istyastono, Enade Perdana. (2007). Peran Komputer Dalam Penemuan Obat. Diunduh tanggal 10 januari 2010 pukul 16.58 dari <http://andrykidd.wordpress.com/2009/04/27/penelitian-in-silico/>
- Karla, B.S., S. Chawla, P. Gupta, N. Valecha. (2006). Screening Of Antimalarial Drugs : An overview. *Indian J Pharmacol.* **38**: 5-12.
- Kosem, Nuttavut, Yoon-Hee Han, Primchanien Moongkarndi. (2007). Antioxidant and Cytoprotective Activities of Methanolic Extract from *Garcinia mangostana* Hulls. *Science Asia.* **33**: 283-292.

Kyle, Dennis E., Suping Jiang, Sean T. Prigge, Lan Wei, Yu-E Gao, Thomas H. Hudson, Lucia Gerena, John B. Dame. (2001). New Class of Small Nonpeptidyl Compounds Blocks *Plasmodium falciparum* Development In Vitro by Inhibiting Plasmeprins.

Malaria. (2005). Diunduh tanggal 20 Januari 2010 pukul 20.13 dari <http://www.infeksi.com/articles.php?lng=in&pg=46>

MangosteenMD : Xanthone. (2010). Diunduh tanggal 9 januari 2010 pukul 22.47 dari <http://mangosteenmd.com/history/xanthone>.

Molecular Modelling and Simulation. (2010). Diunduh tanggal 2 Januari 2010 pukul 21.02 dari http://www.chemcomp.com/print/moe-mol_2008.pdf

Moongkarndi, P., et al. (2004). Antiproliferation, Antioxodation and Induction of Apoptosis by *Garcinia Mangostana* (Mangosteen) on SKBR3 Human Breast Cancer Cell Line. *Journal of Etnopharmacology*. **90**:161-166.

Moreno, Edinson Lucumi. (2005). Structural Determination of Triclosan Derivatives as Inhibitors of *Plasmodium falciparum* Enoyl Reductase (PfENR).

Morris. (2010). *Autodock*. Diunduh tanggal 5 januari 2010 pukul 11.07 dari <http://autodock.scripps.edu/>

Murray, R., et al. (2003). *Harper's Illustrated Biochemistry* (26th ed.). New York: McGraw Hill Companies.

Ojanen, Janne, Kaapro Aatu. (2002). Protein Docking. Diunduh tanggal 18 Januari 2010 pukul 09.43 dari <http://www.lce.hut.fi/teaching/S-114.500/k2002/Protdock.pdf>

Olson, Arthur J., et al. (2001). Automated Docking Of Flexible Ligand To Receptors version 3.0.5. Diunduh tanggal 5 januari 2010 pukul 11.05 dari http://autodock.scripps.edu/faqs-help/manual/autodock-3-user-guide/AutoDock3.0.5_UserGuide.pdf

Orengo, Christine., David Jones., Janet Thornton. (2003). Bioinformatics: Genes, proteins, and computers. BIOS Scientific Publisher: New York. Hal: 213.

Universitas Indonesia

Osman, M., & Milan, A. (2006). Mangosteen-Garcinia mangostana. *Southampton for Underutilised Crops*, 1-3.

Plasmepsins. (2010). Diunduh tanggal 21 januari 2010 pukul 00.19 dari <http://wisdom.eu-egee.fr/malaria/plasmepsins.pdf>

Protein Data Bank Contents Guide : Atomic Coordinate Entry Format Description Version 3.20. (2008). Diunduh tanggal 19 Januari 2010 pukul 09.48 dari http://www.wwpdb.org/documentation/Format_v32_letter.pdf

Pymol Molecular Viewer. (2009). Diunduh tanggal 5 januari 2010 pukul 17.06 dari <http://pymol.org/#3>

Reseptor sebagai target aksi obat. (2010). Diunduh tanggal 02 Juli 2010 dari <http://zulliesikawat.staff.ugm.ac.id>

Sari, D. M. (2007). *Struktur Protein*. Universitas Sumatera Utara.

Suguna, K., Kesavulu, M. M., Ramya, T. N., Gowda, A. S., & Surolia, N. (2010). Plasmepsin Inhibitors: design, synthesis, inhibitory studies and crystal structure analysis.

Suksamrarn, S, et al. (2006). Cytotoxic Prenylated Xanthenes from the Young Fruit of *Garcinia mangostana*. *Chem, Pharm, Bull*, 54(3) 301-305.

Sundaram, Anantha, Venkat Venkatasubramanian. (1998). Parametric Sensitivity and Search Space Characterization Studies of Genetic Algorithms for Computer-Aided Polymer Design. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 38: 1177-1191.

Surolia, A., Kapoor, M., Gopalakrishnapai, J., & Surolia, N. (2004). Mutational Analysis of The Triclosan-Binding Region of Enoyl-ACP Reductase from *Plasmodium falciparum*.

The CCP4 Suite : Programs For Protein Crystallography. (2010). Diunduh tanggal 19 Januari 2010 pukul 09.56 dari <http://scripts.iucr.org/cgi-bin/paper?S0907444994003112>

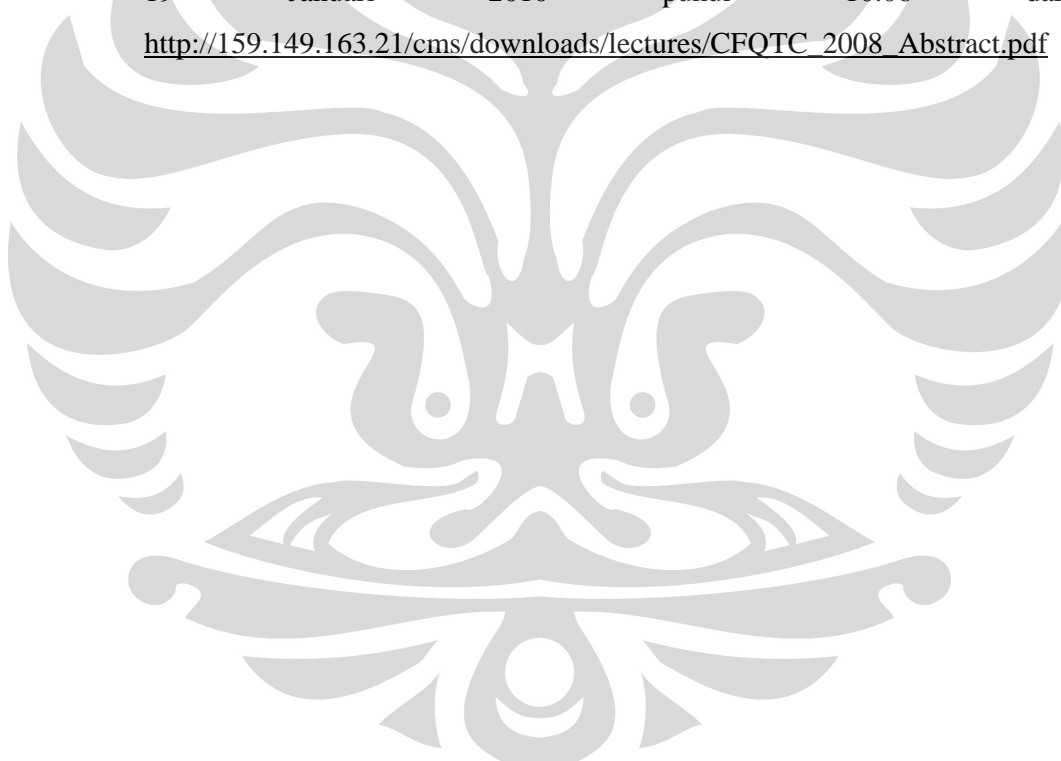
The Use Of Antimalarial Drugs. (2010). Diunduh tanggal 18 Januari 2010 pukul 18.41 dari <http://www.rollbackmalaria.org/cmc>

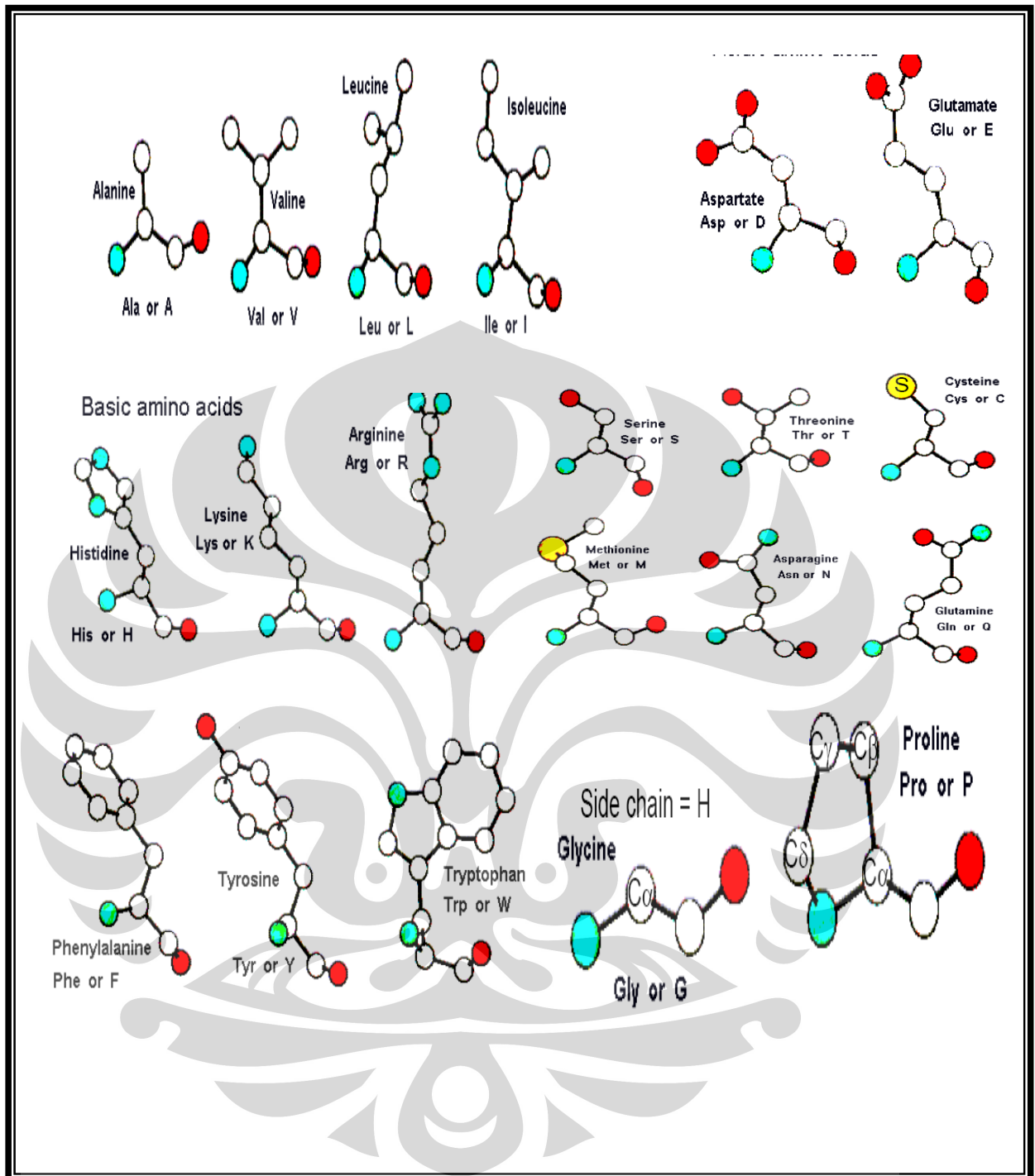
Tiikkainen, P. (2010). Study of Ligand-Based Virtual Screening Tools in Computer-Aided Drug Design. *Medica-Odontologica* , 1-98.

Trott, O., & Olson, A. (2009). Software News and Update Autodock Vina: Improving The Speed and Accuracy of Docking with a New Scoring Function, Efficient Optimization, and Multithreading. *Journal of Computational Chemistry* , 0, 1-7.

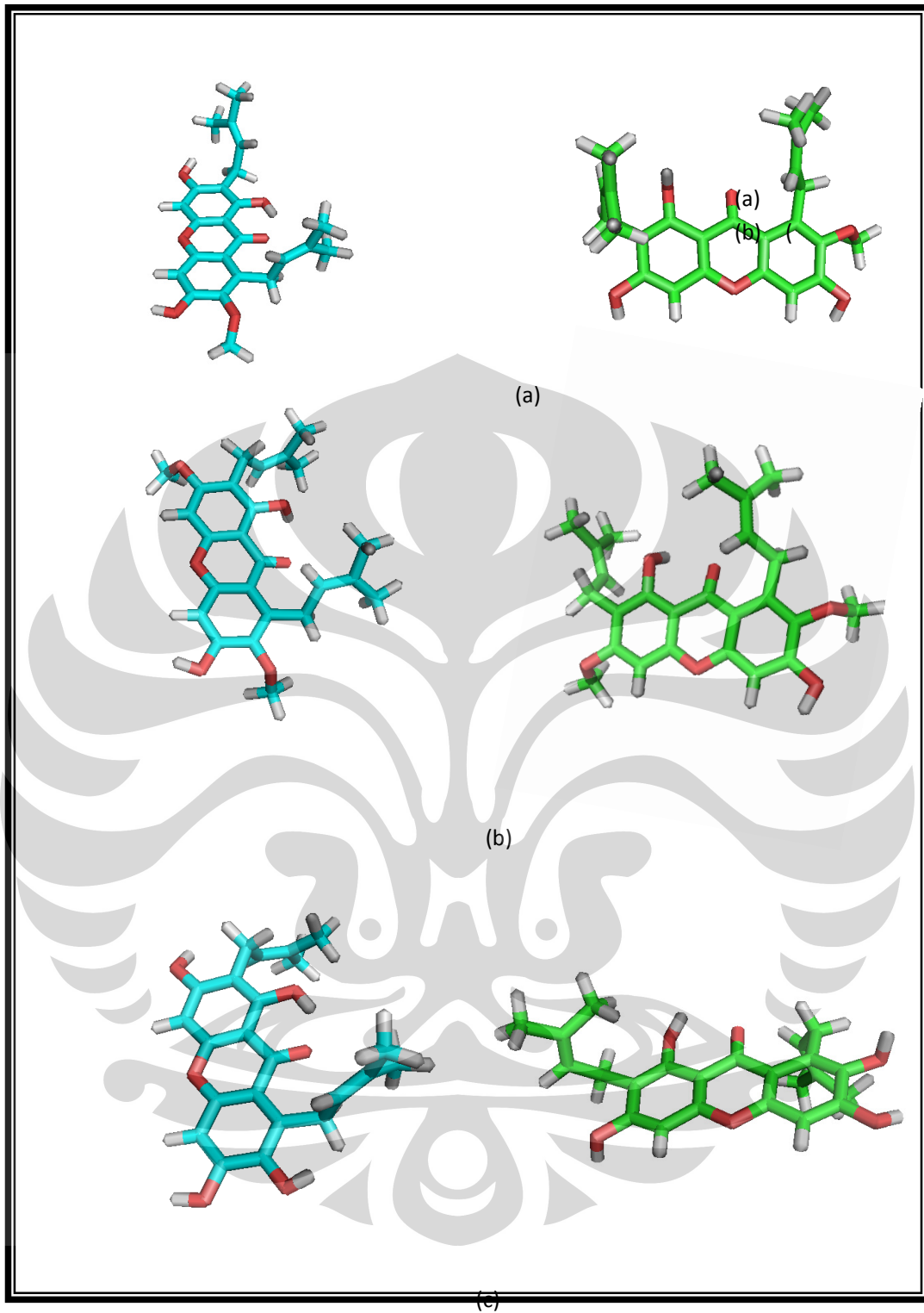
UCSF CHIMERA : An Extensible Molecular Modelling System. (2010). Diunduh tanggal 7 Januari 2010 pukul 08.41 dari <http://www.cgl.ucsf.edu/chimera/>

Vistoli, Giulio, Alessandro Pedretti, Angelica Mazzolari. (2010). VegaZZ : A Versatile Tool Kit For Drug Design and Protein Modelling. Diunduh tanggal 19 Januari 2010 pukul 10.06 dari http://159.149.163.21/cms/downloads/lectures/CFQTC_2008_Abstract.pdf

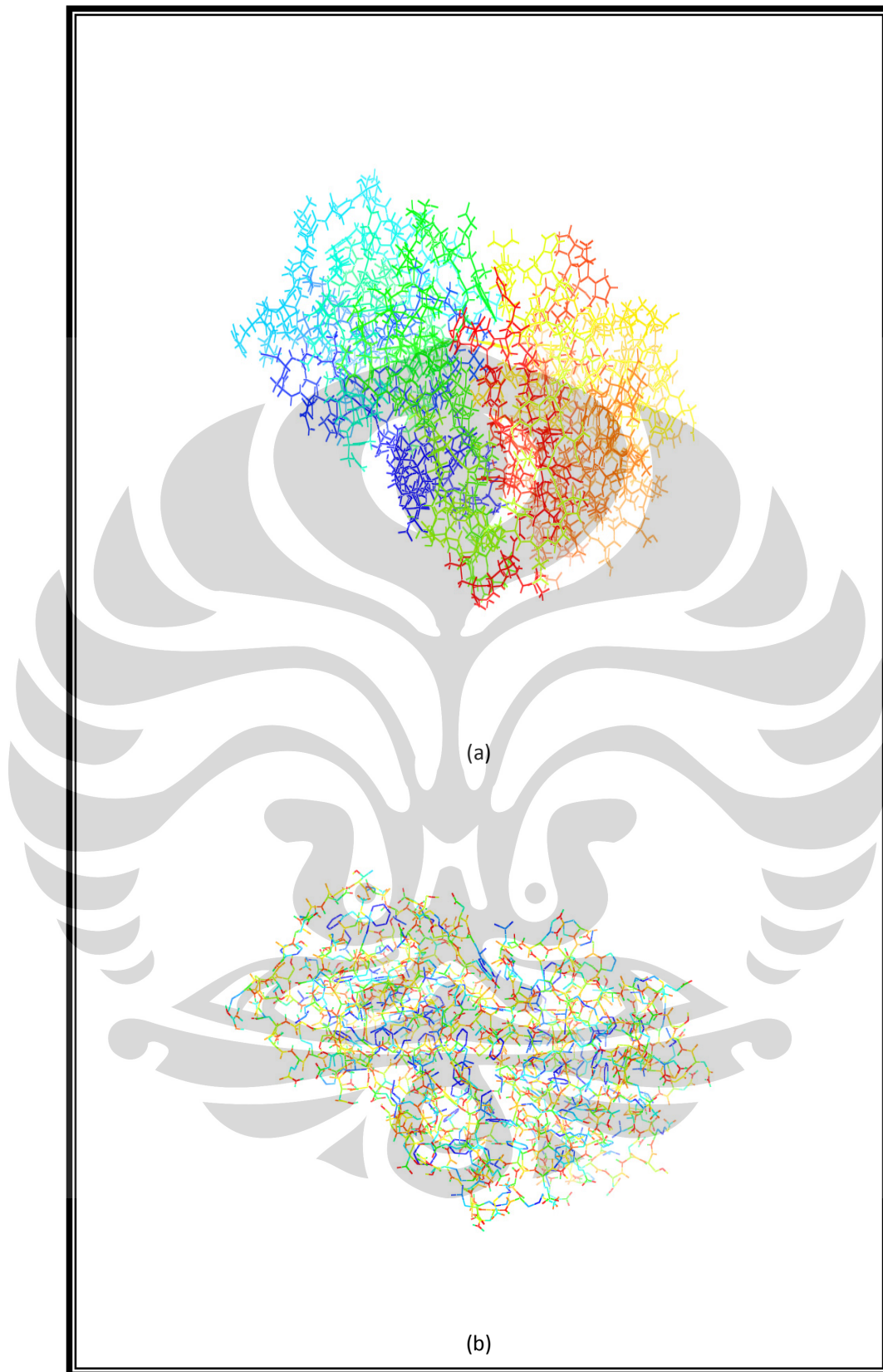




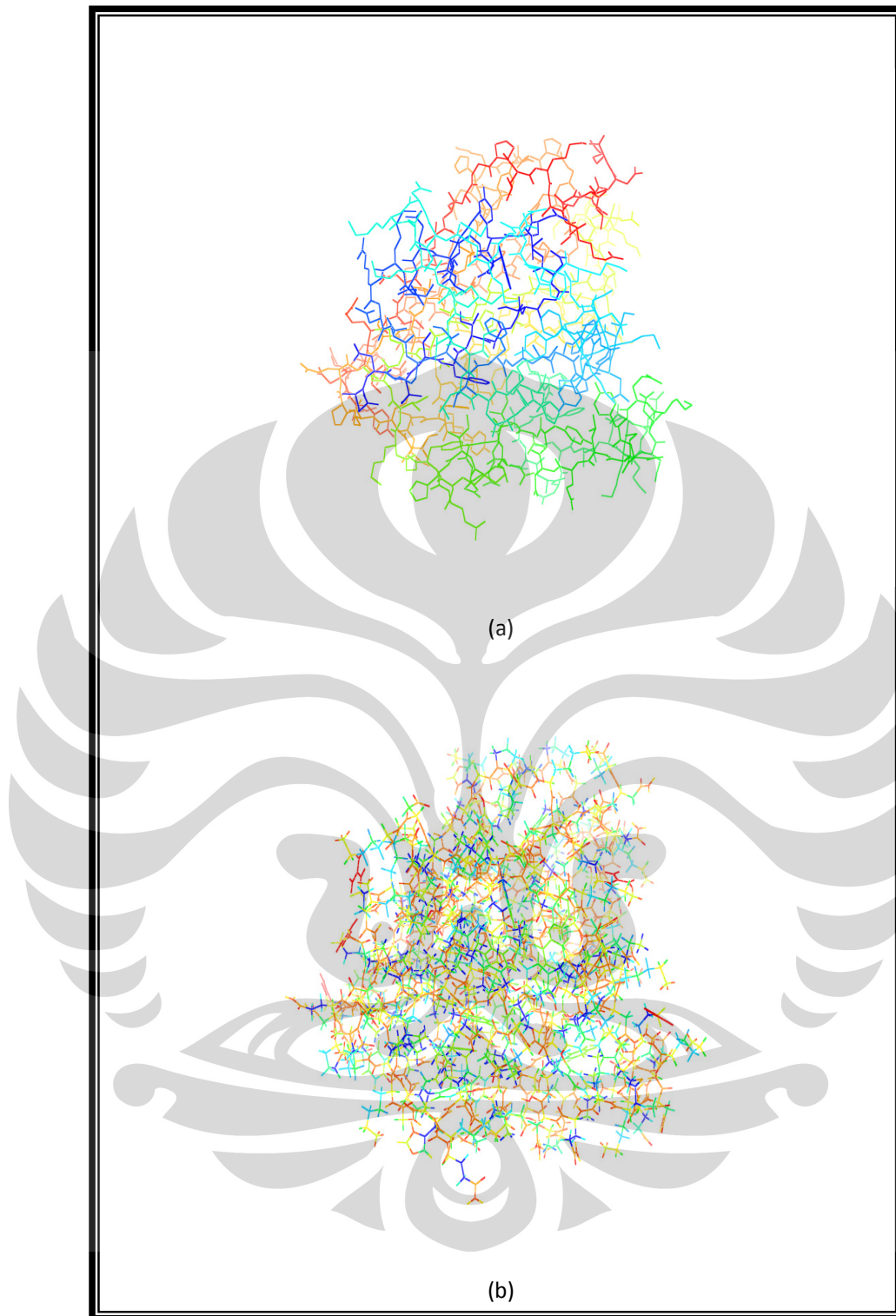
Gambar 2.5. 20 jenis asam amino penyusun protein (Sari, 2007)



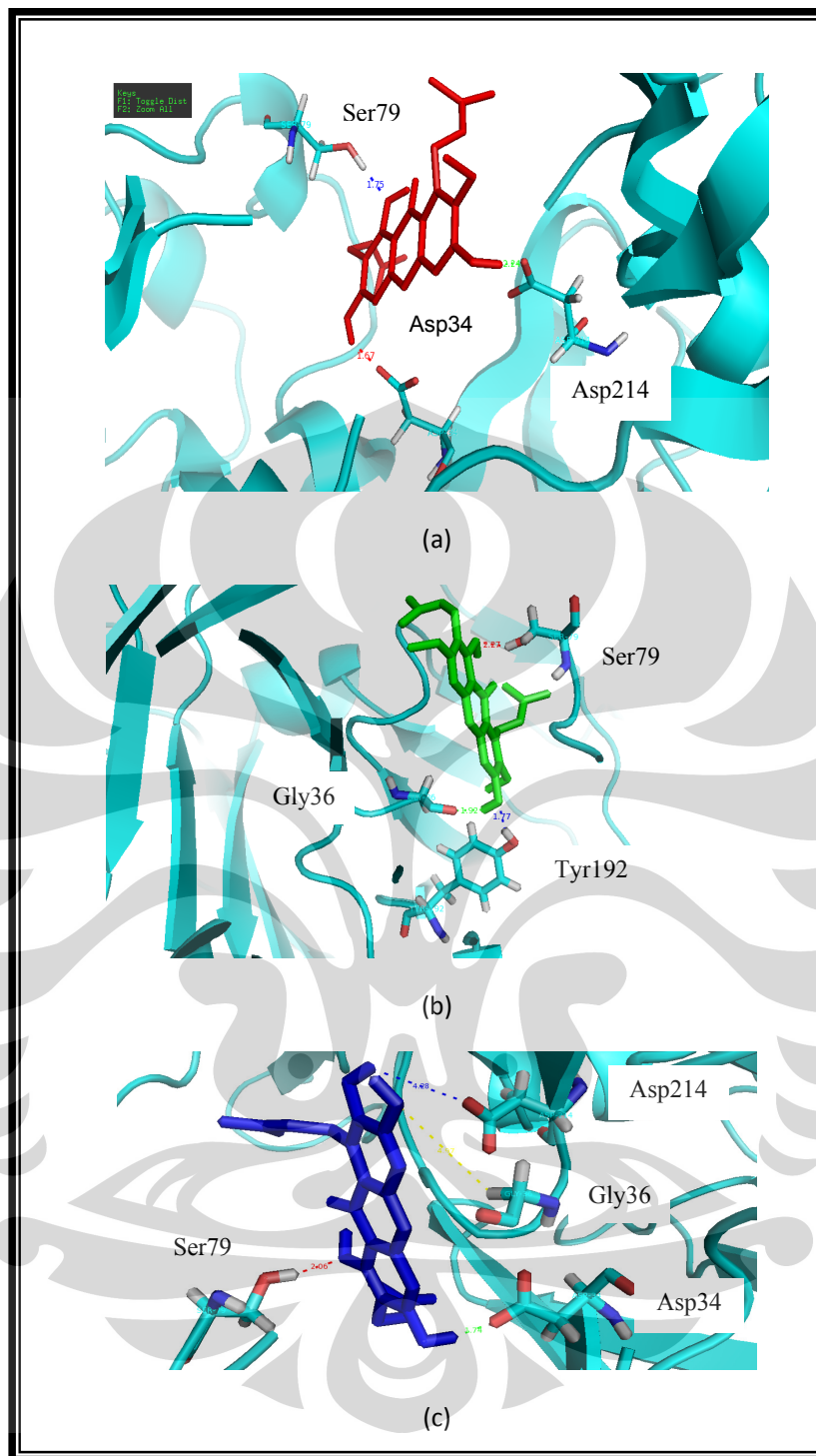
Gambar 4.1. Struktur tiga dimensi (a) α -mangostin, (b) β -mangostin, dan (c) γ -mangostin, sebelum (biru) dan sesudah (hijau) dioptimasi



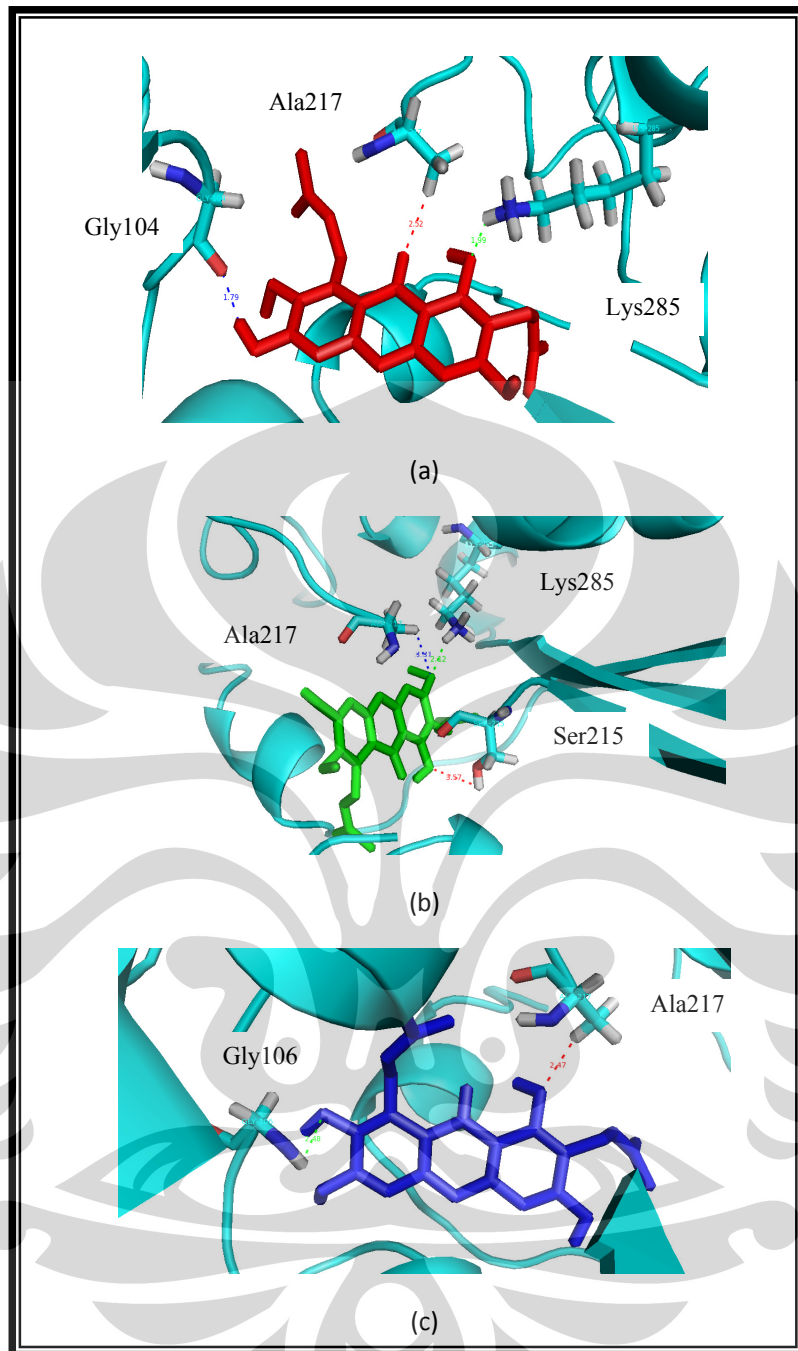
Gambar 4.2. Makromolekul 1LEE (a) sebelum dioptimasi dan (b) sesudah dioptimasi



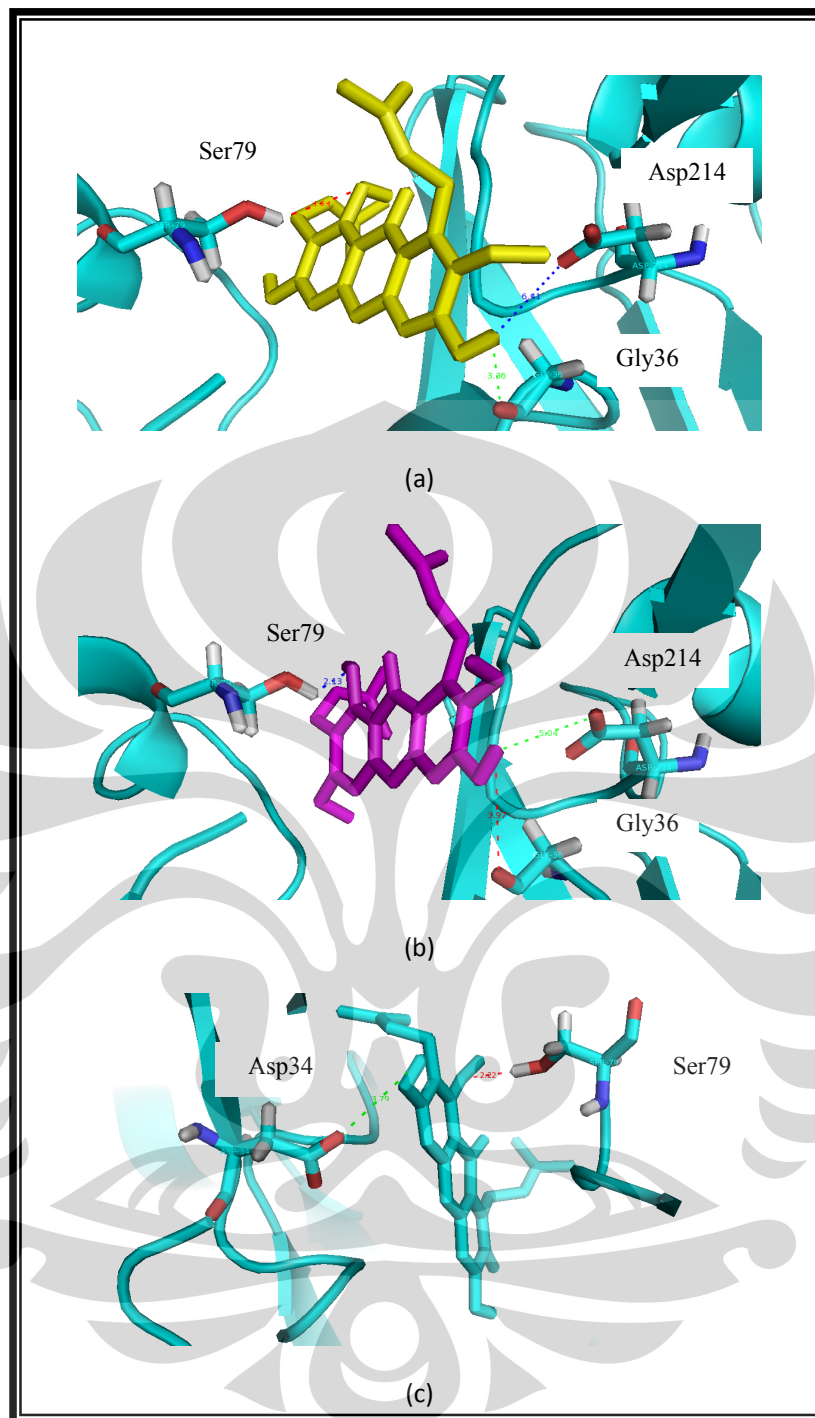
Gambar 4.3. Makromolekul 1NHG *chain A* (a) sebelum dioptimasi dan (b) sesudah dioptimasi



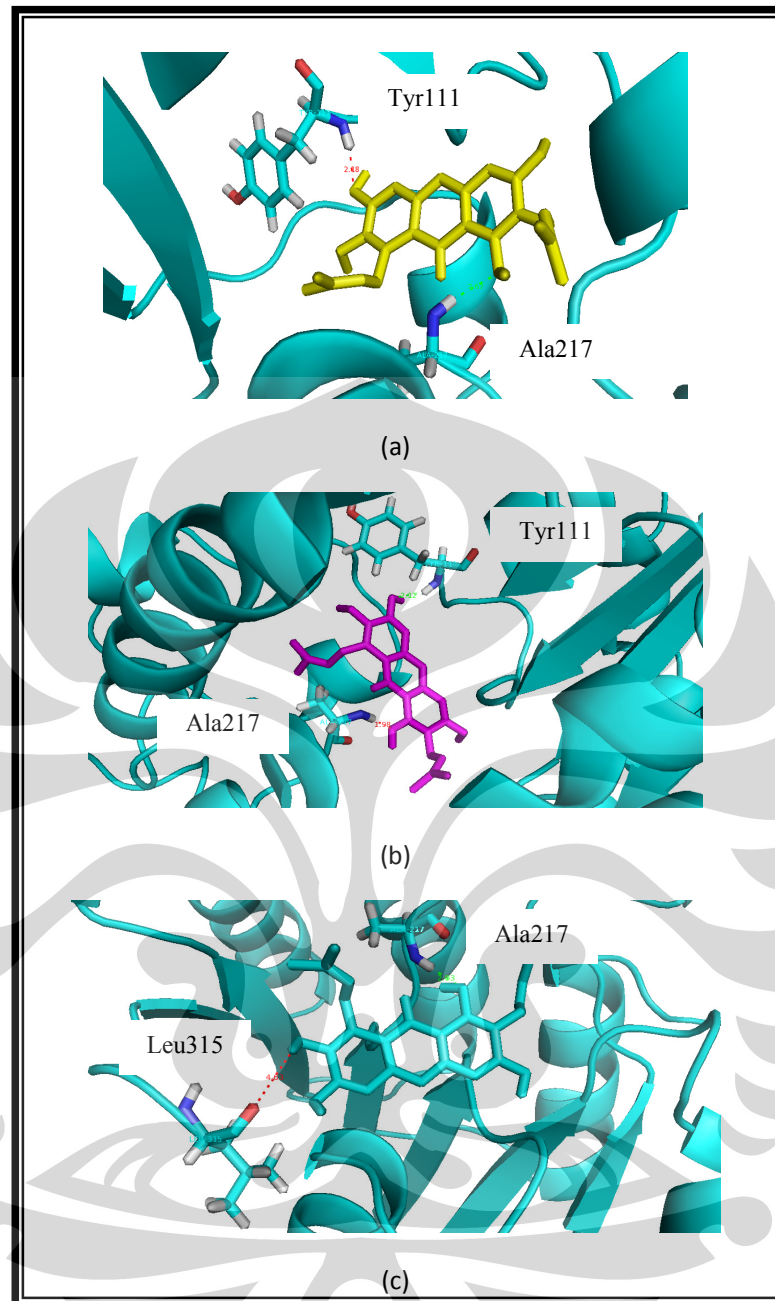
Gambar 4.4. Hasil penambatan molekuler AD4 pada target 1LEE dengan ligan (a) α -mangostin, (b) β -mangostin, dan (c) γ -mangostin



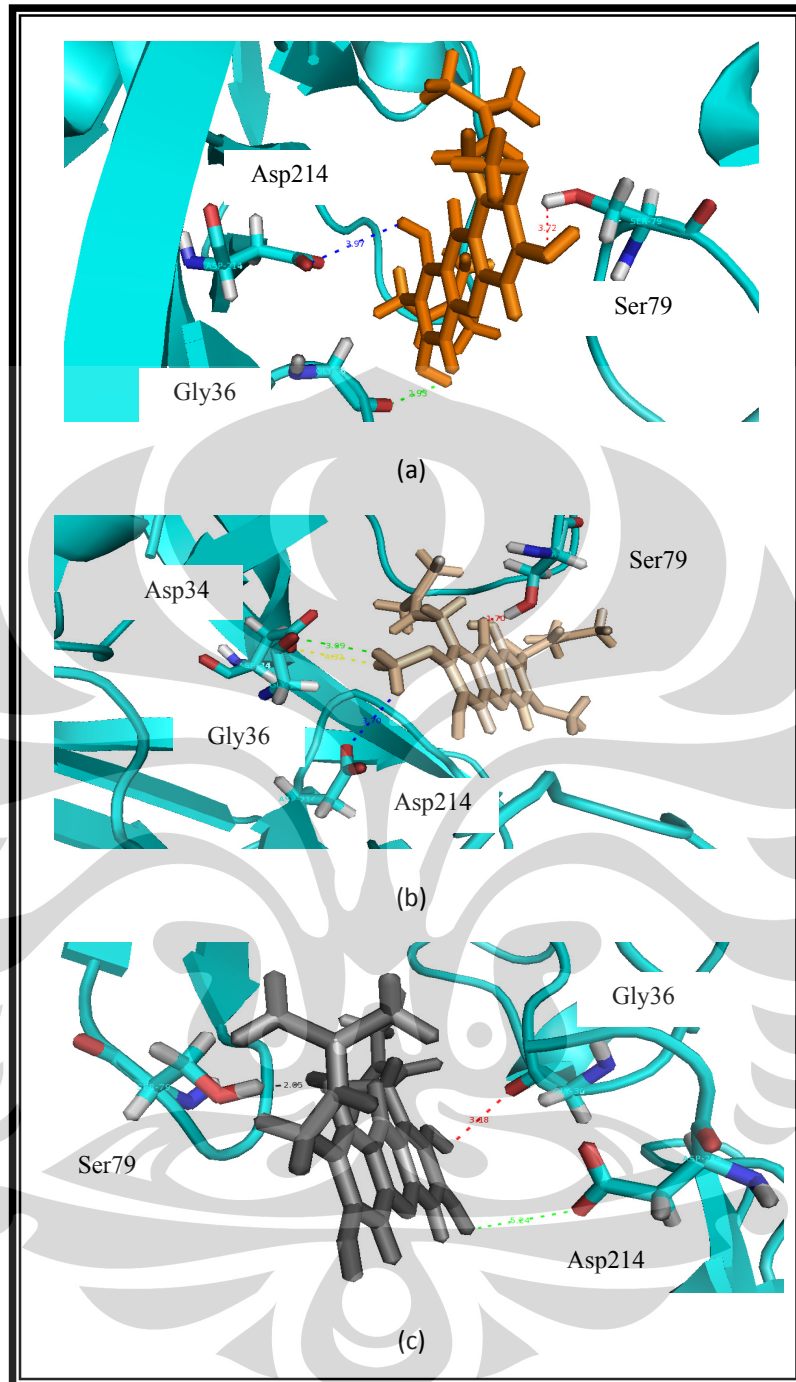
Gambar 4.5. Hasil Penambatan Molekuler AD4 pada target 1NHG dengan ligan (a) α -mangostin, (b) β -mangostin, dan (c) γ -mangostin



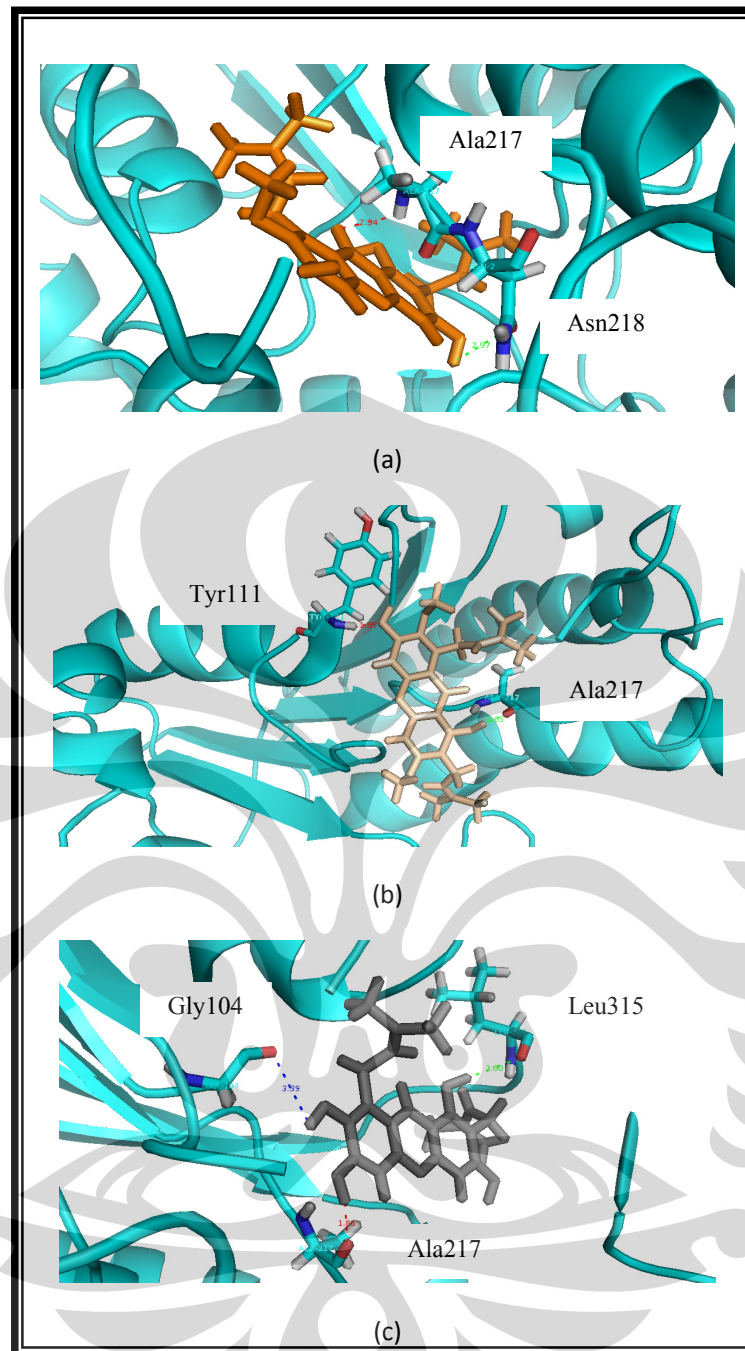
Gambar 4.6. Hasil penambatan molekuler AutoDock Vina pada target 1LEE dengan ligan (a) α -mangostin, (b) β -mangostin, dan (c) γ -mangostin



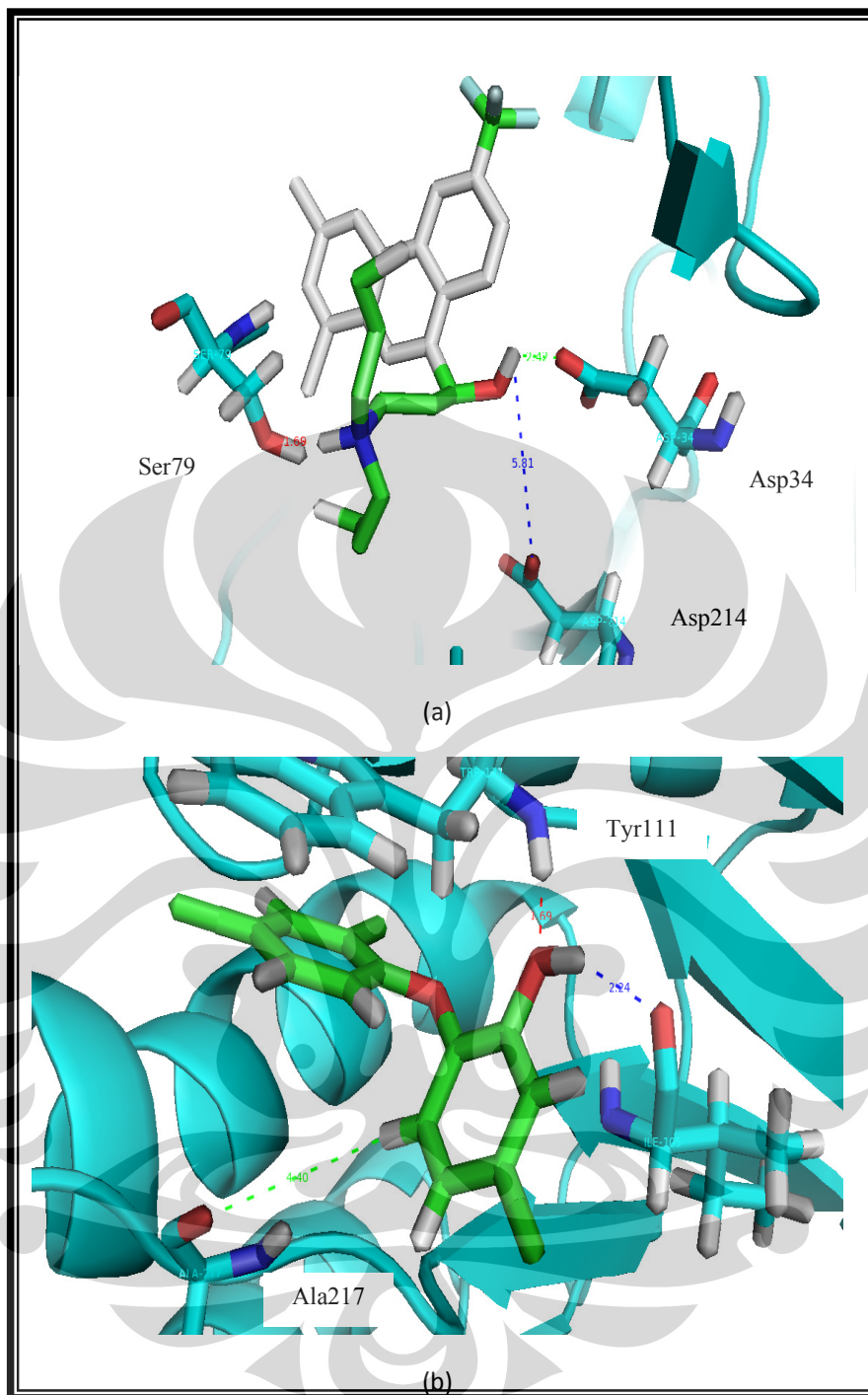
Gambar 4.7. Hasil penambatan molekuler AutoDock Vina pada target 1NHG dengan ligan (a) α -mangostin, (b) β -mangostin, dan (c) γ -mangostin



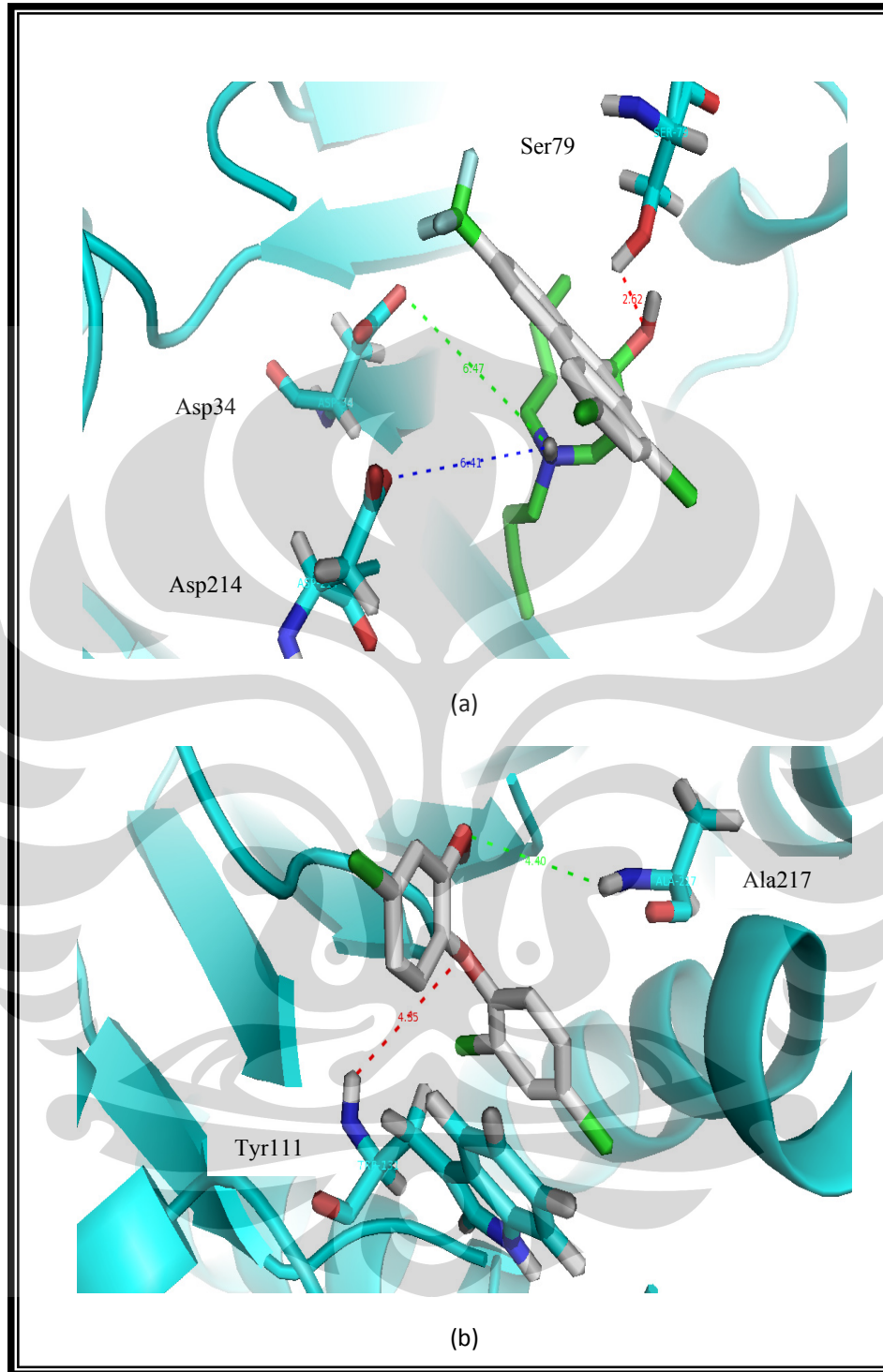
Gambar 4.8. Hasil penambatan molekuler GOLD pada target 1LEE dengan ligan (a) α -mangostin, (b) β -mangostin, dan (c) γ -mangostin



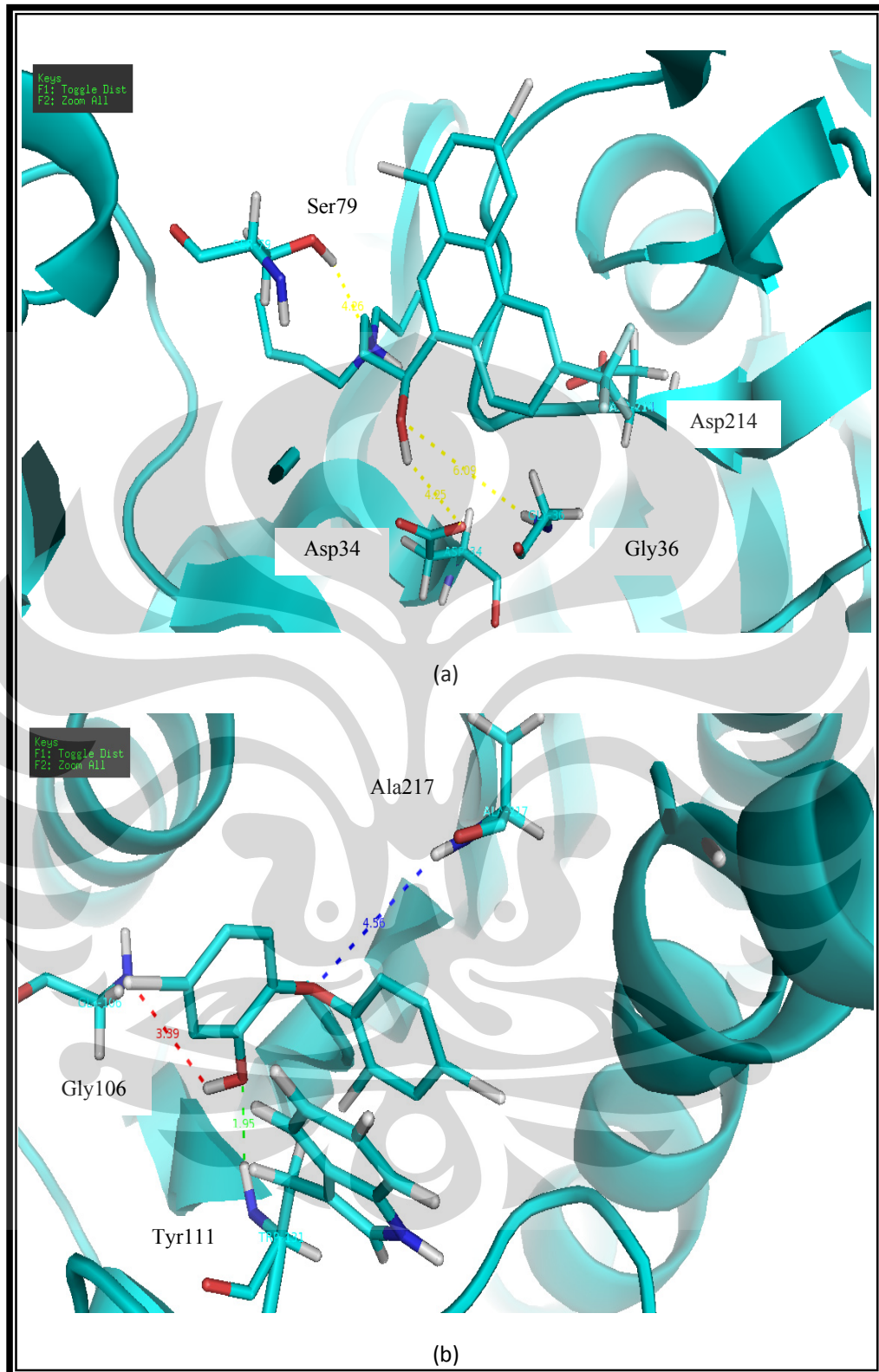
Gambar 4.9. Hasil penambatan molekuler GOLD pada target 1NHG dengan ligan (a) α -mangostin, (b) β -mangostin, dan (c) γ -mangostin



Gambar 4.10. Hasil penambatan molekuler GOLD kontrol positif dengan ligan (a) halofantrin dan (b) triklosan



Gambar 4.11. Hasil penambatan molekuler Vina kontrol positif dengan ligan (a) halofantrin dan (b) triklosan



Gambar 4.12. Hasil penambatan molekuler AD4 kontrol positif dengan ligan (a) halofantrin dan (b) triklosan

Tabel 4.1. Daftar struktur plasmepsin yang tersedia di PDB

Identitas	Resolusi (Å)	Jenis enzim	Subunit	Ligan
1LF4	1,9	Hidrolase	A	
1LEE	1,9	Hidrolase	A	R36
1LF3	2,7	Hidrolase	A	EH58
1LS5	2,8	Hidrolase	A,B	IHN
1LF2	1,8	Hidrolase	A	R37
1SME	2,7	Aspartat Protease	A,B	IHN

Tabel 4.2. Daftar struktur PfENR yang tersedia di PDB

Identitas	Resolusi (Å)	Jenis enzim	Subunit	Ligan
1NHG	2,43	Oksireduktase	A, B, C, D	NAD, TCL
1UH5	2,2	Oksireduktase	A, B	NAD, TCL
2OL4	2,26	Oksireduktase	A, B	NAD, JPN
2NQ8	2,5	Oksireduktase	A, B, C, D	INH-NAD

Tabel 4.3. Data ΔG dan K_i hasil penambatan pada enzim plasmepsin program AD4

Senyawa	Percobaan	ΔG (kcal mol ⁻¹)	K_i
α -mangostin	1	-8,49	596,35 nM
	2	-8,48	603,30 nM
	3	-8,45	639,37 nM
β -mangostin	1	-7,11	6,11 μ M
	2	-7,17	5,57 μ M
	3	-7,15	5,74 μ M
γ -mangostin	1	-8,03	1,30 μ M
	2	-8,04	1,27 μ M
	3	-8,07	1,21 μ M

Tabel 4.4. Data ΔG hasil penambatan pada enzim plasmepsin program Vina

Senyawa	Percobaan	ΔG (kcal mol ⁻¹)
	1	-5,0
α -mangostin	2	-5,0
	3	-5,0
	1	-4,6
β -mangostin	2	-4,6
	3	-4,6
	1	-5,3
γ -mangostin	2	-4,8
	3	-4,8

Tabel 4.5. Data GOLDScore hasil penambatan pada enzim plasmepsin program GOLD

Senyawa	Percobaan	GOLDScore
α -mangostin	1	38,3847
	2	38,4918
	3	38,8354
β -mangostin	1	10,1764
	2	10,7955
	3	10,4562
γ -mangostin	1	26,4528
	2	10,7717
	3	25,4198

Tabel 4.6. Data ΔG dan K_i hasil penambatan pada PfENR program AD4

Senyawa	Percobaan	ΔG (kcal mol ⁻¹)	K_i (nM)
α -mangostin	1	-9,80	92,63
	2	-9,51	107,37
	3	-9,76	70,68
β -mangostin	1	-8,86	320,36
	2	-8,83	337,03
	3	-8,95	276,88
γ -mangostin	1	-9,72	74,56
	2	-9,44	119,9
	3	-9,61	90,41

Tabel 4.7. Data ΔG hasil penambatan pada PfENR program Vina

Senyawa	Percobaan	ΔG (kcal mol ⁻¹)
α -mangostin	1	-9,80
	2	-9,80
	3	-9,80
β -mangostin	1	-9,60
	2	-9,60
	3	-9,60
γ -mangostin	1	-9,80
	2	-9,80
	3	-9,80

Tabel 4.8. Data GOLDScore hasil penambatan pada PfENR program GOLD

Senyawa	Percobaan	GOLDScore
α -mangostin	1	53,3691
	2	57,5293
	3	49,9991
β -mangostin	1	1,7196
	2	32,4730
	3	28,0934
γ -mangostin	1	34,5042
	2	40,3566
	3	36,3507

Tabel 4.9. Data ΔG dan K_i hasil penambatan kontrol positif pada enzim plasmepsin dan PfENR pada program AD4

Senyawa	Percobaan	ΔG (kcal mol ⁻¹)	K_i (μM)
Halofantrin	1	-7,58	2,8
	2	-7,71	2,25
	3	-7,48	3,29
Trikloran	1	-7,64	2,49
	2	-7,63	2,54
	3	-7,61	2,65

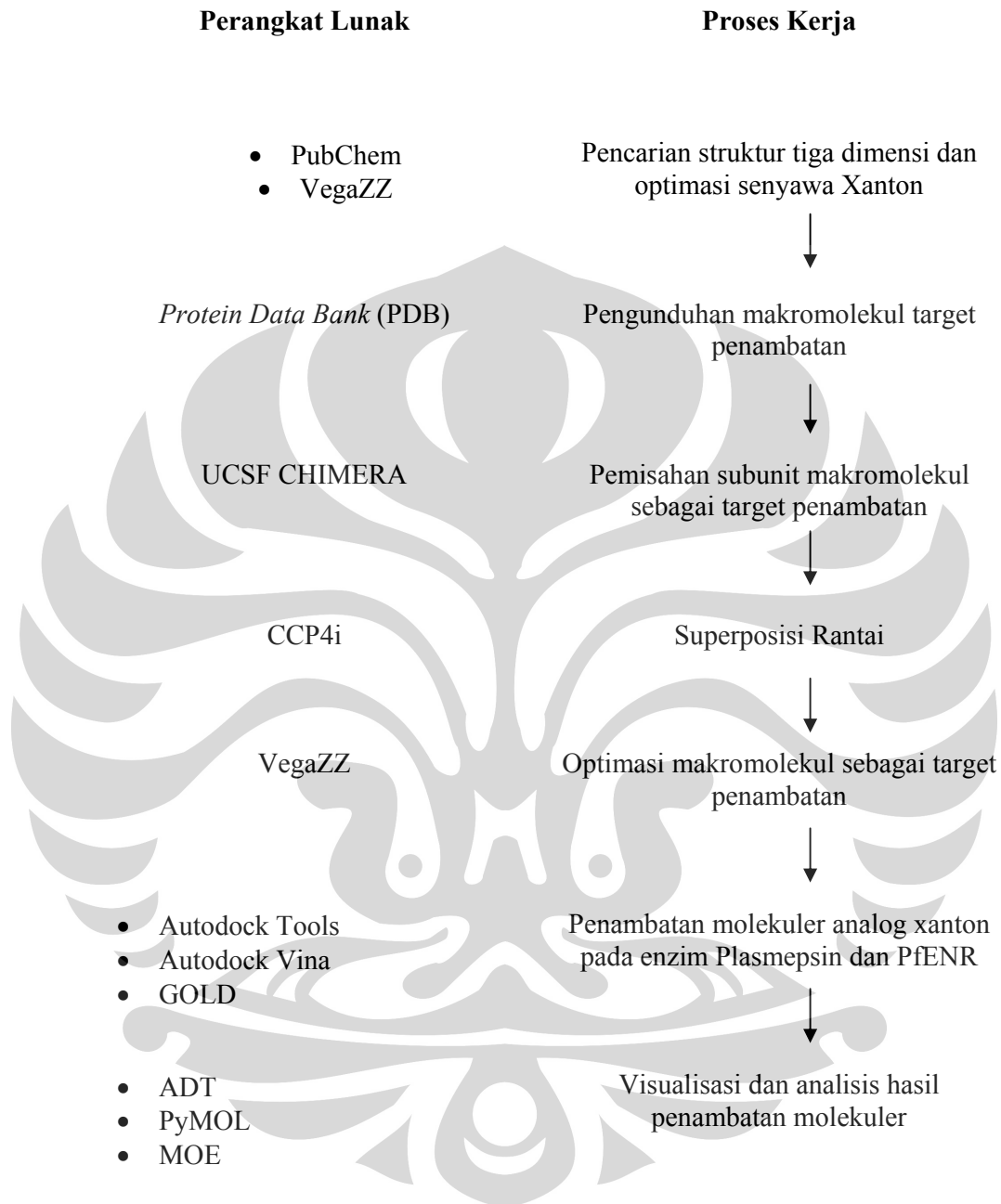
Tabel 4.10. Data ΔG hasil penambatan kontrol positif pada enzim plasmepsin dan PfENR program Vina

Senyawa	Percobaan	ΔG (kcal mol ⁻¹)
Halofantrin	1	-6,1
	2	-5,4
	3	-5,6
Trikloran	1	-7,6
	2	-7,7
	3	-7,6

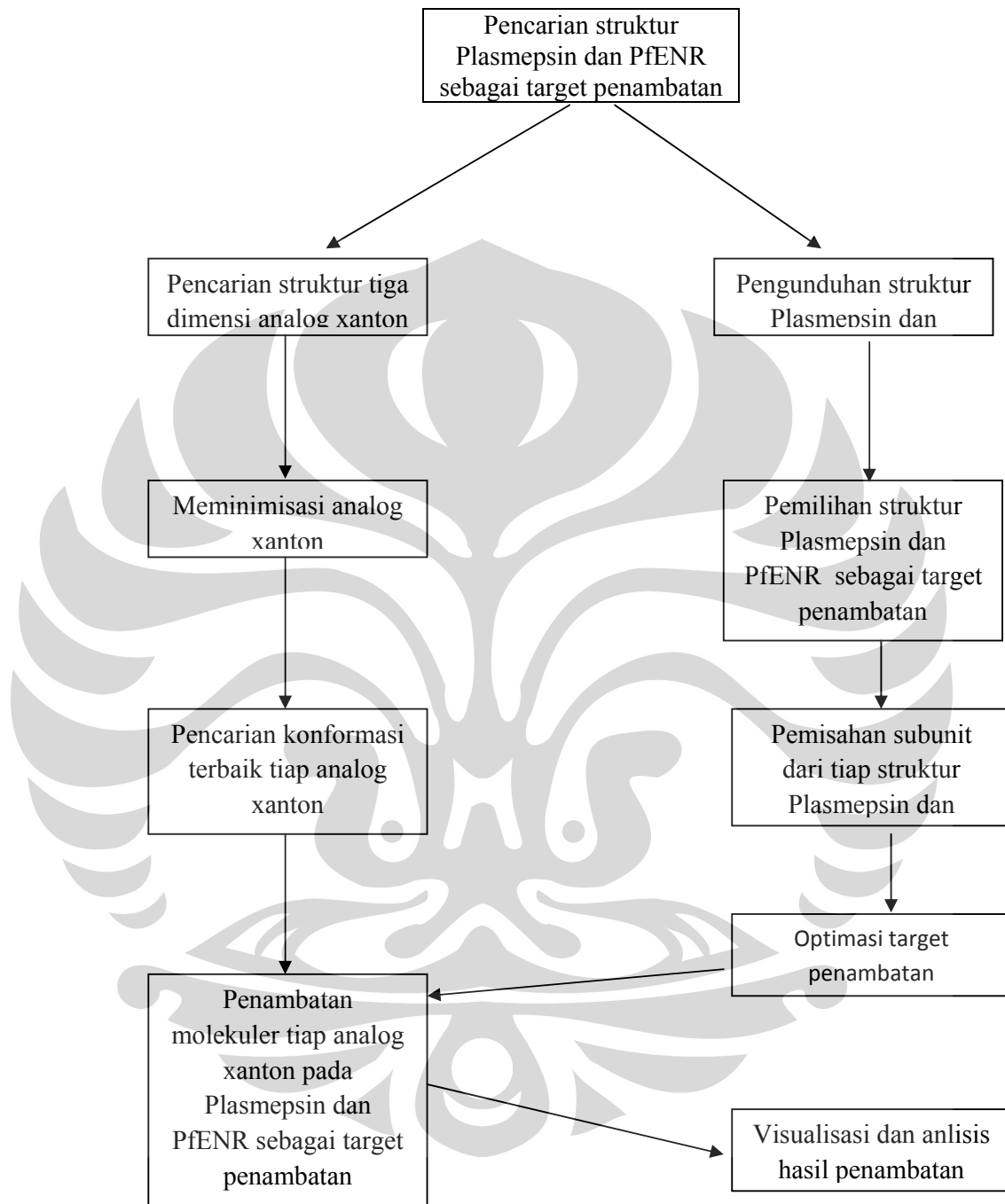
Tabel 4.11. Data GOLDScore hasil penambatan molekuler kontrol positif pada enzim plasmepsin dan PfENR program GOLD

Senyawa	Percobaan	GOLDScore
	1	31,7459
Halofantrin	2	34,0453
	3	29,1977
	1	33,5939
Trikloran	2	34,5057
	3	32,1994

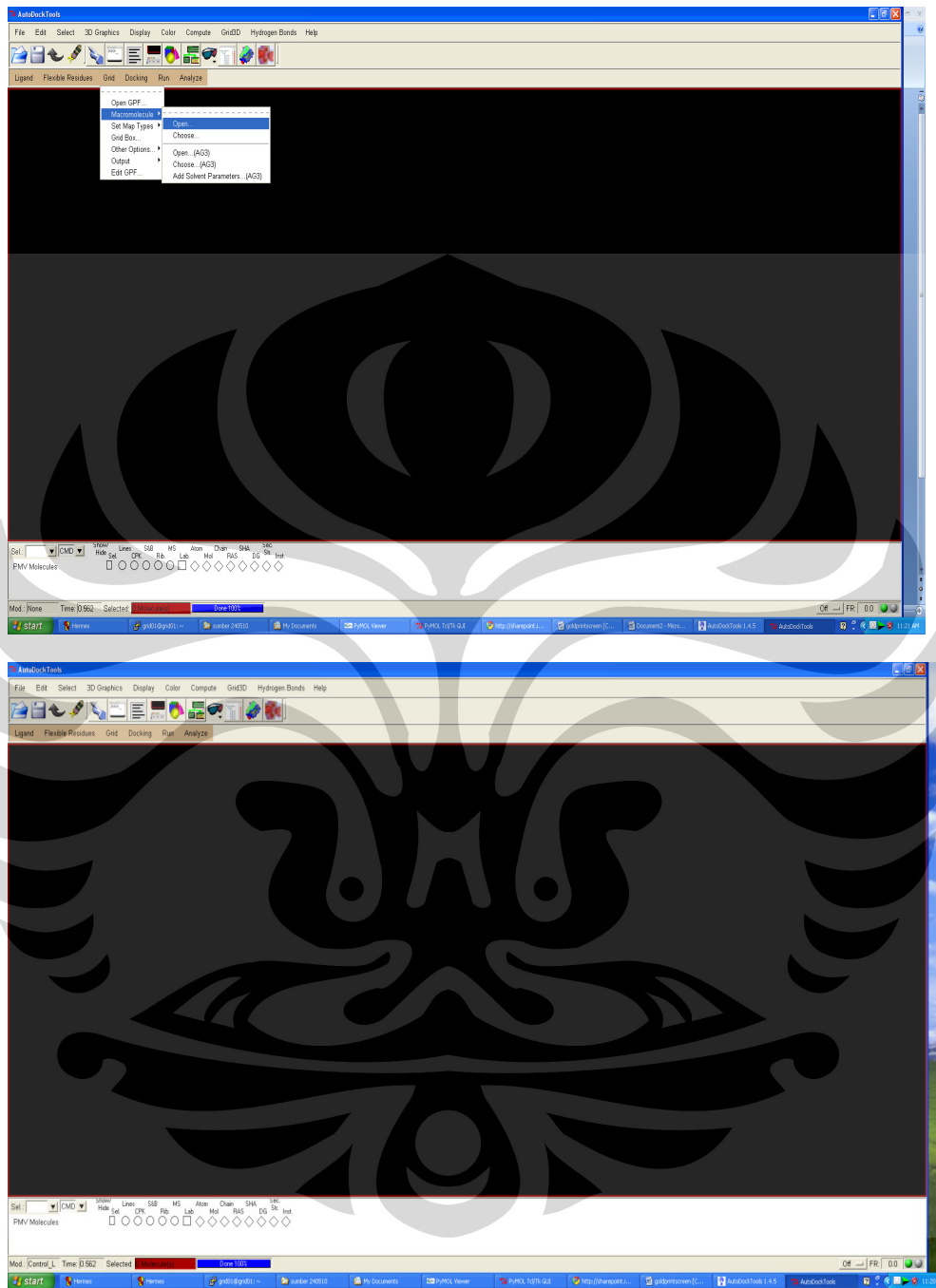
Lampiran 1. Urutan tahap kerja penelitian dan program yang digunakan



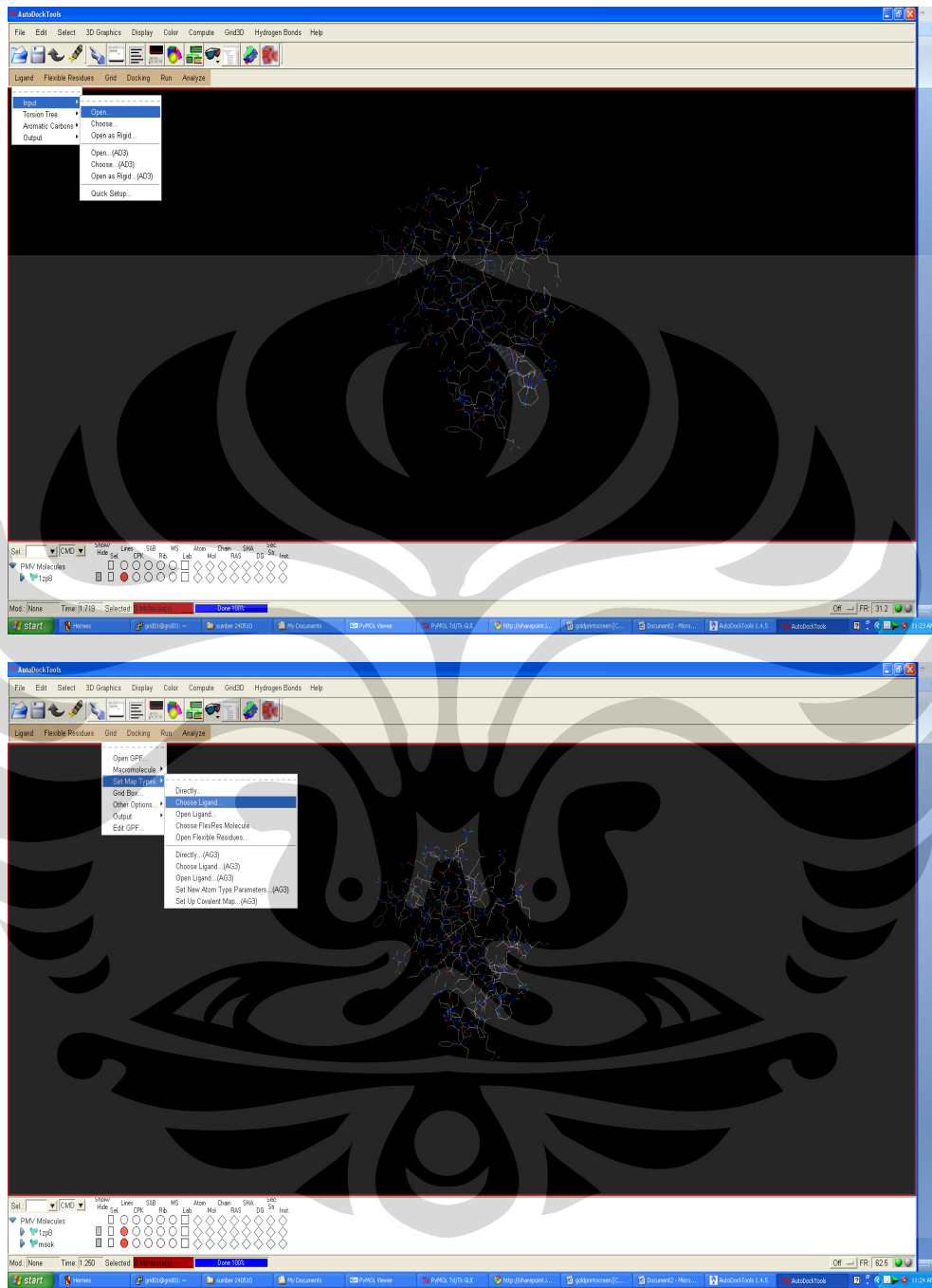
Lampiran 2. Skema cara kerja penelitian



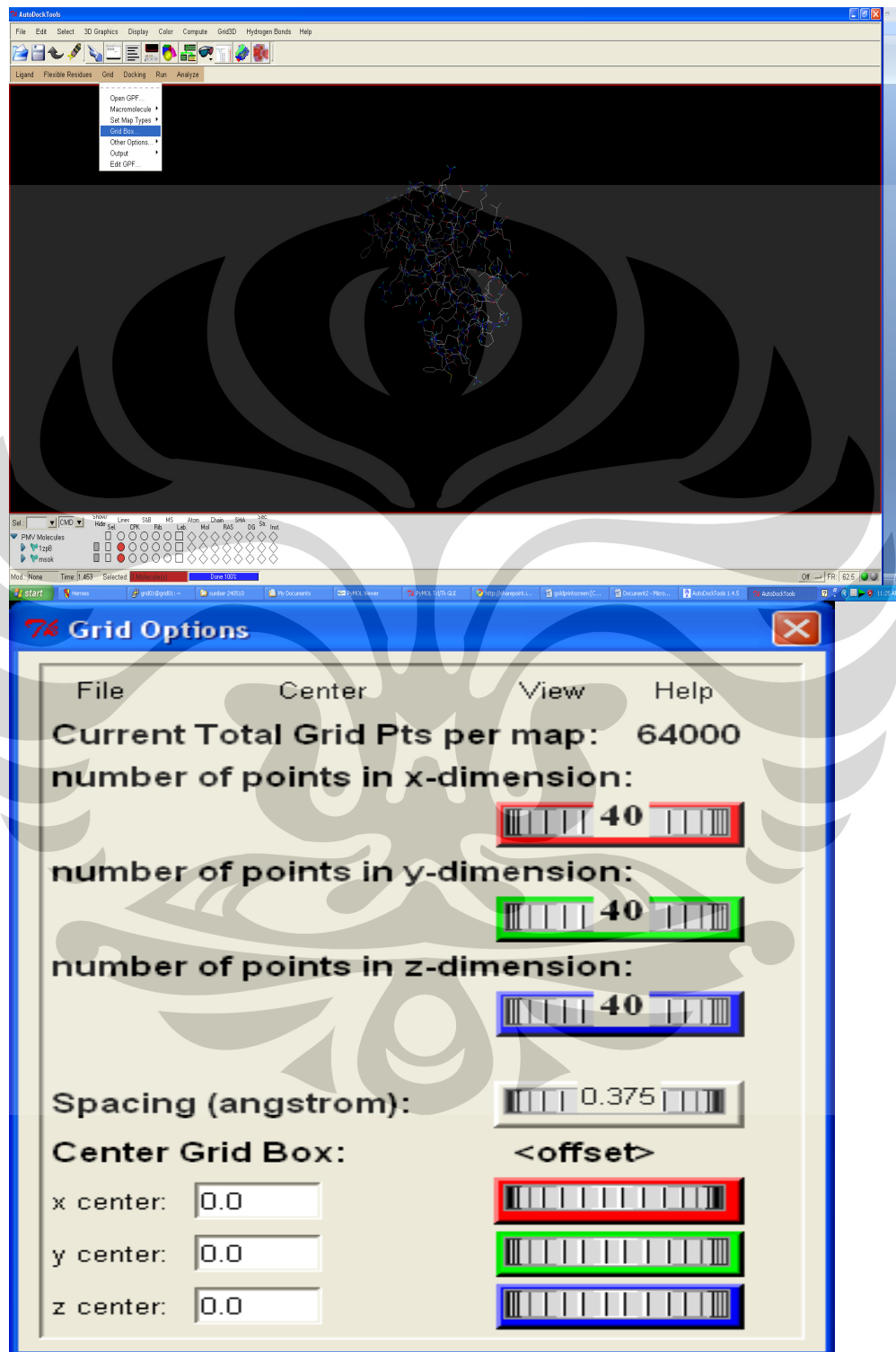
Lampiran 3. Tampilan program AutoDock Tools



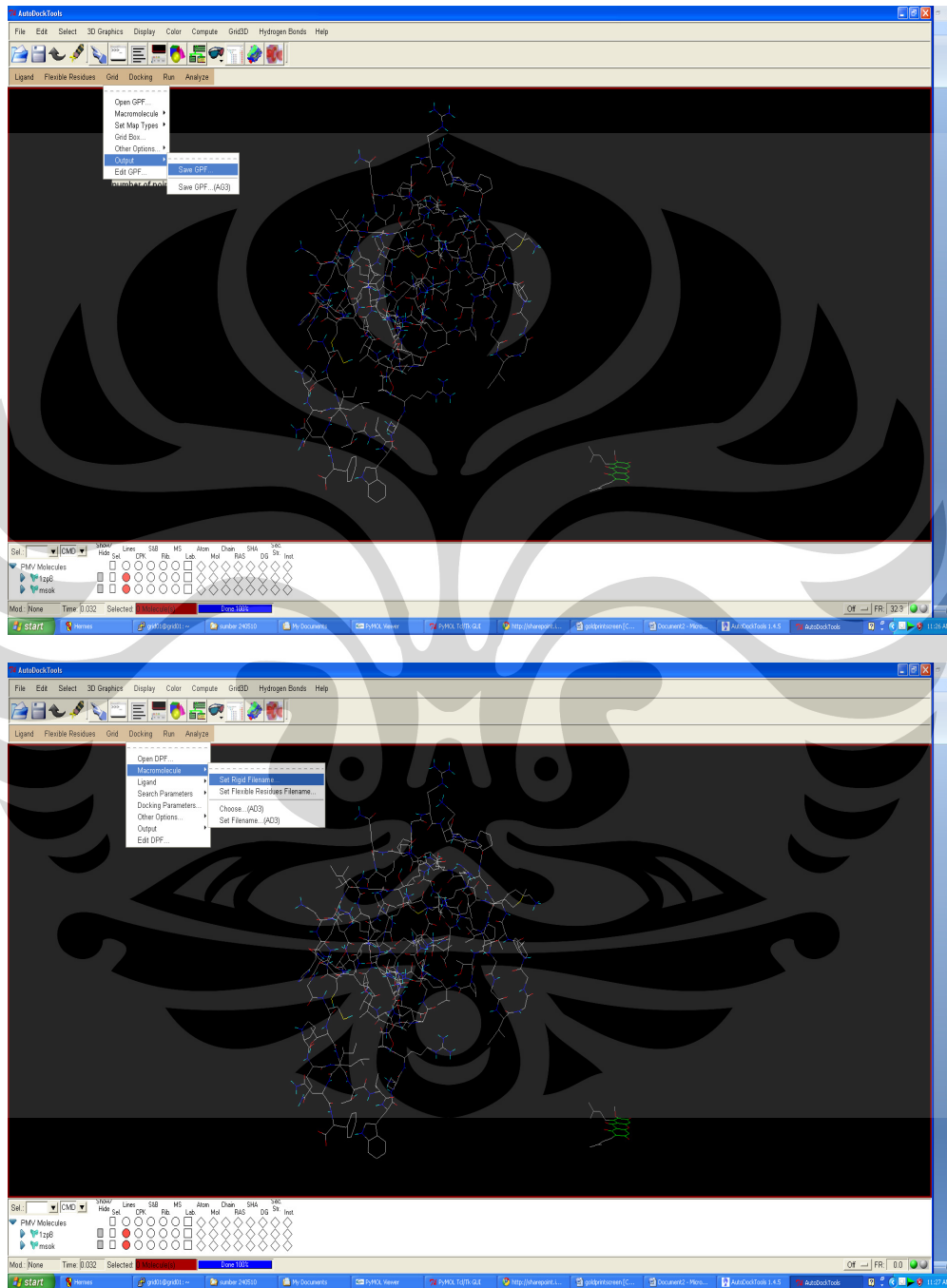
Lanjutan



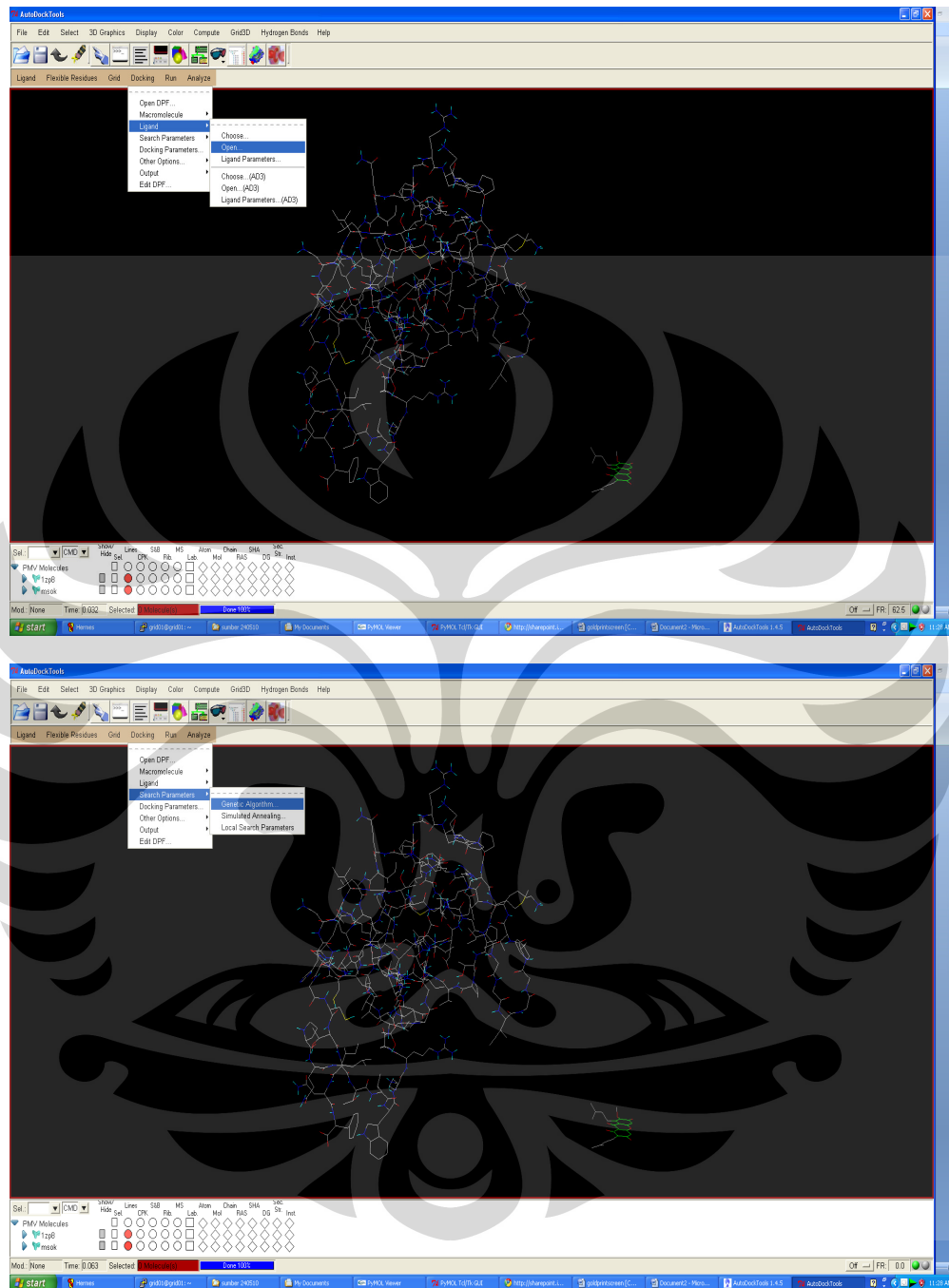
Lanjutan



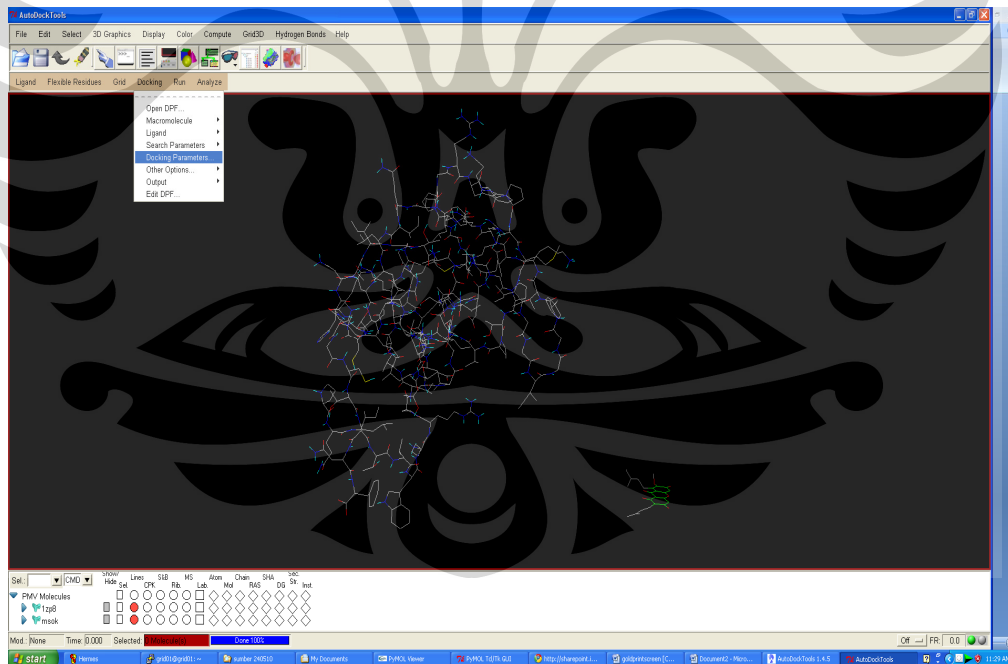
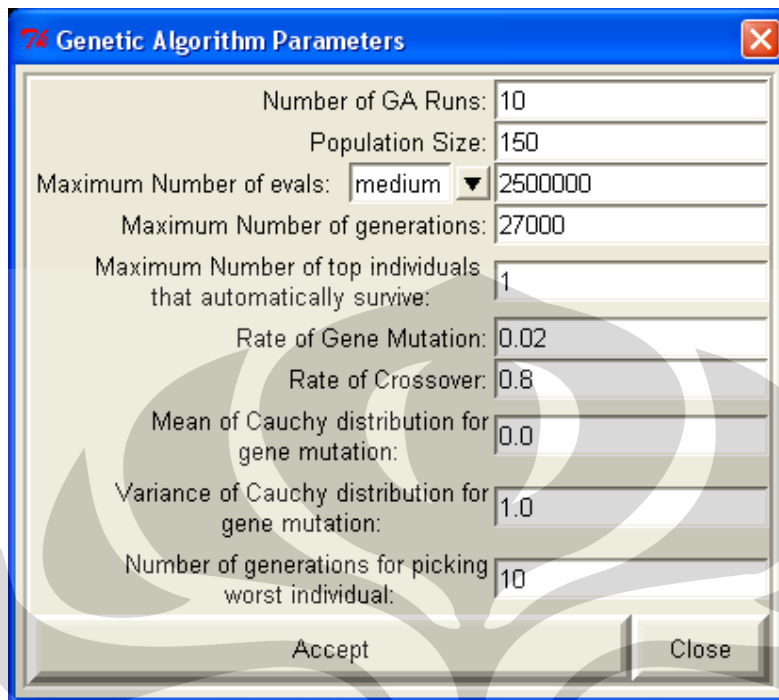
Lanjutan



Lanjutan



Lanjutan



Lanjutan

72 Set Docking Run Options

for random number generator: Use defaults Select library + set seeds

For RANDOM NUMBER GENERATOR LIBRARY:

Built-In Library Platform-Independent Library
(from UTexas Biomedical School):

SELECT ONE RANDOM NUMBER GENERATOR SEED:

time pid user defined

time pid user defined

for energy parameters: Use defaults Customize energy parameters

ENERGY PARAMETERS:

External Grid Energy:

Maximum allowable initial energy:

Maximum Number of Retries:

Calculate internal electrostatic energy: Yes No

for step size parameters: Use defaults Customize step size parameters

STEP SIZE PARAMETERS:

Translation (Angstrom/step):

Enter values for 1st , last cycles to have AutoDock calculate trmf

Quaternion (Degree/step):

Torsion (Degree/step):

for output format parameters: Use defaults Customize output format parameters

OUTPUT FORMAT PARAMETERS:

Level of Detail for output:
(use no output for GA and minimal for SA)

no output: minimal output:

full state output at end of each cycle: detailed output for each step:

RMS Cluster Tolerance (Angstrom):

Reference structure file for RMS calc:

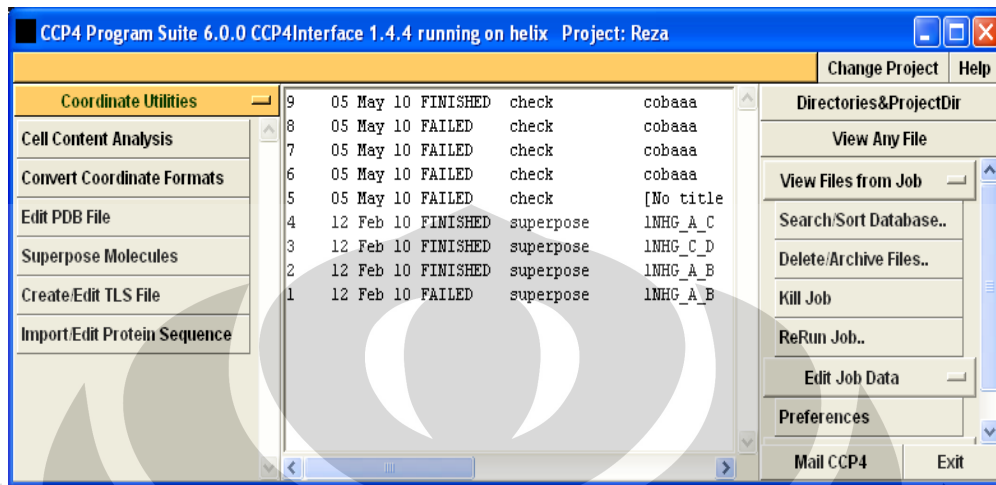
for results of a docking:

perform a cluster analysis: do no analysis:

(for clustering multi-job output only: do not write all conformations:
Write all conformations in a cluster:

Accept Close

Lampiran 4. Tampilan VegaZZ dan CCP4i



CCP4 Program Suite 6.0.0 CCP4Interface 1.4.4 running on helix Project: Reza

Job ID	Date	Status	Action	File Name
9	05 May 10	FINISHED	check	cobaaa
8	05 May 10	FAILED	check	cobaaa
7	05 May 10	FAILED	check	cobaaa
6	05 May 10	FAILED	check	cobaaa
5	05 May 10	FAILED	check	[No title
4	12 Feb 10	FINISHED	superpose	1NHG_A_C
3	12 Feb 10	FINISHED	superpose	1NHG_C_D
2	12 Feb 10	FINISHED	superpose	1NHG_A_B
1	12 Feb 10	FAILED	superpose	1NHG_A_B

Coordinate Utilities

- Cell Content Analysis
- Convert Coordinate Formats
- Edit PDB File
- Superpose Molecules
- Create/Edit TLS File
- Import/Edit Protein Sequence

Directories&ProjectDir

View Any File

View Files from Job

Search/Sort Database..

Delete/Archive Files..

Kill Job

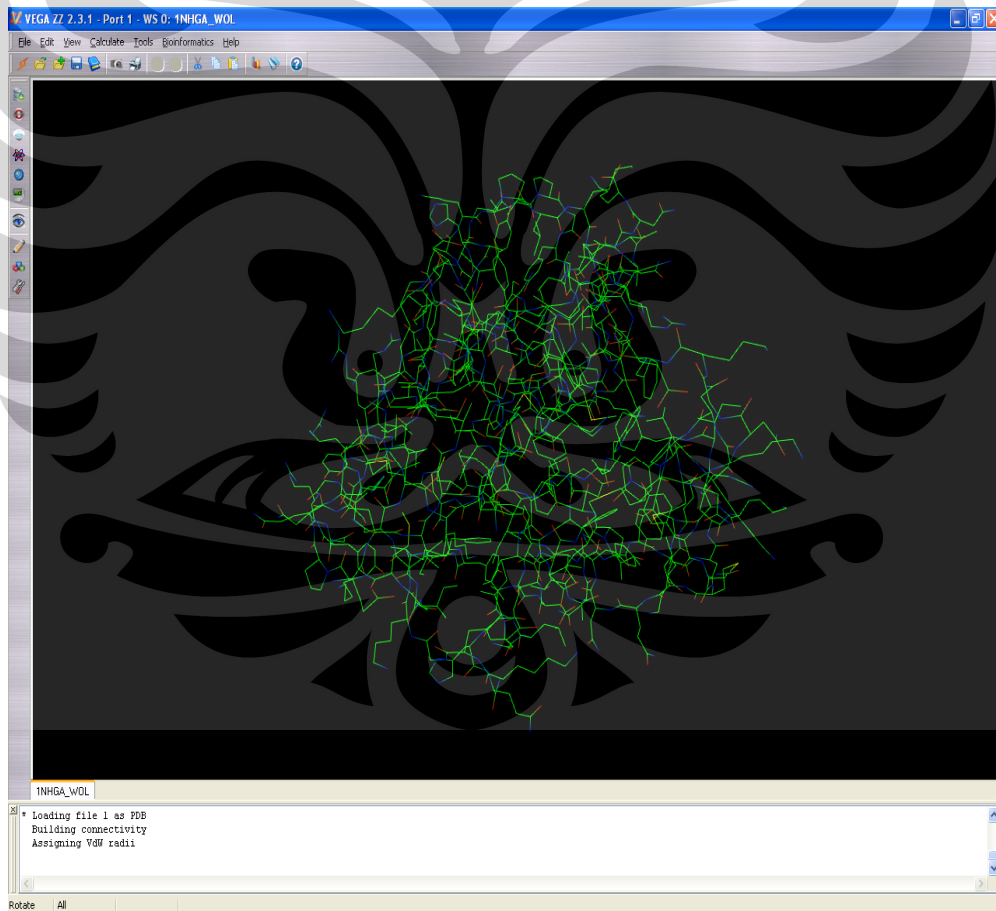
ReRun Job..

Edit Job Data

Preferences

Mail CCP4

Exit



VEGA ZZ 2.3.1 - Port 1 - WS 0: 1NHGA_WOL

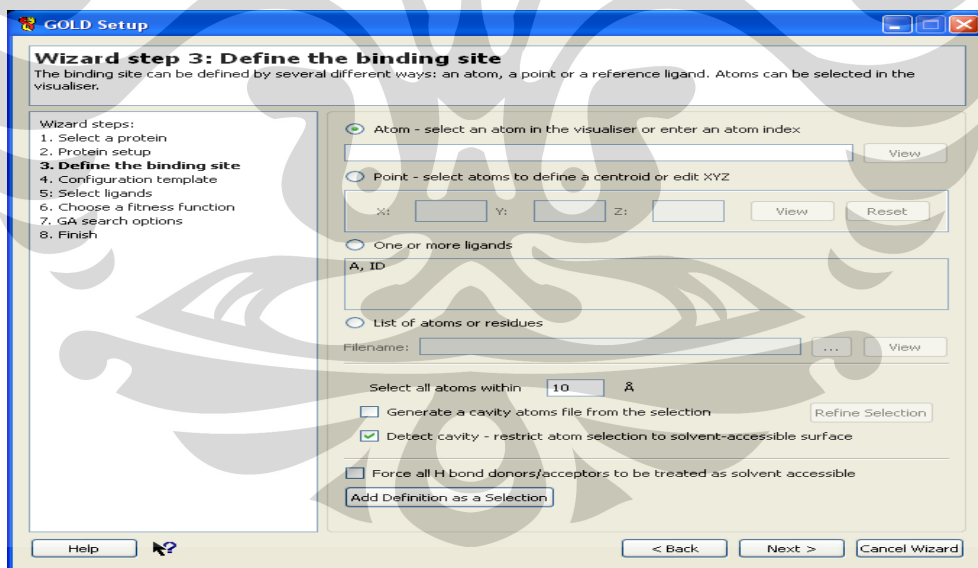
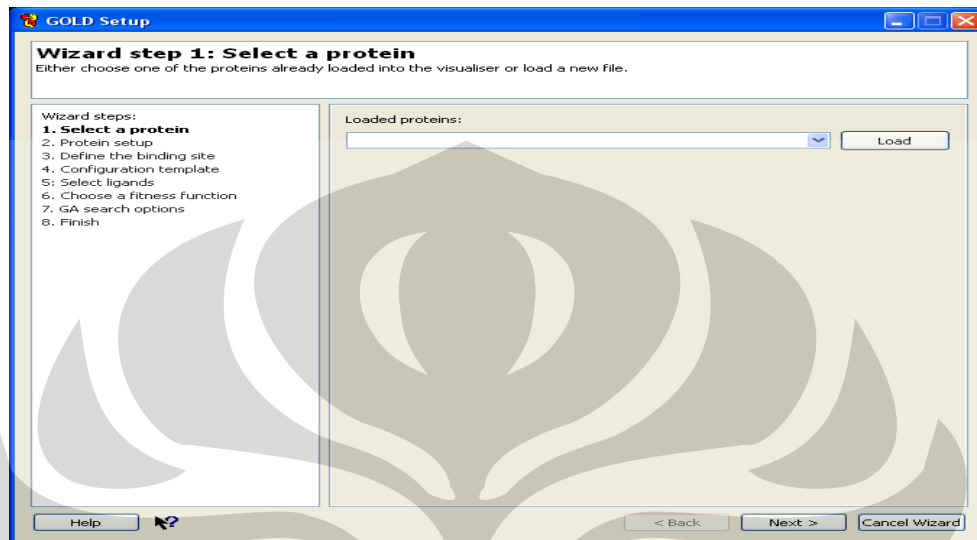
File Edit View Calculate Tools Bioinformatics Help

1NHGA_WOL

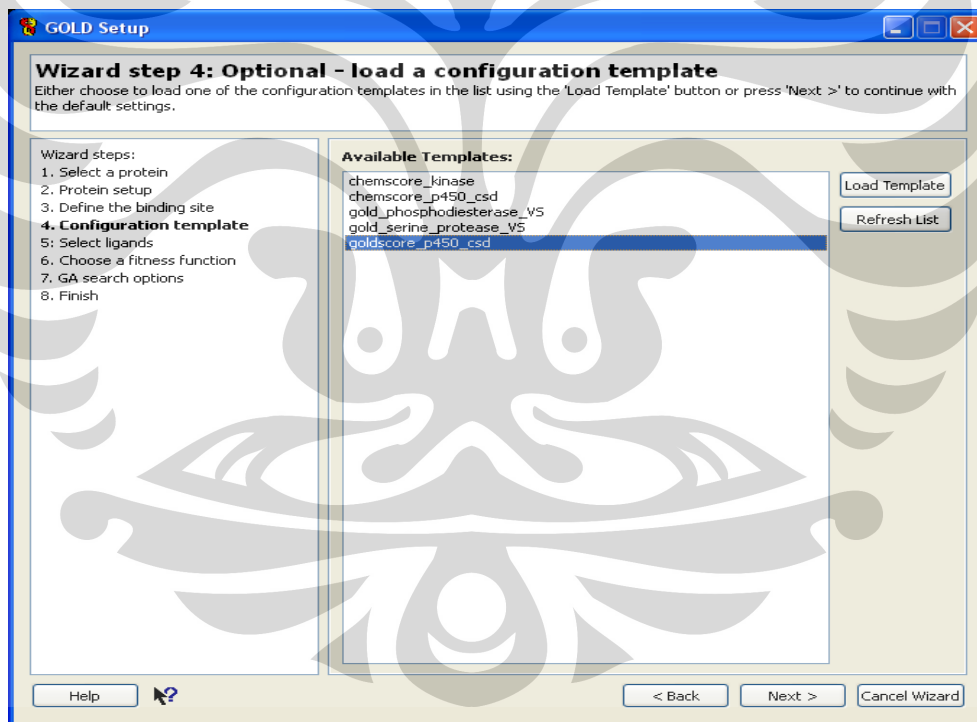
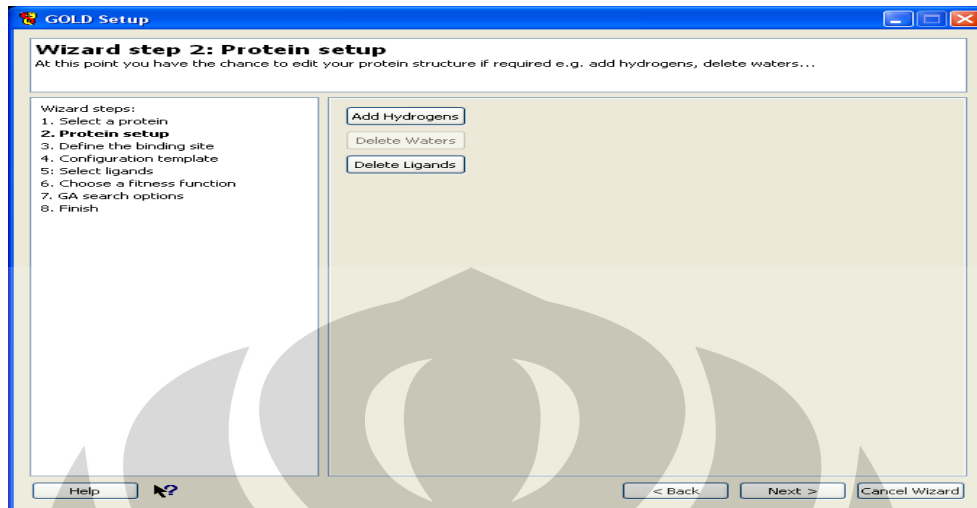
Loading file 1 as PDB
Building connectivity
Assigning VDW radii

Rotate All

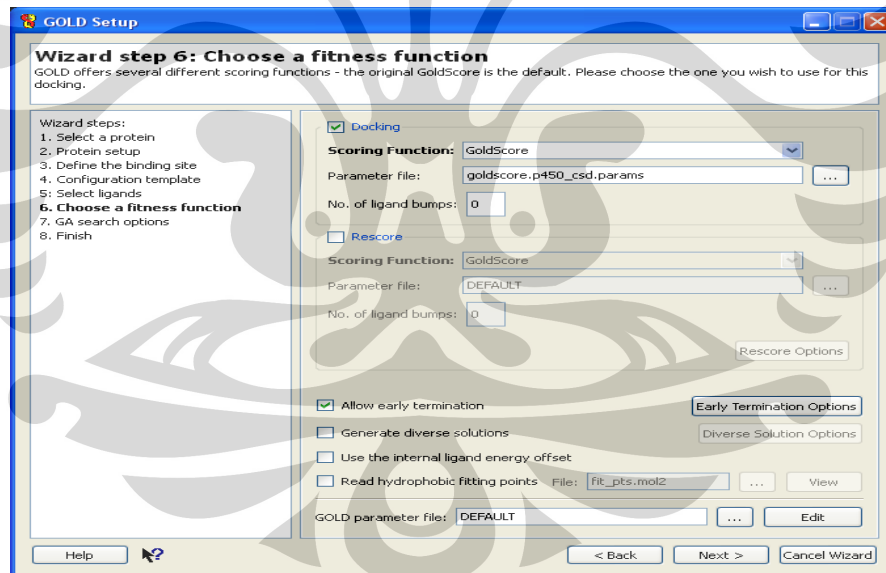
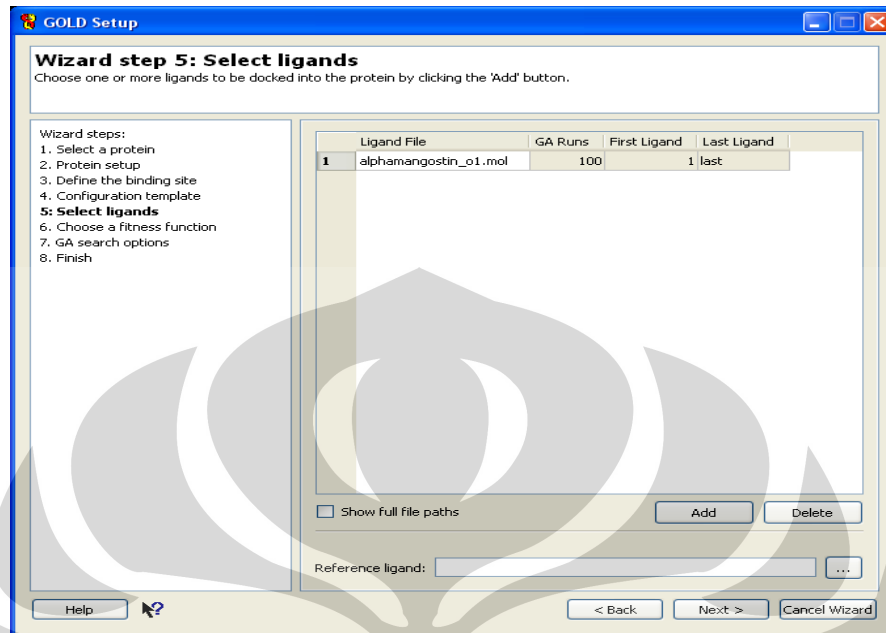
Lampiran 5. Tampilan GOLD



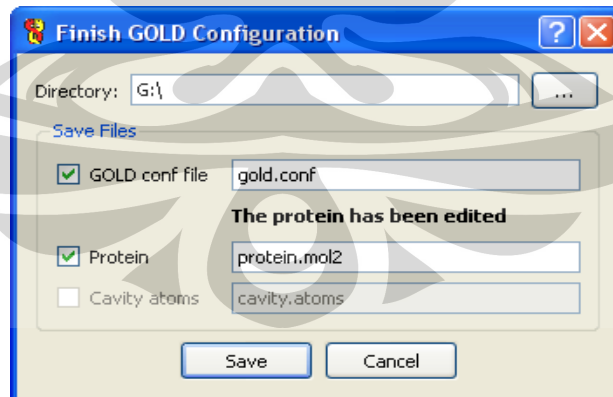
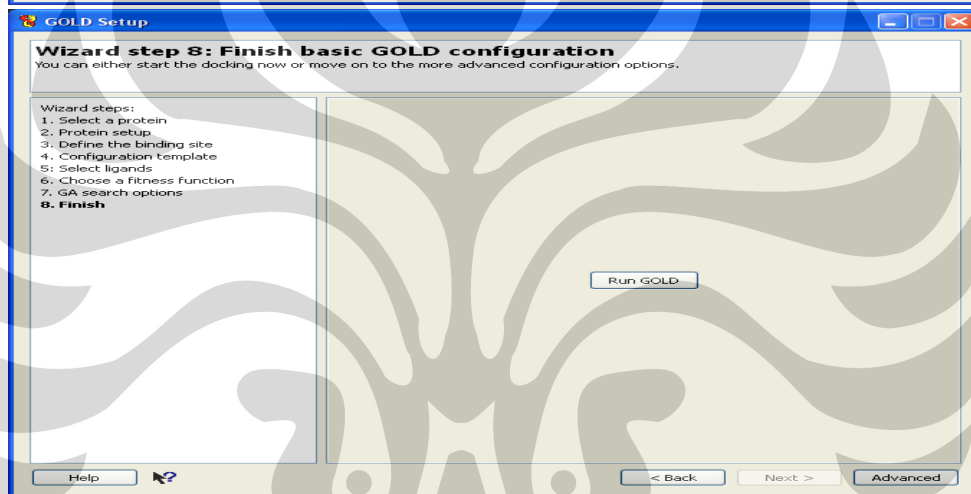
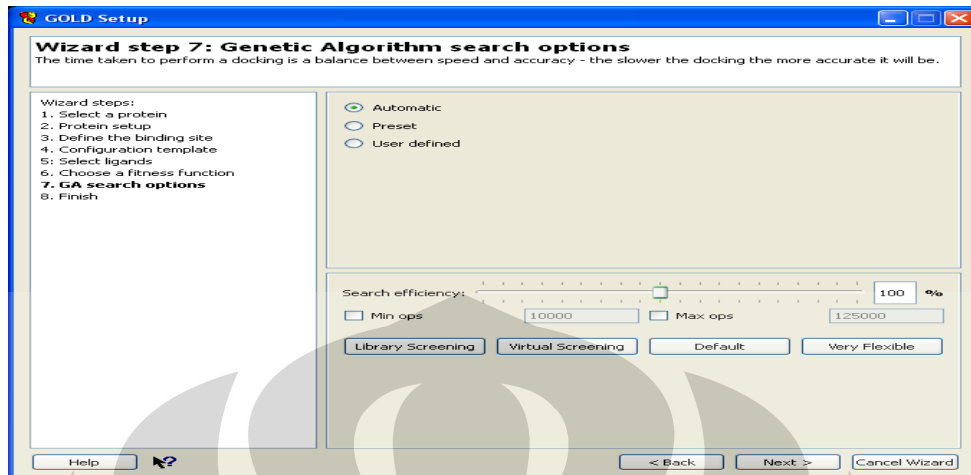
Lanjutan



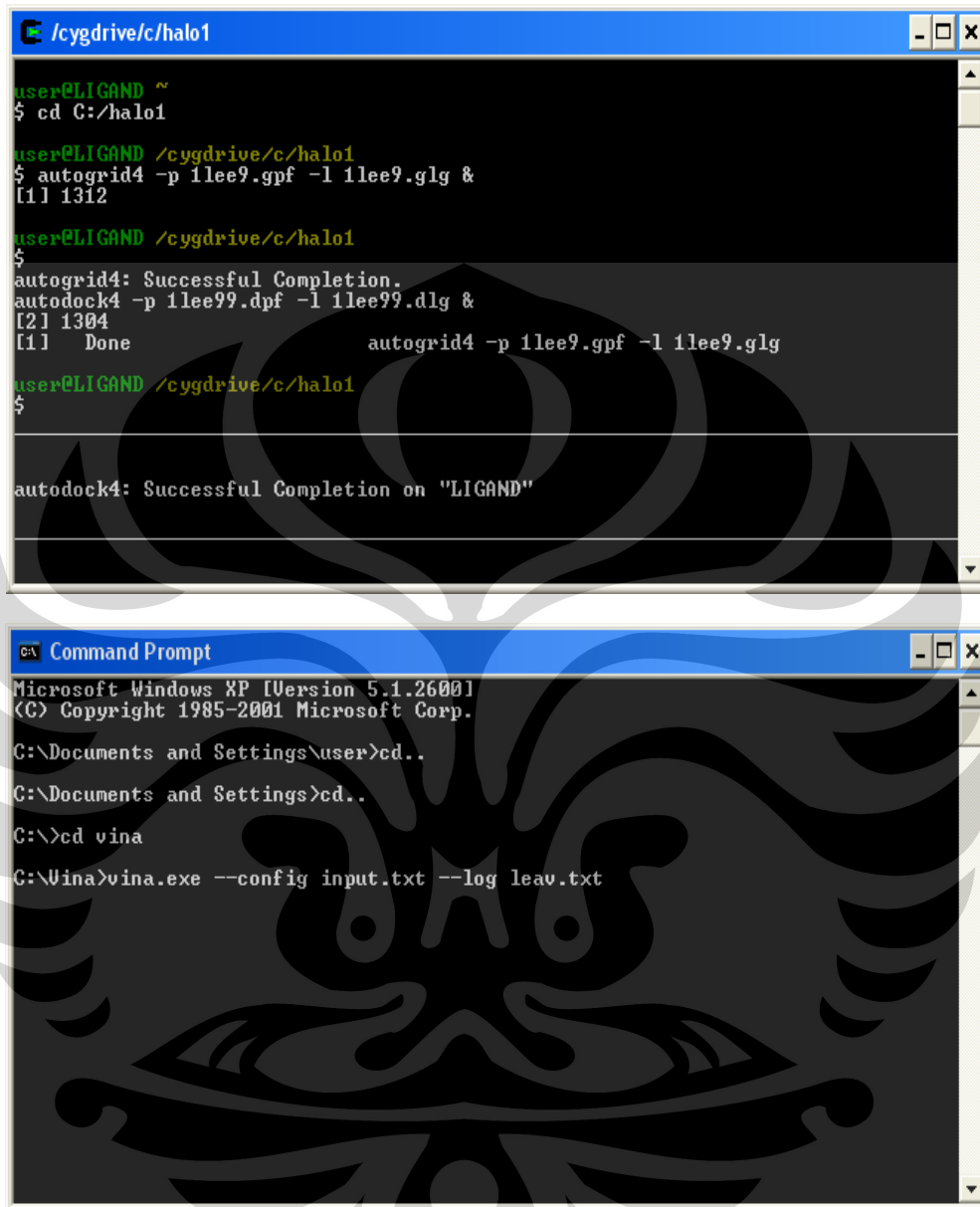
Lanjutan



Lanjutan



Lampiran 6. Tampilan program Cygwin dan AutoDock Vina



The image displays two terminal windows. The top window is a Cygwin terminal with the title bar "/cygdrive/c/halo1". The user "user@LIGAND" is at the prompt. The user enters "cd C:/halo1". Then, they run "autogrid4 -p 1lee9.gpf -l 1lee9.glg &". The terminal shows the process ID [1] 1312. Next, they run "autodock4 -p 1lee99.dpf -l 1lee99.dlg &". The terminal shows the process ID [2] 1304 and "Done". Finally, they run "autogrid4 -p 1lee9.gpf -l 1lee9.glg". The terminal shows "autodock4: Successful Completion on 'LIGAND'".

```
user@LIGAND ~
$ cd C:/halo1

user@LIGAND /cygdrive/c/halo1
$ autogrid4 -p 1lee9.gpf -l 1lee9.glg &
[1] 1312

user@LIGAND /cygdrive/c/halo1
$
autogrid4: Successful Completion.
autodock4 -p 1lee99.dpf -l 1lee99.dlg &
[2] 1304
[1] Done
autogrid4 -p 1lee9.gpf -l 1lee9.glg

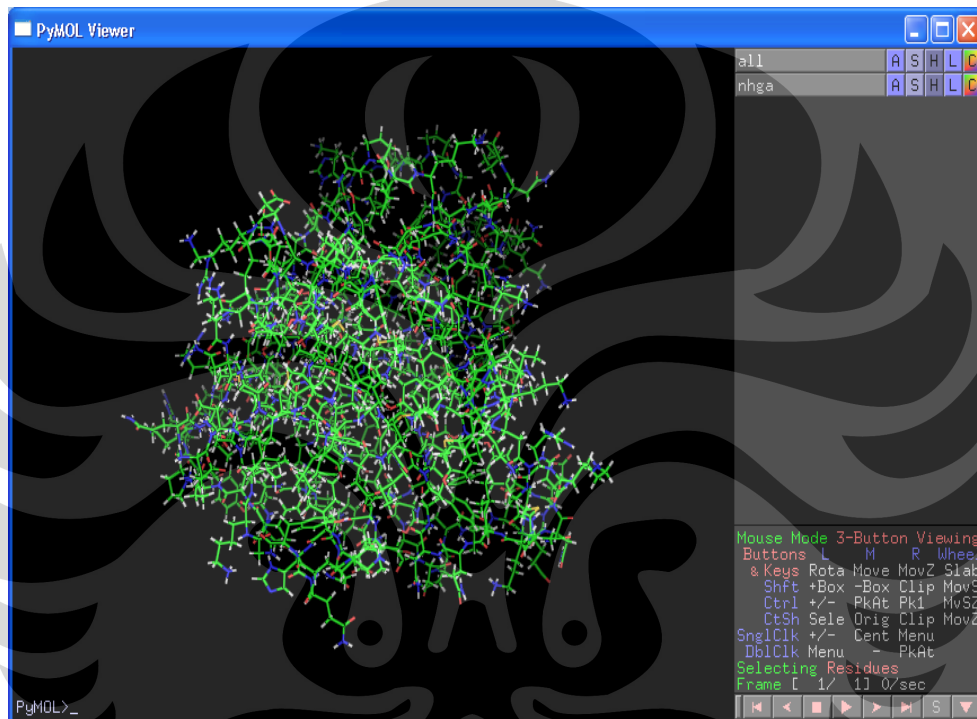
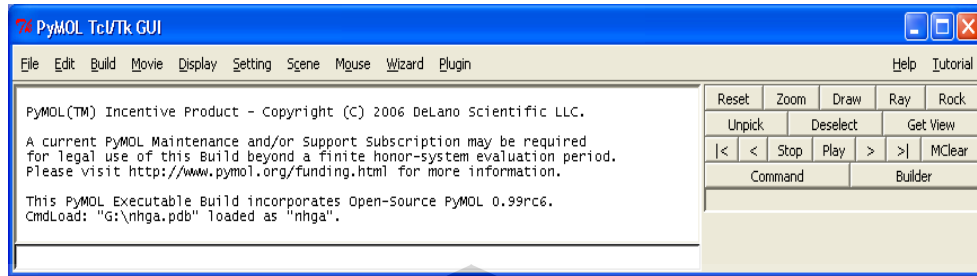
user@LIGAND /cygdrive/c/halo1
$
autodock4: Successful Completion on "LIGAND"
```

The bottom window is a Windows Command Prompt with the title bar "Command Prompt". It shows the following commands and output:

```
Microsoft Windows XP [Version 5.1.2600]
(C) Copyright 1985-2001 Microsoft Corp.

C:\Documents and Settings\user>cd..
C:\Documents and Settings>cd..
C:\>cd vina
C:\Vina>vina.exe --config input.txt --log leav.txt
```

Lampiran 7. Tampilan PyMOL



Lampiran 8. Tampilan MOE

