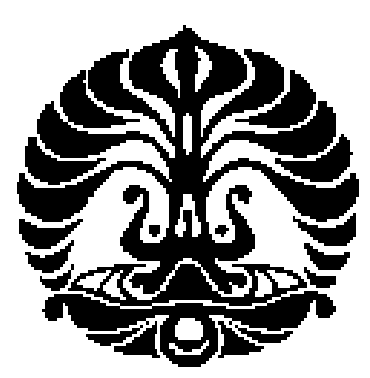


**SCREENING AKTIVITAS ANTI INFLAMASI SENYAWA AKTIF  
YANG TERKANDUNG PADA BEBERAPA TANAMAN OBAT  
INDONESIA MELALUI PENGHAMBATAN ENZIM 12-  
LIPOKSIGENASE SECARA *IN SILICO***

**CHATARINA APRILLIA PRIYAS UTAMI**

**0305050124**



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**

**DEPARTEMEN FARMASI**

**DEPOK**

**2009**

**SCREENING AKTIVITAS ANTI INFLAMASI SENYAWA AKTIF  
YANG TERKANDUNG PADA BEBERAPA TANAMAN OBAT  
INDONESIA MELALUI PENGHAMBATAN ENZIM 12-  
LIPOKSIGENASE SECARA *IN SILICO***

Skripsi diajukan sebagai salah satu syarat  
untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi

Oleh :

**CHATARINA APRILLIA PRIYAS UTAMI**

**0305050124**



**UNIVERSITAS INDONESIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
DEPARTEMEN FARMASI  
DEPOK  
2009**

**SKRIPSI : SCREENING AKTIVITAS ANTI INFLAMASI SENYAWA  
AKTIF YANG TERKANDUNG PADA BEBERAPA  
TANAMAN OBAT INDONESIA MELALUI  
PENGHAMBATAN ENZIM 12-LIPOKSIENASE  
SECARA IN SILICO**

**NAMA : CHATARINA APRILLIA PRIYAS UTAMI**

**NPM : 0305050124**

**SKRIPSI INI TELAH DIPERIKSA DAN DISETUJUI**

**DEPOK, JUNI 2009**

**Dr. Arry Yanuar, MS.**

**Pembimbing I**

**Dr. Abdul Mun'im, MS., Apt**

**Pembimbing II**

**Tanggal Lulus Ujian Sidang Sarjana : 10-7-2009**

**Penguji I : Pharm.Dr. Joshita Djajadisastra, MS, PhD.**

**Penguji II : Dr. Harmita, Apt.**

**Penguji III : Dr. Berna Elya, MS.**

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yesus Kristus yang senantiasa selalu memberikan berkat dan penyertaanNya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini. Biarlah berkat dan kasih setiaNya selalu tercurah bagi umatNya.

Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Ibu Dr. Yahdiana Harahap Apt., M.S., selaku Ketua Departemen Farmasi atas kesempatan yang telah diberikan untuk melakukan penelitian ini.
2. Ibu Dr. Berna Elya, MS selaku Koordinator Pendidikan Departemen Farmasi FMIPA UI.
3. Bapak Dr. Arry Yanuar, M.S. selaku pembimbing I yang selalu memberikan nasihat, bantuan, saran, bimbingan, dan dukungan selama penelitian dan penyusunan skripsi.
4. Bapak Dr. Abdul Mun'im, M.S. selaku pembimbing II atas semangat, motivasi dan bimbingan serta saran-saran yang diberikan selama penelitian berlangsung hingga tersusunnya skripsi ini.
5. Ibu Dr. Amarila Malik Apt., M.S., selaku pembimbing akademis yang telah membimbing penulis dari semester satu hingga sekarang.

6. Seluruh staf pengajar Departemen Farmasi yang telah dengan tulus memberikan bekal ilmu kepada penulis dan Seluruh staf akademis Departemen Farmasi yang telah memberikan bantuan.
7. Bapak Yohanes D. S dan Ibu Maria Magdalena selaku papi dan mami yang senantiasa memberikan dukungan dan doanya untuk penulis, serta Roy Adithya dan Kel. R. Gunawan Wibisana yang selalu menjadi tempat berbagi cerita, dan selalu mendorong untuk terus maju serta tidak menyerah.
8. Rekan – rekan seperjuangan di Ruang Penelitian: Ventry, Wahyu, dan Agus, Lia, Sherly, Isabel (Gobel) dan Panya, yang selalu menemani dan memberi dukungan, semua teman–teman Farmasi angkatan 2005 serta Teman – teman di KMK UI dan KMK MIPA UI.
9. Seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah memberikan dorongan semangat, dan pengarahan selama penelitian dan penyusunan skripsi.

Akhirnya, tidak ada sesuatu yang benar-benar sempurna dalam dunia ini dan sudah menjadi ketentuan Tuhan bahwa tidak ada seorang pun yang terlepas dari kesalahan. Oleh sebab itu, kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan demi peningkatan di masa depan. Semoga penelitian ini dapat bermanfaat bagi ilmu pengetahuan dan masyarakat luas.

Penulis

2009

## ABSTRAK

Asam arakidonat mengalami metabolisme menjadi dua alur dalam tubuh, yakni oleh siklooksigenase dan lipoksigenase. Pada jalur lipoksigenase, melalui enzim 12-lipoksigenase akan membebaskan leukotrien dan berbagai substansi seperti 12-HPETE, 12-HETE dan sebagainya yang berperan penting sebagai mediator inflamasi. Berbagai macam jenis tanaman obat tentunya memiliki kandungan berkhasiat untuk menghambat mekanisme inflamasi dari enzim 12-lipoksigenase. Kurkumin, baikalin, epigalokatekin merupakan sebagian dari banyak senyawa yang dapat menghambat kerja enzim tersebut. Dengan metode penambatan molekuler secara *in silico*, penelitian ini diharapkan mampu melakukan *screening* terhadap aktivitas senyawa aktif yang terkandung dalam tanaman obat Indonesia. Melalui program komputasi AutoDock4, dapat diketahui aktivitas antara ligan yang merupakan senyawa aktif tanaman obat dengan 12-lipoksigenase sebagai protein targetnya. Hasil penambatan molekuler senyawa aktif tanaman obat menunjukkan bahwa His 360, His 365, dan His 540 berperan penting dalam daerah pengikatan substrat pada enzim 12-LOX, dan adanya ikatan hidrogen yang bertanggungjawab pada aktivitas penghambatan enzim tersebut.

Kata kunci : 12-lipoksigenase, senyawa aktif tanaman obat berkhasiat, inhibisi, penambatan molekuler, *in silico*.

xiii + 143 hlm.; gbr.; tab.; lamp.

Bibliografi : 50 (1977-2009)

## ABSTRACT

Arachidonic acid is metabolized by 12-LOX to 12(S)-hydroxyeicosatetraenoic acid [12(S)-HETE], and this biologically active metabolite is involved in inflammation. Different types of medicinal plant certainly contain some of the active substances to prevent mechanism of inflammation by enzyme 12-lipoxygenase (12-LOX). Curcumin, baicalein, epigallocatechin are some part of many compounds that can inhibit the enzyme work. With the docking methods through in silico, this research is expected to make a screening of the active compound activity in the medicinal plants of Indonesia. AutoDock4 program with the docking simulation tools, can be utilized to study interaction between ligand from various active compound in medicinal plant with a 12-lipoxygenase as a protein target. The result of molecular docking of the active compound in medicinal plant shows that His 360, His 365, and His 540 plays an important role for substrates binding in 12-LOX enzyme, and also there are hydrogen bonds that responsible for the inhibition in 12-LOX.

Keywords : 12-lipoksigenase, active compound of medicinal plant, inhibition, molecular docking, in silico

xiii + 143 pages; fig.; tab.; app.

Bibliography : 50 (1977-2009)

## DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR.....	i
ABSTRAK.....	iii
ABSTRACT.....	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
<b>BAB I. PENDAHULUAN</b>	
A. Latar Belakang.....	1
B. Tujuan Penelitian.....	4
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>5</b>
A. Tanaman Obat Indonesia .....	5
B. Metabolit Primer Tanaman .....	6
C. Metabolit Sekunder .....	7
D. Inflamasi.....	8
• Manifestasi Klinis Inflamasi.....	9
E. Mediator dan Substansi Inflamasi.....	9
F. Enzim 12-lipoksigenase.....	10
G. Obat Anti Inflamasi Non Steroid (OAINS).....	15



H. Bioinformatika Penemuan Obat .....	16
1 Database.....	17
2 <i>Protein Data Bank</i> (PDB).....	18
I. Rancangan Obat dengan Bantuan Komputer ( <i>Computer-Aided Drug Design</i> (CADD)).....	18
J. Rancangan Obat Berbasis Ligan ( <i>Ligand Based Drug Design</i> (LBDD)).....	20
K. Penambatan Molekuler ( <i>Molecular Docking</i> ).....	22
L. Penyejajaran ( <i>Superpose</i> ).....	23
M. PyMOL.....	24
N. <i>Molecular Operating Environment</i> (MOE).....	24
O. VEGA ZZ.....	25
P. The Collaborative Computational Project, Number 4 (CCP4).....	26
Q. Cygwin.....	26
R. ClustalW2.....	27
S. ArgusLab.....	28
T. Autodock.....	29
U. Ligplot.....	30
<b>BAB III. ALAT, BAHAN, DAN CARA KERJA</b>	
A. Bahan.....	31
B. Alat.....	33
C. Cara Kerja	
1. <i>Screening database senyawa aktif tanaman obat</i>	

Indonesia.....	33
2. Pencarian struktur dua dimensi senyawa aktif tanaman obat dan molekul obat lipoksigenase inhibitor.....	34
3. Pembentukan struktur tiga dimensi senyawa aktif tanaman obat dan molekul obat lipoksigenase inhibitor.....	35
4. Pemilihan senyawa aktif yang digunakan pada penambatan molekuler.....	35
5. Optimasi dan komparasi konformasi senyawa aktif tanaman obat dan molekul obat anti inflamasi lipoksigenase inhibitor.....	36
6. Pemilihan enzim 12-lipoksigenase sebagai protein target.....	37
7. Pengoptimalan makromolekul protein target enzim 12-lipoksigenase.....	38
8. Penambatan ( <i>docking</i> ) dengan protein target enzim 12-lipoksigenase.....	39
9. Peningkatan nilai-nilai hasil penambatan ( <i>docking</i> ) yang terbaik ( <i>Scoring</i> ).....	41
10. Analisis hasil penambatan molekuler.....	41
 BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Hasil	
1. <i>Screening database</i> senyawa aktif tanaman obat Indonesia.....	43
2. Pencarian struktur dua dimensi senyawa aktif tanaman obat dan molekul obat lipoksigenase inhibitor.....	43
3. Pembentukan struktur tiga dimensi senyawa aktif tanaman obat dan molekul obat lipoksigenase inhibitor.....	44
4. Pemilihan senyawa aktif yang digunakan pada penambatan molekuler.....	44

5. Optimasi dan komparasi konformasi senyawa aktif tanaman obat dan molekul obat anti inflamasi lipoksigenase inhibitor.....	45
6. Pemilihan enzim 12-lipoksigenase sebagai protein target.....	46
7. Pengoptimalan makromolekul protein target enzim 12-lipoksigenase.....	47
8. Penambatan ( <i>docking</i> ) dengan protein target enzim 12-lipoksigenase.....	48
9. Pemeringkatan nilai-nilai hasil penambatan ( <i>docking</i> ) yang terbaik ( <i>Scoring</i> ).....	50
10. Analisis hasil penambatan molekuler.....	50
B. Pembahasan.....	50
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	
1 Kesimpulan.....	67
2 Saran.....	68
DAFTAR PUSTAKA.....	69

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Jalur metabolisme asam arakidonat.....	11
2. Jalur sintesa metabolit enzim 12-lipoksigenase.....	13
3. Model kristal enzim 12-lipoksigenase secara dua dimensi.....	14
4. Daerah situs aktif dari enzim 12-LOX.....	15
5. Struktur tiga dimensi molekul obat anti inflamasi lipoksigenase inhibitor.....	75
6. Struktur dua dimensi senyawa aktif tanaman obat terpilih.....	76
7. Struktur tiga dimensi senyawa aktif tanaman obat terpilih, sebelum dan sesudah optimasi.....	77
8. Struktur kristal PDB 3D3L (12-lipoksigenase).....	80
9. Hasil <i>superpose</i> kristal 3D3L (hijau) dengan 2P0M (biru) menggunakan program CCP4.....	81
10. Hasil pemisahan struktur kristal PDB 3D3L menggunakan CCP4, 3D3L chain A (biru), chain B (emas).....	82
11. <i>Superpose</i> kristal 3D3L (hijau) dengan 1JNQ (merah) menggunakan program CCP4.....	83
12. Superposisi terbaik ( <i>best cluster</i> ) ligan senyawa aktif tanaman obat terpilih hasil penambatan molekuler pada <i>run</i> 1 (merah), <i>run</i> 2 (hijau), <i>run</i> 3 (biru).....	84
13. Visualisasi hasil penambatan molekuler ligan baikalin dengan protein target 12-LOX. menggunakan program PYMOL.....	86
14. Visualisasi hasil penambatan molekuler ligan demetoksikurkumin dengan protein target 12-LOX. menggunakan program PYMOL.....	87

15.	Visualisasi hasil penambatan molekuler ligan bisdemetoksikurkumin dengan protein target 12-LOX. menggunakan program PYMOL.....	88
16.	Visualisasi hasil penambatan molekuler ligan kurkumin dengan protein target 12-LOX. menggunakan program PYMOL.....	89
17.	Visualisasi superposisi hasil penambatan molekuler ligan kurkumin, demetoksikurkumin, bisdemetoksikurkumin dengan protein target 12-LOX. menggunakan program PYMOL...	90
18.	Visualisasi hasil penambatan molekuler ligan epigallokatekin dengan protein target 12-LOX. menggunakan program PYMOL...	91
19.	Visualisasi hasil penambatan molekuler ligan katekin dengan protein target 12-LOX. menggunakan program PYMOL.....	92
20.	Visualisasi hasil penambatan molekuler ligan zingiberin dengan protein target 12-LOX. menggunakan program PYMOL.....	93
21.	Visualisasi hasil penambatan molekuler ligan turmeron dengan protein target 12-LOX. menggunakan program PYMOL.....	94
22.	Visualisasi hasil penambatan molekuler ligan borneol dengan protein target 12-LOX. menggunakan program PYMOL.....	95
23.	Visualisasi hasil penambatan molekuler ligan asam sinamat dengan protein target 12-LOX. menggunakan program PYMOL...	96
24.	Visualisasi hasil penambatan molekuler ligan asam ferulat dengan protein target 12-LOX. menggunakan program PYMOL...	97
25.	Visualisasi hasil penambatan molekuler ligan asam kafeat dengan protein target 12-LOX. menggunakan program PYMOL...	98
26.	Visualisasi hasil penambatan molekuler ligan kolkisin dengan protein target 12-LOX. menggunakan program PYMOL.....	99
27.	Visualisasi hasil penambatan molekuler ligan zileuton dengan protein target 12-LOX. menggunakan program PYMOL.....	100
28.	Visualisasi hasil penambatan molekuler ligan fenidon ( <i>pink</i> ) dengan protein target 12-LOX. menggunakan program PYMOL ...	101

29.	Visualisasi hasil penambatan molekuler ligan parasetamol dengan protein target 12-LOX. menggunakan program PYMOL....	102
30.	Hasil analisa LigPlot yang menunjukkan interaksi baikalin dengan protein target 12-LOX.....	103
31.	Hasil analisa LigPlot yang menunjukkan interaksi demetoksikurkumin dengan protein target 12-LOX.....	104
32.	Hasil analisa LigPlot yang menunjukkan interaksi bisdemetoksikurkumin dengan protein target 12-LOX.....	105
33.	Hasil analisa LigPlot yang menunjukkan interaksi kurkumin dengan protein target 12-LOX.....	106
34.	Hasil analisa LigPlot yang menunjukkan interaksi epigallokatekin dengan protein target 12-LOX.....	107
35.	Hasil analisa LigPlot yang menunjukkan interaksi katekin dengan protein target 12-LOX.....	108
36.	Hasil analisa LigPlot yang menunjukkan interaksi zingiberin dengan protein target 12-LOX.....	109
37.	Hasil analisa LigPlot yang menunjukkan interaksi turmeron dengan protein target 12-LOX. ....	110
38.	Hasil analisa LigPlot yang menunjukkan interaksi asam kafeat 1 (atas) dan asam kafeat 2 (bawah) dengan protein target 12-LOX..	111
39.	Hasil analisa LigPlot yang menunjukkan interaksi asam sinamat 1 (atas) dan asam sinamat 2 (bawah) dengan protein target 12-LOX.....	112
40.	Hasil analisa LigPlot yang menunjukkan interaksi asam ferulat dengan protein target 12-LOX.....	113
41.	Hasil analisa LigPlot yang menunjukkan interaksi borneol dengan protein target 12-LOX.....	114

## DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
1.	Beberapa daftar tanaman obat yang tumbuh indonesia.....	115
2.	Nilai energi bebas( $\bar{G}$ ) hasil penambatan molekuler senyawa aktif tanaman obat terpilih dengan 12-LOX.....	119
3.	Nilai konstanta inhibisi ( $K_i$ ) hasil penambatan molekuler senyawa aktif tanaman obat terpilih dengan 12-LOX.....	121
4.	Nilai energi bebas( $\bar{G}$ ) hasil penambatan molekuler senyawa obat anti- inflamasi dengan 12-LOX.....	123
5.	Nilai konstanta inhibisi ( $K_i$ ) hasil penambatan molekuler senyawa obat anti- inflamasi dengan 12-LOX.....	124
6.	Jumlah residu asam amino hasil penambatan molekuler dengan senyawa aktif tanaman obat terpilih.....	125
7.	Jumlah residu asam amino hasil penambatan molekuler dengan molekul obat lipoksigenase inhibitor.....	127

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
1.	Skema kerja penelitian.....	128
2.	Bagan alur <i>screening</i> aktivitas anti inflamasi senyawa aktif tanaman obat.....	129
3.	Bagan alur penambatan molekuler senyawa aktif tanaman obat.....	130
4.	Tampilan program Pymol.....	131
5.	Tampilan program Superpose, PROCHECK, dan Edit PDB file.....	132
6.	Tampilan program ArgusLab.....	134
7.	Tampilan Program Vega ZZ.....	135
8.	Tampilan Program Autodock Tools 4.0.....	136
9.	Tampilan rongga situs aktif enzim 12-lipoksigenase dengan program Molecular Operating Environment (MOE 2007).....	137
10.	Tampilan program penyejajaran sekuens ClustalW2.....	138
11.	Berkas <i>Protein Data Bank</i> (PDB) 3D3L.....	139
12.	Hasil penyejajaran sekuens lipoksigenase inhibitor menggunakan program ClustalW2.....	140
13.	Perintah LINUX yang digunakan pada penelitian ini.....	142
14.	20 Asam amino penyusun protein.....	143



# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. LATAR BELAKANG**

Indonesia kaya akan sumber bahan obat alam dan obat tradisional yang telah digunakan oleh sebagian besar masyarakat Indonesia secara turun temurun. Keuntungan obat tradisional yang dirasakan langsung oleh masyarakat adalah kemudahan untuk memperolehnya dan bahan bakunya dapat ditanam di perkarangan sendiri, murah dan dapat diramu sendiri dirumah (1). Sekitar 30.000 jenis tanaman obat yang terdapat di Indonesia saat ini belum dimanfaatkan secara optimal. Upaya kampanye penggunaan obat alami masih rendah sehingga pemanfaatannya terus berlangsung tanpa perkembangan berarti (2). Potensi yang besar ini, jika tidak dimanfaatkan sebaik-baiknya sudah pasti tidak akan mempunyai arti, sehingga harus dipikirkan agar penggunaan tanaman obat dapat menunjang kebutuhan akan obat-obatan yang semakin mendesak dan untuk mendapatkan obat pengganti jika resistensi obat terjadi secara meluas.

Salah satu penyakit yang dapat disembuhkan dengan penggunaan obat bahan alam adalah inflamasi. Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki beberapa catatan tentang penyakit inflamasi ini (1). Dalam menyembuhkan rasa sakit akibat adanya inflamasi, pasien banyak mengkombinasikan obat-obat anti inflamasi nonsteroid dengan obat

analgesik, dan obat antipiretik (3). Mekanisme kerja salah satu OAINS adalah menghambat aktivitas enzim siklooksigenase dalam sintesis prostaglandin serta menghambat aktivitas enzim lipoksigenase dalam sintesis leukotrien (4).

Leukotrien mempunyai sifat kemotaktik dan kontraktan otot yang menunjukkan bahwa golongan senyawa ini memainkan peranan penting dalam reaksi alergi dan inflamasi (5). Sejauh ini enzim 12-lipoksigenase merupakan target farmakologis dalam pengembangan obat-obat anti inflamasi. Sayangnya, perancangan produk yang rasional sangat sulit dikembangkan karena memerlukan waktu yang cukup lama dengan informasi struktur molekul yang terbatas (6). Penelitian mengenai kinerja obat anti inflamasi khususnya yang non steroid menghambat aktivitas enzim lipoksigenase masih belum banyak dipublikasikan. Sejauh ini obat anti inflamasi non-steroid tersebut lebih banyak yang bekerja menghambat aktivitas enzim siklooksigenase. Padahal terdapat zat lain, yakni Leukotrien B<sub>4</sub> merupakan zat kemotaktik yang sangat poten dalam proses inflamasi, yang justru dihasilkan oleh enzim lipoksigenase (4). Dengan adanya pemanfaatan obat bahan alam, diharapkan dapat dihasilkan obat-obat alternatif yang dapat bekerja menghambat aktivitas enzim lipoksigenase tersebut. Kemajuan teknologi saat ini memungkinkan upaya penelitian secara ilmiah terhadap bahan-bahan alami. Tujuannya, agar berbagai manfaat tanaman obat sebagai obat anti inflamasi yang dapat menghambat

menghambat aktivitas enzim lipoksigenase dapat semakin banyak teridentifikasi dan secepatnya diimplementasikan kepada masyarakat (2).

Dalam penyembuhan terhadap inflamasi, belum semua tanaman obat dimanfaatkan dengan baik. Dalam era perancangan obat baru, tanaman-tanaman ini menjadi bahan dasar yang harus diteliti lebih lanjut mengenai aktivitas anti inflamasi yang terkandung dalam senyawa aktifnya. Karena besarnya keberagaman struktur zat aktif yang terkandung dalam tanaman serta didukung oleh banyaknya aktivitas farmakologis yang dihasilkan, membuat tanaman obat masih digunakan hingga saat ini dan masih memiliki nilai yang penting dalam era penemuan obat baru (*New Drug Discovery*) (7).

Kurangnya pengetahuan tentang mekanisme molekular pada tanaman obat tersebut membatasi aplikasi penggunaannya dan menjadi rintangan dalam melakukan perancangan obat baru menggunakan prinsip terapeutik lipoksigenase inhibitor dari tanaman obat itu sendiri. Membawa senyawa kimia dari aras ide menjadi obat yang beredar di pasar merupakan proses yang membutuhkan biaya yang luar biasa besar (8). Biaya yang sangat besar tentunya, apalagi dikaitkan dengan kemampuan ekonomi negara-negara berkembang, seperti Indonesia. Seiring dengan perkembangan zaman, telah dilakukan banyak metode tentang perancangan obat baru, salah satunya adalah pemanfaatan komputer sebagai alat bantu dalam penemuan obat. Komputer menawarkan metode *in silico* sebagai komplemen metode *in vitro* dan *in vivo* yang lazim digunakan dalam proses penemuan obat.

Terminologi *in silico*, analog dengan *in vitro* dan *in vivo*, merujuk pada pemanfaatan komputer dalam studi penemuan obat (9). Dalam hal ini komputer membantu untuk mereduksi jumlah senyawa yang diusulkan secara rasional yang terkandung dalam sejumlah tanaman obat yang ada di Indonesia dan diharapkan lebih efektif serta, membantu mempelajari interaksi ligan (senyawa aktif yang terkandung dalam tanaman obat) dengan protein targetnya yakni enzim lipoksigenase.

## **B. TUJUAN PENELITIAN**

1. Membuat suatu *database* senyawa aktif yang terkandung dalam tanaman obat Indonesia beserta manfaat dan struktur tiga dimensi untuk keperluan penambatan molekuler.
2. Mengetahui sifat farmakologis anti inflamasi dari zat aktif tanaman obat dengan melakukan skrining aktivitas farmakologis berdasarkan penambatan pada struktur tiga dimensi dengan protein target 12-lipoksigenase.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Tanaman Obat Indonesia**

Tanaman obat adalah tanaman yang memiliki khasiat obat dan digunakan sebagai obat dalam penyembuhan maupun pencegahan penyakit. Pengertian berkhasiat obat adalah mengandung zat aktif yang berfungsi mengobati penyakit tertentu atau jika tidak mengandung zat aktif tertentu tapi mengandung efek resultan / sinergi dari berbagai zat yang berfungsi mengobati.

Menurut Departemen Kesehatan RI, definisi tanaman obat Indonesia sebagaimana tercantum dalam SK Meskes No 149/SK/Menkes/IV/1978 sebagai berikut :

1. Tanaman atau bagian tanaman yang digunakan sebagai bahan obat tradisional atau Jamu.
2. Tanaman atau bagian tanaman yang digunakan sebagai bahan pemula bahan baku obat (prekursor).
3. Tanaman atau bagian tanaman yang diekstraksi dan ekstrak tanaman tersebut digunakan sebagai obat.

Ramuan obat tradisional umumnya dibuat dari bahan-bahan alamiah tanaman obat. Seperti bagian akar, umbi, rimpang, kayu, kulit pohon, biji-bijian, daun-daunan, buah, getah, bunga ataupun dari ekstrak tanaman obat.

Badan kesehatan dunia (WHO) telah melakukan identifikasi tanaman obat di seluruh dunia, terdapat duplikasi tanaman obat sebanyak 20.000 species. Menurut NAPRALET (lembaga yang menangani data-data tanaman obat di seluruh dunia), telah berhasil mendokumentasikan tanaman obat sebanyak 9.200 dari 33.000 species (10).

Walaupun tanaman yang digunakan sebagai obat tetap memiliki kelemahan yaitu tidak praktis dalam pemakaiannya, akan tetapi tanaman obat ternyata memiliki kelebihan-kelebihan, antara lain (11) :

1. Efektif untuk penyembuhan penyakit yang umumnya belum dapat disembuhkan dengan menggunakan obat-obatan medis.
2. Murah, mengingat umumnya bisa ditanam sendiri di pekarangan rumah, dan sebagian besar bahkan bisa ditemukan tumbuh liar di sekitar pekarangan kita.
3. Pengobatan umumnya dapat dilakukan oleh anggota keluarga sendiri tanpa harus tergantung pada tenaga medis atau paramedis.

#### **B. Metabolit Primer Tanaman**

Bagian terbesar penyusun biomasa tumbuhan adalah metabolit primer. Metabolit primer merupakan senyawa yang secara langsung memiliki fungsi atau terlibat dalam proses metabolisme utama, jalur katabolisme dan anabolisme pada tumbuhan. Beberapa diantaranya berada dalam jumlah yang sangat besar, seperti lignoselulosa yang merupakan jenis bahan

organik terbanyak di bumi ini. Beberapa metabolit primer tumbuhan seperti protein, karbohidrat dan lipida terlibat dalam proses fisiologis dasar tumbuhan dan merupakan sumber makanan yang penting bagi hewan pemakan tumbuhan (12).

### **C. Metabolit Sekunder**

Metabolit sekunder didefinisikan sebagai suatu senyawa yang hanya ditemukan secara terbatas pada kelompok tumbuhan tertentu, atau ditemukan dalam konsentrasi yang lebih tinggi dari kelompok tumbuhan yang lain, dan tidak merupakan sumber makanan yang penting bagi herbivora (1). Senyawa kimia yang terkandung dalam tumbuhan merupakan hasil metabolisme dari tumbuhan itu sendiri. Dari hasil penelitian banyak ahli tidak jarang senyawa kimia ini memiliki efek fisiologi dan farmakologi yang bermanfaat bagi manusia. Senyawa kimia tersebut lebih dikenal dengan senyawa metabolit sekunder yang merupakan hasil dari penyimpangan metabolit primer tanaman (2).

Zat aktif pada tanaman obat umumnya dalam bentuk metabolit sekunder, sedangkan satu tanaman bisa menghasilkan beberapa metabolit sekunder; sehingga memungkinkan tanaman tersebut memiliki lebih dari satu efek farmakologi (13). Tumbuhan memproduksi ratusan ribu jenis metabolit sekunder. Dari jumlah yang sangat besar tersebut, diperkirakan baru sekitar seratus ribu senyawa yang telah teridentifikasi. Senyawa yang termasuk

metabolit sekunder antara lain adalah flavonoid, alkaloid, terpenoid, senyawa fenolik (14).

#### **D. Inflamasi (15)**

Nyeri atau radang merupakan suatu keadaan yang tidak nyaman dan menyiksa bagi penderitanya, namun terkadang nyeri dapat digunakan sebagai tanda adanya kerusakan jaringan. Inflamasi merupakan manifestasi dari terjadinya kerusakan jaringan, dimana nyeri merupakan salah satu gejalanya. Karena dipandang merugikan maka inflamasi memerlukan obat untuk mengendalikannya. Secara garis besar, peradangan ditandai dengan vasodilatasi pembuluh darah lokal yang mengakibatkan terjadinya aliran darah setempat yang berlebihan, kenaikan permeabilitas kapiler disertai dengan kebocoran cairan dalam jumlah besar ke dalam ruang interstisial, pembekuan cairan dalam ruang interstisial yang disebabkan oleh fibrinogen dan protein lainnya yang bocor dari kapiler dalam jumlah berlebihan, migrasi sejumlah besar granulosit dan monosit ke dalam jaringan, dan pembengkakan sel jaringan. Beberapa produk jaringan yang menimbulkan reaksi ini adalah histamin, bradikinin, serotonin, prostaglandin, leukotrien, beberapa macam produk reaksi sistem komplemen, produk reaksi sistem pembekuan darah, dan berbagai substansi hormonal yang disebut limfokin yang dilepaskan oleh sel T yang tersensitisasi.



## Manifestasi Klinis Inflamasi

Fenomena inflamasi meliputi kerusakan mikrovaskular, meningkatnya permeabilitas kapiler dan migrasi leukosit ke jaringan radang. Gejala umum proses inflamasi yang sudah dikenal yaitu, *kolor, rubor, tumor, dolor, dan function laesa* (3).

### E. Mediator dan Substansi Inflamasi

Kerusakan sel akibat adanya noxi akan membebaskan berbagai mediator atau substansi radang antara lain histamin, bradikinin, kalidin, serotonin, prostaglandin, leukotrien dan sebagainya. Mediator tersebut dihasilkan dari metabolisme asam arakidonat. Metabolisme asam arakidonat berlangsung melalui salah satu dari dua jalur utama, sesuai dengan enzim yang mencetuskan, yaitu jalur siklooksigenase dan lipoksigenase. Metabolit asam arakidonat (disebut juga eikosanoid) dapat memperantarai setiap langkah inflamasi (3).

Dari alur lipoksigenase dihasilkan mediator leukotrien (LT) dan hidroksi asam lemak. Mediator LTB<sub>4</sub> potensial untuk kemotaktik leukosit polimorfonuklir, eosinofil dan monosit. Pada konsentrasi lebih tinggi LTB<sub>4</sub> menstimulasi agregasi leukosit polimorfonuklir. Mediator LTB<sub>4</sub> mengakibatkan hiperalgesia. Efek terhadap mikrovaskulatur diinduksi oleh LTC<sub>4</sub> dan LTD<sub>4</sub>, beraksi di sepanjang endotel dari postkapiler venula yang menyebabkan eksudasi plasma. Pada konsentrasi tinggi LTC<sub>4</sub> dan LTD<sub>4</sub> mempersempit

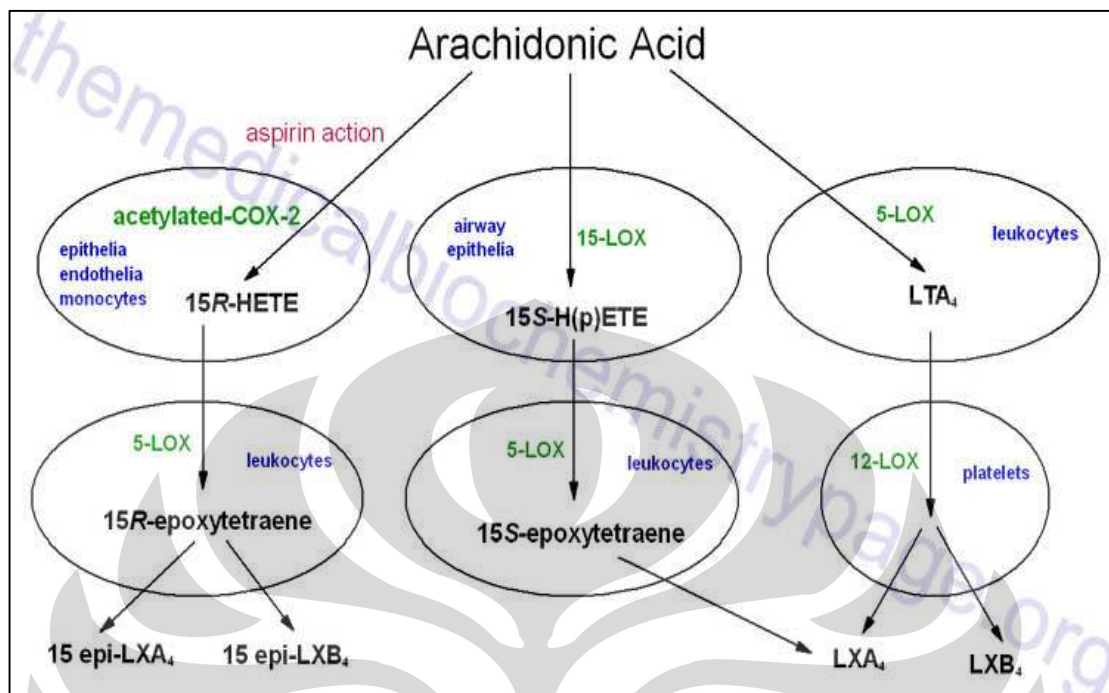
arteriol dan mengurangi eksudasi. Kombinasi LTC<sub>4</sub> dan LTD<sub>4</sub> merupakan mediator baru, dinamakan *slow reacting substance of anaphylaxis* (SRS-A) yang dapat menyebabkan peradangan, reaksi anafilaksi, reaksi alergi dan asma (Campbell, 1991).

#### **F. Enzim 12-lipoksigenase**

Penelitian mengenai enzim lipoksigenase telah dimulai pada tahun 1976. Sejak saat itu perkembangan mengenai enzim tersebut terus dilakukan. Penamaan terhadap enzim ini ditentukan berdasarkan lokasi reaksi oksidasi yang dikatalisis oleh enzim tersebut (16).

Enzim lipoksigenase tersebar luas dalam jaringan hewan dan tumbuhan. Enzim lipoksigenase memposisikan ion besi yang tidak berikatan dengan heme sebagai pusat katalitik dari reaksi oksigenasi pada suatu atom karbon tertentu dalam ikatan asam lemak tak jenuh rantai majemuk. Enzim lipoksigenase kedelai (*soybean lipoxygenase*) merupakan enzim yang pertama kali dikarakterisasi dari tumbuhan dan juga merupakan isozim lipoksigenase pertama yang memiliki struktur kristal tiga dimensi dari hasil analisis menggunakan X-ray (16).

Sampai sejauh ini enzim mamalia lipoksigenase yang sudah dikarakterisasi adalah enzim 5-,8-,12-, dan 15-lipoksigenase. Pemodelan enzim lipoksigenase manusia dengan menggunakan metode identifikasi kesamaan sekuens juga telah dilakukan sebelumnya (6).



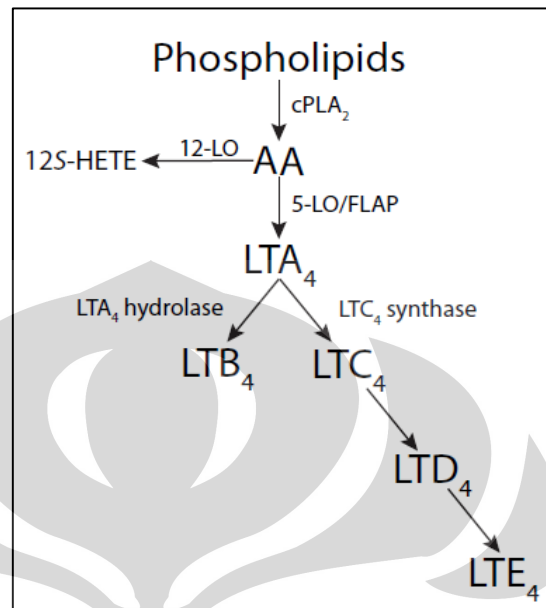
Gambar 1. Jalur metabolisme asam arakidonat (17)

Sejauh ini pula enzim 12-lipoksigenase dari retikulosit kelinci merupakan enzim lipoksigenase dari mamalia yang pertama kali dibentuk struktur kristal tiga dimensi, dan berdasarkan kesamaan struktur tiga dimensi dengan enzim tersebut dapat dibentuk suatu pemodelan terhadap enzim lipoksigenase yang terdapat pada manusia (17).

Jalur lipoksigenase merupakan jalur yang penting untuk membentuk bahan-bahan proinflamasi yang kuat. 12-lipoksigenase merupakan salah satu enzim metabolit asam arakidonat utama pada neutrofil. Produk dari aksinya memiliki karakteristik yang terbaik. 12-HPETE (asam 12-hidroperoksieikosatetranoik) merupakan derivat 12-hidroperoksi asam

arakidonat yang tidak stabil dan direduksi menjadi 12-HETE (asam 12-hidroksieikosatetraenoik) (sebagai kemotaksis untuk neutrofil) atau diubah menjadi golongan senyawa yang disebut leukotrien. Produk dari enzim lipoksigenase adalah leukotrien (LT) A<sub>4</sub> (LTA<sub>4</sub>), LTB<sub>4</sub>, LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>, dan LTE<sub>5</sub>. LTB<sub>4</sub> merupakan agen kemotaksis kuat dan menyebabkan agregasi dari neutrofil. LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>, dan LTE<sub>4</sub> menyebabkan vasokonstriksi, bronkospasme, dan meningkatkan permeabilitas vaskular (3).

Lipoksin juga termasuk hasil dari jalur lipoksigenase yang disintesis menggunakan jalur transeluler. Trombosit sendiri tidak dapat membentuk lipoksin A<sub>4</sub> dan B<sub>4</sub> (LXA<sub>4</sub> dan LXB<sub>4</sub>), tetapi dapat membentuk metabolit dari intermediat LTA<sub>4</sub> yang berasal dari neutrofil. Lipoksin mempunyai aksi baik pro- dan anti inflamasi. Misal, LXA<sub>4</sub> menyebabkan vasodilatasi dan antagonis vasokonstriksi yang distimulasi LTC<sub>4</sub>. Aktivitas lainnya menghambat kemotaksis neutrofil dan perlekatan ketika menstimulasi perlekatan monosit (18). Secara keseluruhan enzim lipoksigenase pada mamalia dan produk yang dihasilkan dari metabolisme substrat tersebut berperan penting pada pertumbuhan sel kanker, metastasis, perusakan sel (inflamasi) serta pertahanan sel.



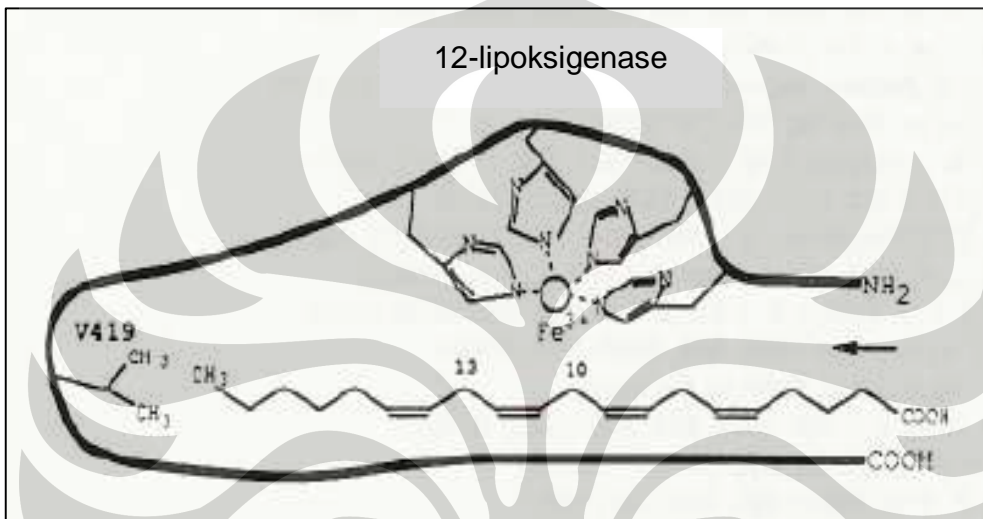
Gambar 2. Jalur sintesa metabolit enzim 12-lipoksigenase (49)

Inhibitor dari jalur lipoksigenase ini memiliki kemampuan kemopreventif dalam mekanisme karsinogenesis paru-paru pada hewan serta mampu memblokir reaksi oksidasi dari reaksi karsinogenesis lainnya.

- **Struktur Kristal enzim 12-lipoksigenase (12-LOX) (19)**

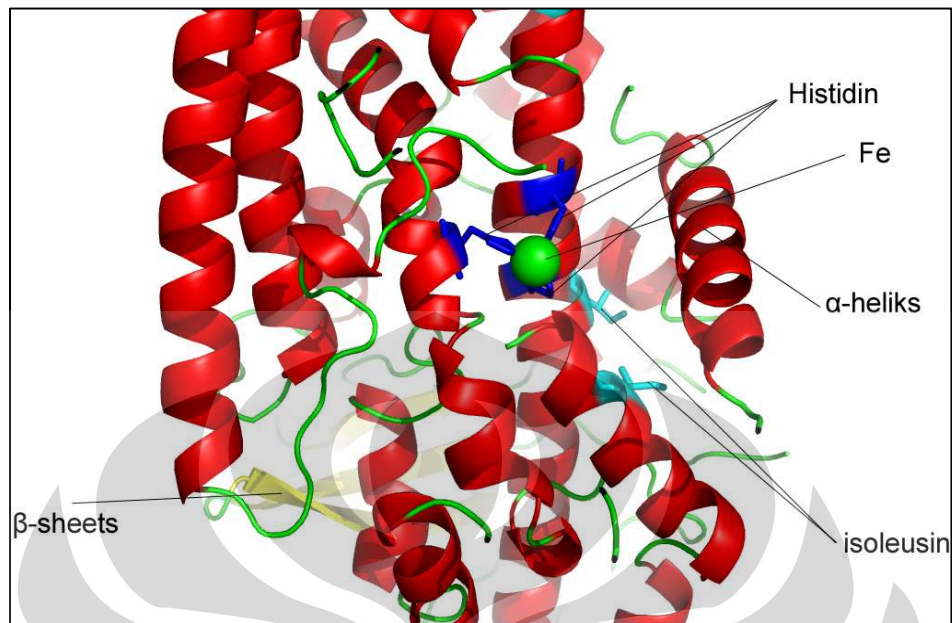
Enzim 12-LOX merupakan sebuah unit asimetrik yang terdiri dari dua unit monomer yang serupa, dengan satu atom besi dsetiap monomernya. Pada N-terminal dari enzim lipoksigenase ini, terdiri dari delapan loop antiparalel  $\beta$ -barrel. Sedangkan pada protein C-terminal membentuk daerah katalitik enzim dan terdapat empat buah loop antiparalel  $\beta$ -sheet. Dua buah struktur heliks yang panjang terletak bersebrangan diatas daerah situs aktif dari enzim 12-LOX. Dalam

heliks tersebut terdapat residu-residu asam amino yang penting dalam hal pengikatan pada daerah sisi aktif. Beberapa residu asam amino histidin berada pada posisi 360, 365, 425 dan 540 yang berperan penting pada pengikatan ligand Fe.



Gambar 3. Model kristal enzim 12-lipoksigenase secara dua dimensi (6)

Masing-masing dari residu histidin ini berperan sebagai agen pengkhelat atom besi. Daerah sekitar pengikatan besi ini merupakan daerah situs aktif enzim 12-LOX yang dijaga oleh struktur  $\alpha$ -helix  $\alpha$ 1. Struktur ini terdiri dari residu asam amino ke 181 hingga 196. Adanya residu isoleusin disekitar daerah situs aktif berperan penting dalam menjaga ukuran rongga dari daerah situs aktif enzim 12-LOX. Rongga tersebut merupakan pusat dari terjadinya reaksi oksigenasi dan pengikatan substrat.



Gambar 4. Daerah situs aktif dari enzim 12-LOX

#### G. Obat Anti Inflamasi Non Steroid (OAINS)

OAINS merupakan pilihan pengobatan yang penting untuk penyakit-penyakit yang menimbulkan gejala nyeri dan inflamasi. OAINS memiliki sifat rangkap analgetik dan antiinflamasi, sehingga pada kasus-kasus penyakit sistem otot dan tulang merupakan pilihan utama dalam mengatasi gejala nyeri dan inflamasinya. (20). OAINS merupakan pengobatan dasar untuk mengatasi peradangan-peradangan di dalam dan sekitar sendi seperti lumbago, artralgia, osteoarthritis, arthritis reumatoid, dan gout arthritis. OAINS merupakan suatu kelompok obat yang heterogen, bahkan beberapa obat sangat berbeda secara kimia. Walaupun demikian, obat-obat ini mempunyai banyak persamaan dalam efek terapi maupun efek samping. Prototip obat

golongan ini adalah aspirin, karena itu OAINS sering juga disebut sebagai obat-obat mirip aspirin (*aspirin-like drug*).

Efek anti inflamasi dari OAINS disebabkan oleh salah satu mekanisme kerjanya menghambat pembentukan leukotrien melalui penghambatan kerja enzim lipoksigenase. Karena efek ini bergantung pada obat yang mencapai enzim lipoksigenase maka distribusi dan farmakokinetik obat menentukan aktivitasnya (5). Contoh obat-obat yang bekerja dengan menghambat enzim lipoksigenase adalah zileuton, kolkisin, dan fenidon. Zileuton, kolkisin, dan fenidon merupakan obat anti inflamasi yang bekerja dengan menghambat sintesa leukotrien di dalam neutrofil pada enzim 5-lipoksigenase. Zileuton umum digunakan sebagai obat asma ataupun kanker paru-paru, sedangkan kolkisin digunakan sebagai obat gout atau rematik, sedangkan fenidon, merupakan obat anti inflamasi yang bekerja sebagai inhibitor non kompetitif pada enzim 5-lipoksigenase.

#### **H. Bioinformatika Penemuan Obat (21)**

Bioinformatika, sesuai dengan asal katanya yaitu “bio” dan “informatika”, adalah gabungan antara ilmu biologi dan ilmu teknik informasi. Pada umumnya, Bioinformatika didefinisikan sebagai aplikasi dari alat komputasi dan analisa untuk menangkap dan menginterpretasikan data-data biologi. Ilmu ini merupakan ilmu baru yang merangkup berbagai disiplin ilmu termasuk ilmu komputer, matematika dan fisika, biologi, dan ilmu kedokteran,



dimana semuanya saling menunjang dan sangat bermanfaat satu sama lainnya.

Cara untuk menemukan obat biasanya dilakukan dengan menemukan zat atau senyawa yang dapat menekan perkembangbiakan suatu agen penyebab penyakit. Karena perkembangbiakan agen tersebut dipengaruhi oleh banyak faktor, maka faktor-faktor inilah yang dijadikan target. Diantaranya adalah enzim-enzim yang diperlukan untuk perkembangbiakan suatu agen. Mula-mula yang harus dilakukan adalah analisa struktur dan fungsi enzim-enzim tersebut. Kemudian mencari atau mensintesa zat atau senyawa yang dapat menekan fungsi dari enzim-enzim tersebut. Meskipun dengan Bioinformatika ini dapat diperkirakan senyawa yang berinteraksi dan menekan fungsi suatu enzim, namun hasilnya harus dikonfirmasi dahulu melalui eksperimen di laboratorium.

#### 1. **Database (22)**

*Database* merupakan suatu kumpulan data yang telah diatur sedemikian rupa sehingga digunakan untuk memudahkan penggunaannya untuk suatu keperluan analisa. Dalam bioinformatika, *database* merupakan sekumpulan data sekuens DNA atau protein yang diperoleh melalui percobaan-percobaan laboratorium yang kemudian disimpan dalam berkas komputer. Setiap berkas sekuens berisi informasi mengenai sekuens, dan nomor akses yang digunakan untuk mengidentifikasi sekuens tersebut.

## 2. **Protein Data Bank (PDB) (23)**

Protein Data Bank (PDB) merupakan tempat penampungan data struktur 3D dari protein dan asam nukleat. Data ini diperoleh dari kristalografi sinar-X atau spektroskopi NMR yang dikerjakan oleh ilmuwan biologi dan biokimia dari seluruh dunia. Situs PDB dapat diakses pada alamat <http://www.pdb.org/>. Situs ini dapat diakses oleh seluruh pengguna internet di seluruh dunia secara gratis. Data-data yang terdapat dalam situs ini dikelola oleh sebuah organisasi yaitu wwPDB ( *Worldwide Protein Data Bank* ). wwPDB terdiri atas organisasi-organisasi yang bekerja sebagai pusat pengumpulan, pemrosesan data, dan distribusi data di PDB.

Salah satu anggota wwPDB adalah *Research Collaboratory for Structural Biology Protein Data Bank* (RCSB PDB), merupakan sebuah portal informasi yang menyediakan berbagai macam aplikasi dan sumber untuk mempelajari struktur molekuler biologi serta hubungan dengan sekuens, fungsi dan penyakit. wwPDB bekerja dengan memelihara dan menjamin arsip tunggal Protein Data Bank yang berupa data struktur makromolekuler yang ada di sumber-sumber internasional, serta menyediakan secara terbuka dan dapat bebas diakses oleh masyarakat dunia.

### I. **Rancangan Obat dengan Bantuan Komputer (*Computer-Aided Drug Design (CADD)*)**

Keberadaan sebuah komputer pribadi dilengkapi dengan aplikasi kimia komputasi yang memadai ditangan ahli kimia komputasi medisinal yang

berpengalaman dapat menayangkan senyawa A secara tiga dimensi (3D) dan melakukan komparasi dengan senyawa lain yang sudah diketahui memiliki aktivitas tinggi, misal senyawa B. Berdasarkan komparasi tiga dimensi dilengkapi dengan perhitungan similaritas dan energi, memberikan gambaran bagian-bagian dan gugus-gugus potensial yang dapat dikembangkan dari senyawa A (*pharmacophore query*). Kemudian berbagai senyawa turunan dan analog disintesis secara *in silico* atau digambar sesuai persyaratan aplikasi komputer yang digunakan (Untuk selanjutnya disebut senyawa hipotetik). Hal ini jelas jauh lebih murah daripada sintesis yang sebenarnya (9).

Keberadaan data struktur tiga dimensi enzim X akan sangat membantu. Aplikasi komputer dapat melakukan studi interaksi antara senyawa-senyawa hipotetik dengan enzim X secara *in silico* pula. Dari studi ini dapat diprediksi aktivitas senyawa-senyawa hipotetik dan dapat dilakukan eliminasi senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas rendah. Sebelum diusulkan untuk disintesis, senyawa-senyawa hipotetik tersebut diprediksi toksisitasnya secara *in silico* dengan cara melihat interaksinya dengan enzim-enzim yang bertanggung jawab pada metabolisme obat. Dari beberapa langkah *in silico* tersebut, dapat diusulkan beberapa senyawa analog dan turunan senyawa A yang memang potensial untuk disintesis dan dikembangkan, atau mengusulkan untuk mengembangkan seri baru.

Jumlah senyawa yang diusulkan biasanya jauh lebih sedikit dibandingkan penemuan obat secara konvensional. Dalam hal ini komputer

membantu untuk mereduksi jumlah senyawa yang diusulkan secara rasional dan diharapkan lebih efektif serta, membantu mempelajari interaksi obat dengan targetnya bahkan kemungkinan sifat toksis senyawa tersebut dan metabolitnya. Peran komputer dalam hal ini bagi negara berkembang dapat dioptimalkan (8).

#### **J. Rancangan Obat Berbasis Ligan (*Ligand Based Drug Design* (LBDD))**

LBDD memanfaatkan informasi sifat fisikokimia senyawa-senyawa aktif sebagai landasan mendesain senyawa baru. Metode *Ligand Based Drug Design* digunakan untuk mendesain senyawa baru dimana struktur dari reseptor obat belum diketahui tetapi molekul ligan atau senyawa kimia yang berikatan dengan reseptor tersebut telah diidentifikasi, sehingga menunjukkan aktivitas biologis yang penting. Pada umumnya senyawa-senyawa yang dapat digunakan pada metode ini memiliki berbagai macam aktivitas, mulai dari aktivitas yang tinggi, tanpa aktivitas, hingga senyawa yang memiliki aktivitas lanjutan yang dibutuhkan untuk target biologis (24).

Tiga metode LBDD yang lazim digunakan adalah *pharmacophore discovery*, hubungan kuantitatif struktur-aktivitas/*quantative structure-activity relationship* (HKSA/QSAR), dan penambatan molekuler. *Pharmacophore discovery* yaitu metode mencari kesamaan sifat fisikokimia antara lain sifat elektronik, hidrofobik dan sterik dari senyawa-senyawa yang dilaporkan aktif kemudian dibangun suatu bagian 3D yang menggabungkan sifat gugus-

gugus maupun bagian senyawa yang diduga bertanggung jawab terhadap aktivitasnya (*pharmacophore*) (9).

Adapun QSAR memadukan statistika dengan sifat fisikokimia senyawa yang dapat dikalkulasi dengan bantuan komputer guna menurunkan suatu persamaan yang dapat digunakan memprediksi aktivitas suatu senyawa. Struktur protein target dapat dimodelkan dari data yang diperoleh struktur kristalnya maupun hasil analisis *nuclear magnetic resonance* (NMR) maupun data genomic (*bioinformatics*). Struktur protein hasil kristalografi dapat diakses di [www.pdb.org](http://www.pdb.org).

Dengan memanfaatkan informasi dari struktur target maupun sifat fisikokimia ligan dapat dilakukan skrining uji interaksi senyawa-senyawa yang diketahui aktif (*ligan*) pada prediksi situs aktif protein. Berdasarkan informasi yang diperoleh dirancang senyawa baru yang diharapkan lebih poten dari senyawa-senyawa yang ada. Hal ini juga digunakan untuk studi interaksi ligan dengan protein targetnya. Salah satu kelemahan *docking studies* untuk studi interaksi adalah asumsi struktur protein yang kaku, yang tidak memfasilitasi *efek induced-fit* dari interaksi protein dengan ligan-nya. Fleksibilitas protein dan interaksinya dengan suatu senyawa dapat dianalisis dengan mengaplikasikan *Molecular Dynamics* (MD), simulasi yang melihat perubahan struktur suatu senyawa terhadap waktu berdasarkan parameter-parameter tertentu (8).

### **K. Penambatan Molekuler (*Molecular Docking*) (25, 26)**

Penambatan molekuler merupakan suatu metode yang digunakan untuk memprediksi suatu kompleks intermolekuler antara molekul obat dengan protein targetnya, atau suatu reseptor ligan dengan protein targetnya. Penentuan suatu kompleks intermolekuler merupakan hal yang penting dalam pengembangan pengobatan baru. Melalui metode penambatan molekuler tersebut dapat dilakukan perubahan sifat-sifat kimia dari makromolekul suatu reseptor.

Dalam melakukan penambatan molekuler diperlukan data berupa informasi ligan atau molekul obat yang akan ditambatkan serta protein target yang ingin digunakan. Informasi yang dibutuhkan antara lain berupa data struktur tiga dimensi dari ligan dan protein target, banyaknya torsi yang dimiliki oleh ligan yang ingin ditambatkan, dan lainnya. Proses penambatan molekuler ini dilakukan dengan bantuan alat komputer. Penggunaan aplikasi metode komputasional dalam metode penambatan molekuler ini sebenarnya telah dilakukan dalam beberapa penelitian selama beberapa dekade terakhir.

Penambatan molekuler ini diterima secara luas untuk menentukan aktivitas suatu obat. Dalam hal ini, molekul obat (ligan) terikat secara molekuler dalam suatu kantong (*pocket*) dengan suatu molekul yang lebih besar, pada umumnya adalah protein. Komplek protein dengan molekul dapat dilihat pada gambar. Ligan pada umumnya memiliki 3-15 ikatan yang dapat berputar serta protein target memiliki 1000-2000 ikatan yang dapat berputar. Selanjutnya terjadi penyesuaian ikatan antara ligan dengan protein

target. Selama berlangsungnya penyesuaian ikatan, molekul tersebut menunjukkan perubahan kimia dan struktur geometri. Oleh karena itu, penambatan molekul dapat diartikan pula sebagai pencarian posisi suatu ligan yang benar-benar sesuai secara geometri dan energi yang dihasilkan untuk dapat masuk kedalam situs aktif dari protein targetnya.

Salah satu kunci dalam penambatan molekuler adalah penghitungan energi konformasi dan interaksi. Fungsi penilaian merupakan bagian yang terpenting dalam proses perancangan obat berdasarkan struktur. Dua karakteristik utama dalam hal penilaian hasil penambatan molekuler adalah selektivitas dan efisiensi. Selektivitas menyatakan bahwa penilaian dilakukan dalam hal membedakan struktur penambatan yang tepat dengan struktur yang kurang tepat, sedangkan pada efisiensi menyatakan bahwa program penambatan tersebut berjalan dalam waktu yang jelas dan tepat. Beberapa program penambatan molekuler yang biasa digunakan adalah Autodock, Dock, FlexX dan GOLD.

#### L. **Penyejajaran (*Superpose*) (27)**

*Superpose* adalah program penyejajaran struktur sekunder. Program superposisi ini mencocokkan struktur tiga dimensi dari protein. Superposisi menggunakan dua data koordinat sebagai data masukan. Struktur protein yang dicocokkan terdiri atas dua bagian. Struktur protein yang tetap disebut sebagai *fit position*, dan yang berpindah mengikuti struktur tetap disebut sebagai *moving position*. Data keluaran yang dihasilkan berupa struktur

protein yang berpindah (*moving*) akan menempati koordinat struktur yang tetap (*fit*). Program yang digunakan untuk menjalankan superposisi adalah CCP4 dengan memilih *Superpose topology* pada perintah *superpose* yang ingin dijalankan (*Superpose molecule task*).

#### **M. PyMOL (28)**

Untuk memahami bagian dari suatu struktur biologis diperlukan visualisasi yang tepat. Saat ini telah banyak tersedia program visualisasi, namun masih memiliki keterbatasan dalam beberapa fungsinya. Oleh karena itu, seorang Warren Lyford Delano mengembangkan suatu program visualisasi yang dapat diakses oleh berbagai kalangan dengan nama PyMOL. PyMOL merupakan suatu program visualisasi molekular yang dapat digunakan secara bebas dan disponsori oleh penggunanya. Program ini dikomersilkan oleh DeLano Scientific LLC yang merupakan perusahaan *software* pribadi yang berdedikasi menghasilkan alat yang berguna dan dapat digunakan oleh komunitas peneliti. Program ini dapat menghasilkan gambar tiga dimensi yang berkualitas dari molekul kecil dan makromolekul seperti protein. PyMOL adalah salah satu program visualisasi yang tersedia bebas yang digunakan untuk biologi struktural.

#### **N. *Molecular Operating Environment* (MOE) (29)**

MOE merupakan sebuah system perangkat lunak (*software*) yang dirancang oleh *Chemical Computing Group, Inc*, yang bermarkas di daerah



Kanada, untuk mendukung system *Cheminformatics*, *Molecular Modelling*, *Bioinformatics*, *Virtual Screening*, Desain berbasis struktur (*Structure-based-design*) dan dapat digunakan untuk membangun aplikasi baru berdasarkan SVL (*Scientific Vector Language*).

#### O. VegaZZ (30)

Pada beberapa tahun terakhir, penggunaan perangkat keras dan perangkat lunak komputer meningkat pesat. Sebuah program kimia komputasional dikembangkan berdasarkan aplikasi kerja sistem UNIX. Sistem ini merupakan suatu sistem perintah yang digunakan dalam sebuah aplikasi komputer untuk menjalankan suatu program. Beberapa tahun yang lalu, dikembangkanlah sebuah proyek untuk membuat perangkat lunak yang mudah digunakan untuk melakukan pemodelan kimia dilengkapi dengan tampilan gambar tiga dimensi, yang dinamakan dengan VEGA ZZ. Program ini merupakan sebuah evolusi terkenal yang dirilis berdasarkan sebuah aplikasi komputer *VEGA OpenGL package* yang didalamnya terdapat beberapa materi baru untuk memudahkan pengguna dalam melakukan penelitian. VEGA ZZ dapat dijalankan dengan menggunakan komputer berbasis Windows dan dapat melakukan pemodelan molekuler dengan cepat dan mudah. VEGA ZZ juga dapat digunakan untuk perancangan obat, optimisasi ligan, pemodelan homologi protein dan perhitungan nilai QSAR suatu molekul.

**P. The Collaborative Computational Project, Number 4 (CCP4) (31)**

CCP4 merupakan suatu kumpulan program yang digunakan untuk menentukan struktur dari suatu makromolekul berdasarkan kristalografi sinar-x. CCP4 pada awalnya dibuat pada tahun 1979 oleh suatu kelompok pembuat kristalografi molekul protein dengan cara mengelompokkan program yang biasa mereka gunakan untuk menganalisa dan memproses data dari kristalografi protein. rangkaian program ini menyediakan metode-metode yang dirancang secara fleksibel dan dapat digunakan penggunaanya untuk mencapai suatu tujuan. Program ini dijalankan berdasarkan standar Fortran77. Program dalam CCP4 dikumpulkan dari berbagai sumber dan dapat digunakan untuk semua aspek kristalografi molekuler. Program yang dapat digunakan pada penelitian ini adalah *Superpose* dan *Edit PDB File*.

**Q. Cygwin**

Cygwin adalah port dari tool pengembangan GNU (GNU's Not UNIX) untuk Microsoft Windows. Hal ini dimungkinkan dengan adanya pusat data Cygwin sebagai penyedia sistem dan lingkungan UNIX yang dibutuhkan oleh tool GNU tersebut. Cygwin adalah sebuah lingkungan yang menyerupai Linux untuk Windows. Cygwin terdiri dari dua komponen:

- Sebuah DLL (cygwin.dll) yang berperan sebagai emulasi Linux API dan berperan menyediakan fungsionalitas Linux API yang penting.

- Sebuah kumpulan *tool*, yang memberikan nuansa dan tampilan seperti Linux

Dengan terinstallnya perangkat semacam ini, memungkinkan untuk dibuat konsol Win32 atau aplikasi GUI yang menggunakan standar Microsoft Win32 API dan/atau Cygwin API. Hasilnya, banyak program penting Unix yang dapat digunakan di Windows tanpa membutuhkan perubahan penting dari kode sumbernya. Ini termasuk mengkonfigurasi dGNU (termasuk paket tool pengembangan Cygwin).

#### **R. ClustalW2**

ClustalW2 merupakan sebuah program komputer yang digunakan untuk melakukan penyejajaran dengan banyak sekuens asam nukleat maupun sekuens asam amino. Program ClustalW2 ini mulai dipopulerkan pada tahun 1994 oleh beberapa ilmuwan mancanegara. Pada awalnya program ini menggunakan sistem teks menu yang sederhana sehingga mudah dimasukkan kedalam semua sistem komputer (32).

Pengguna dapat menjalankan ClustalW2 dari jarak jauh dengan menggunakan beberapa situs Web di seluruh dunia (WWW), atau dapat menggunakan beberapa program yang dapat diunduh agar dapat dijalankan secara lokal dalam sebuah stasiun kerja UNIX (SUN, *Alpha*, *Silicon Graphics*, dan lainnya). Program ClustalW2 dapat digunakan melalui situs <http://www.ebi.ac.uk/clustalw> yang merupakan situs EBI (*European Bioinformatics Institute*) (33).

Program ini melakukan penyejajaran sekuens dengan cara menderetkan beberapa sekuens yang memiliki daerah region yang identik dan residu asam amino yang sama. Penyejajaran ini berguna untuk membandingkan sekuens-sekuens dari sumber yang berbeda. Contohnya untuk mempelajari perbedaan dan kemiripan dengan tipe yang sama tetapi berasal dari organisme yang berbeda sehingga dihasilkan daerah yang identik antara satu spesies dengan spesies yang lain.

#### **S. ArgusLab**

Arguslab merupakan suatu program pemodelan molekul yang dapat dijalankan pada komputer dengan basis Windows 98, NT, dan Windows 2000. ArgusLab merupakan sebuah perangkat lunak yang digunakan untuk pemodelan molekul, grafik, dan desain obat. ArgusLab dilengkapi dengan tampilan antarmuka yang mendukung tampilan grafik Open GL pada suatu struktur molekul sehingga dapat terlihat dengan jelas, selain itu program ini dijalankan dengan perhitungan mekanika kuantum yang menggunakan *server argus compute* (34).

ArgusLab merupakan sebuah terobosan dari suatu perangkat lunak yang berhubungan dengan pembentuk model dari suatu senyawa kimia agar dapat digambarkan dengan model visual yang tepat. Selanjutnya struktur tersebut dapat dimodifikasi atom-atom penyusunnya dan diatur dengan posisi tertentu sehingga akan dihasilkan suatu model baru, hasil modifikasi dari

suatu senyawa kimia (35). Penyedia program ini dibangun oleh *Microsoft Component Object Model (COM)*.

#### **T. Autodock 4.0**

Autodock merupakan sebuah perangkat lunak yang dibangun untuk melakukan suatu prosedur dalam rangka memprediksi interaksi sebuah molekul kecil dari suatu senyawa dengan molekul target. Hal yang menyebabkan tercetusnya pembuatan *software* ini adalah karena adanya permasalahan dalam merancang suatu senyawa bioaktif khususnya dalam hal perancangan obat dengan bantuan komputer (*Computer Aided Drug Design*). Program ini bertujuan sebagai alat yang digunakan pada komputer untuk membantu proses pembentukan interaksi yang akurat (36).

AutoDock terdiri atas dua program utama, yaitu program pelaksanaan *docking* pada *Autodock* dari suatu ligan dengan tempat pengikatannya pada protein target, dan program perhitungan awal pada tempat *docking* tersebut. Sebagai tambahan, melalui program ini, afinitas atom pada tempat *docking* dapat divisualisasikan. Hal tersebut tentu saja sangat membantu, contohnya dapat menuntun seorang ahli kimia menghasilkan suatu zat pengikat yang kuat dari suatu senyawa kimia tertentu (37).

Program *autodock* ini memiliki aplikasi antara lain :

- ▶ Rancangan Obat Berbasis Struktur
- ▶ Optimisasi Senyawa Penuntun

- ▶ *Virtual Screening* (HTS)
- ▶ *Docking Protein*
- ▶ Mekanisme Bahan Kimia lainnya

AutoDock merupakan sebuah perangkat lunak yang bekerja dengan cepat dan memiliki kualitas yang tinggi terhadap prediksi konformasi ligan, AutoDock juga dapat digunakan untuk melakukan *blind docking*, yakni proses *docking* yang lokasi *dockingnya* tidak diketahui. AutoDock juga merupakan sebuah perangkat lunak yang dapat diakses secara gratis oleh seluruh masyarakat dunia dengan mengunduhnya di <http://autodock.scripps.edu/downloads>.

#### **U. LigPlot**

LIGPLOT merupakan sebuah program yang secara otomatis menghasilkan skematis representasi dua dimensi kompleks protein-ligan. Output LigPlot menghasilkan warna, atau hitam dan putih, *PostScript file* yang merupakan output dari program ini memberikan informasi mengenai interaksi molekuler dan kekuatan ikatan yang terbentuk termasuk, ikatan hydrogen, interaksi hidrofobik dan aksesibilitas atom yang berhubungan. LigPlot dapat diakses secara bebas oleh siapa saja dan dapat diunduh melalui <http://www.biochem.ucl.ac.uk/bsm/ligplot/ligplot.html>. Program ini digunakan untuk melihat jenis interaksi yang terjadi antara ligan dengan protein, serta dirancang untuk memudahkan pemeriksaan yang cepat dari banyak kompleks enzim.

## BAB III

### BAHAN, ALAT DAN CARA KERJA

#### A. BAHAN

##### 1. Senyawa Aktif yang terkandung pada tanaman obat Indonesia

Senyawa tersebut adalah golongan *alkaloid*, *steroid*, *terpenoid*, *fenol*, *flavonoid*, dan *saponin*. Senyawa aktif yang digunakan pada penelitian ini meliputi kurkumin, demetoksikurkumin, bis-demetoksikurkumin, asam sinamat, asam kafeat, asam ferulat, baikalin, borneol, katekin, turmeron, zingiberin, dan epigallokatekin.

##### 2. Struktur Dua Dimensi zat berkhasiat dari Tanaman Obat

Struktur dua dimensi dari zat berkhasiat tanaman obat Indonesia dalam bentuk file SDF dengan kode-kode tertentu diunduh dari database *Pubchem Compound* dengan alamat situs <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>.

##### 3. Struktur Dua Dimensi Obat yang Bekerja sebagai Lipoksigenase Inhibitor

Obat-obat yang bekerja dengan menghambat kerja enzim lipoksigenase, digunakan sebagai bahan pembanding dengan

senyawa aktif yang terdapat dalam tanaman obat untuk melihat perbandingan potensial aktivitas anti inflamasi dan posisi sisi aktifnya. Obat lipoksigenase yang digunakan adalah kolkisin, zileuton (Zyflo<sup>R</sup>), fenidon, dan parasetamol. Keempat obat ini memiliki aktivitas anti inflamasi yang bervariasi. Struktur dua dimensi dari keempat obat tersebut diunduh dari database *Pubchem Compound* dengan alamat situs <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>.

#### 4. **Struktur Tiga Dimensi zat berkhasiat dari 88 Tanaman Obat**

Struktur tiga dimensi diperoleh dengan dua metode, yakni mengunduh secara langsung dari database *Pubchem Compound* dengan alamat situs <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> dan apabila senyawa yang kita inginkan tidak memiliki struktur tiga dimensi di pusat data tersebut, maka harus dibuat strukturnya dengan menggunakan suatu program modifikasi senyawa obat baru yakni VEGA ZZ.

#### 5. **Struktur Tiga Dimensi Enzim 12-lipoksigenase**

Sekuens dan struktur tiga dimensi enzim Lipoksigenase-3 yang terikat dengan ligan Epigallokatekin (kode PDB : 1JNQ), enzim *human arachidonat* 12-lipoksigenase (Kode PDB : 3D3L), yang diperoleh dari basis data *Protein Data Bank* (<http://www.rcsb.org/pdb/>).



## B. ALAT

### 1. Perangkat Keras (*hardware*)

Komputer dengan spesifikasi Microsoft Windows XP, Intel Pentium Core 2 Duo 1,8 GHz 2 Processor, yang terhubung langsung dengan internet.

### 2. Perangkat Lunak (*software*)

- a. Program PyMol diunduh dari alamat situs <http://www.pymol.org>
- b. Program CCP4 (Superpose, dan Edit PDB File) diunduh dari alamat situs [http://www.ccp4.ac.uk/ccp4i\\_main.php](http://www.ccp4.ac.uk/ccp4i_main.php)
- c. Program Arguslab
- d. Program Cygwin
- e. Program ClustalW2 diunduh dari alamat situs <http://www.ebi.ac.uk/clustalw/>
- f. Program Vega ZZ
- g. Program Autodock tools 4.0

## C. CARA KERJA

### 1. *Screening Database Senyawa Aktif Tanaman Obat Indonesia*

Penelitian ini diawali dengan mengumpulkan informasi mengenai koleksi tanaman obat yang ada di Indonesia. Berdasarkan literatur, senyawa-senyawa metabolit sekunder yang telah berhasil diisolasi, oleh manusia

selanjutnya didayagunakan sebagai bahan obat. Berdasarkan hal tersebut, akan dibuat suatu *database* zat aktif dari suatu tanaman obat yang dapat memberikan efek farmakologis anti inflamasi melalui penghambatan enzim 12-lipoksigenase. Pencarian *database* senyawa aktif yang berasal dari tanaman obat diperoleh dengan penelusuran literatur pada jurnal-jurnal ilmiah, buku-buku penunjang (38, 39, 40), serta situs-situs tanaman obat yang terdapat di internet, baik yang berasal dari luar maupun situs dalam negeri. Pencarian *database* tanaman kemudian dilanjutkan dengan pencatatan jenis-jenis senyawa aktif yang memberikan efek farmakologis tersebut.

## **2. Pencarian Struktur Dua Dimensi Senyawa Aktif Tanaman Obat dan Molekul Obat Lipoksigenase Inhibitor**

Macam-macam senyawa aktif tanaman obat yang memiliki aktivitas farmakologis anti inflamasi kemudian dilanjutkan dengan pencarian struktur dua dimensi pada masing-masing senyawa. Penelusuran pencarian struktur dua dimensi senyawa aktif tersebut dilakukan menggunakan fasilitas internet. Struktur dua dimensi yang dicari haruslah terdapat dalam format file tertentu mengandung kode-kode format file tersebut yang nantinya akan dipergunakan dalam pembuatan struktur tiga dimensi. Pencarian struktur dua dimensi diunduh dari *database* Pubchem Compound dengan alamat situs yakni <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>, kemudian format file yang di unduhkan tersebut adalah format file SDF. Selain menggunakan fasilitas internet,

pencarian struktur dapat dilakukan dengan penelusuran literatur-literatur pada buku-buku, serta jurnal ilmiah lainnya.

### **3. Pembentukan Struktur Tiga Dimensi Senyawa Aktif Tanaman Obat dan Molekul Obat Lipoksigenase Inhibitor**

Struktur tiga dimensi dibentuk menggunakan suatu program modifikasi senyawa obat baru yakni VEGA ZZ. Format file SDF yang telah di *download* tersebut selanjutnya dimasukkan dalam program VEGA ZZ yang kemudian akan diolah oleh komputer sehingga terbentuk suatu molekul tiga dimensi yang baru.

Apabila *database* struktur senyawa dua dimensi yang diperoleh berasal dari buku-buku atau jurnal ilmiah yang tidak dalam format SDF, maka pembentukan molekul tiga dimensi senyawa tersebut dapat dilakukan menggunakan website ZINC DATABASE dengan alamat <http://zinc.docking.org/>. Struktur senyawa yang sudah diperoleh selanjutnya digambar dalam kotak kerja yang terdapat dalam aplikasi program ZINC, kemudian akan diproses lebih lanjut, hingga selanjutnya akan dihasilkan beberapa senyawa tiga dimensi dari senyawa zat aktif tersebut.

### **4. Pemilihan Senyawa Aktif yang Digunakan pada Penambatan Molekuler**

Berdasarkan *database* senyawa aktif yang terkandung pada tanaman obat, maka dipilihlah beberapa senyawa yang memiliki aktifitas anti inflamasi.

Senyawa ini diperoleh berdasarkan penelusuran literatur melalui buku-buku dan jurnal-jurnal online. Senyawa yang digunakan memiliki aktifitas anti inflamasi yang berbeda-beda, mulai dari aktivitas anti inflamasi yang kuat, sedang, rendah, hingga senyawa yang belum diketahui ada atau tidaknya aktivitas anti inflamasi. Selain itu, pemilihan juga berdasarkan protein target yang digunakan, yaitu enzim 12-lipoksigenase, sehingga pada proses penambatan molekuler nanti (*docking*) dapat diketahui variasi kekuatan interaksi dari ligan yang ada terhadap enzim yang digunakan.

#### **5. Optimasi dan Komparasi Konformasi Senyawa Aktif Tanaman Obat dan Molekul Obat Anti Inflamasi Lipoksigenase Inhibitor**

Setelah diperoleh struktur molekul tiga dimensi dari senyawa aktif tanaman obat tersebut, kemudian dilakukan metode optimasi. Optimasi geometri struktur tiga dimensi senyawa aktif tanaman obat ini berupa minimisasi energi struktur untuk memperoleh konformasi struktur molekul terstabil dengan menggunakan program kimia komputasional VEGA ZZ (30). Minimisasi energi mengubah geometri dari molekul ke energi yang lebih rendah dari suatu sistem dan untuk menghasilkan konformasi yang lebih stabil. Selama berlangsungnya minimisasi, akan dicari suatu struktur molekul yang tidak mengalami perubahan energi jika geometri molekul diubah dengan besaran tertentu (41). Optimasi melalui VEGA ZZ ini meliputi penambahan hidrogen, pemberian *force-field* SP4 dan muatan parsial *gasteiger charges*, penerapan minimisasi dengan metode *trust* sebanyak 1000 langkah

minimisasi, dan pencarian konformasi terbaik berdasarkan torsi fleksibel yang dimiliki.

Selanjutnya, proses dilanjutkan dengan metode komparasi. Komparasi ini dilakukan dengan membandingkan struktur molekul tiga dimensi yang terbentuk dengan senyawa yang sudah diketahui struktur tiga dimensinya. Berdasarkan komparasi tiga dimensi dilengkapi dengan perhitungan similaritas dan energi, memberikan gambaran bagian-bagian dan gugus-gugus potensial yang dapat dikembangkan dari senyawa aktif tanaman obat tersebut. Proses optimasi ini juga dilakukan terhadap molekul obat yang memiliki aktivitas anti inflamasi.

#### **6. Pemilihan Enzim 12-lipoksigenase sebagai Protein Target**

Struktur protein target 12-lipoksigenase yang digunakan berasal dari *database Protein Data Bank (PDB)* yang diakses melalui website [www.pdb.org](http://www.pdb.org). Informasi dari struktur protein 12-lipoksigenase ini bermanfaat untuk mencari sisi aktif protein yang berikatan dengan senyawa. Berdasarkan prediksi sisi aktif dapat dirancang senyawa yang diharapkan berikatan dengan protein target tersebut dan memiliki aktivitas biologis. Struktur tiga dimensi dari 12-lipoksigenase yang diunduh dari PDB lalu dilakukan pengamatan terhadap kelengkapan struktur serta kondisi kristal yang ada, misalnya ligan yang berikatan, resolusi, dan subunit asam aminonya. Apabila terdapat struktur yang terdiri atas lebih dari satu subunit maka harus disejajarkan sekuen asam amino antar-subunitnya terlebih dahulu dengan

menggunakan ClustalW2, lalu dilakukan superposisi dengan menggunakan CCP4 untuk melihat kemiripan sekuen asam amino antar subunitnya. Selanjutnya hasil yang terbaik dari pensejajaran sekuens tersebut akan dipisahkan dari ligan asli yang sebelumnya telah berikatan. Pemisahan ligan ini dilakukan dengan menggunakan Cygwin yang dijalankan melalui LINUX dan disuperposisikan menggunakan CCP4. Hasil yang diperoleh selanjutnya harus dievaluasi kembali untuk mengetahui struktur tiga dimensi yang paling baik, kemudian simpan dalam format pdb.

#### **7. Pengoptimalan Makromolekul Protein Target enzim 12-lipoksigenase**

Pengoptimalan enzim 12-lipoksigenase yang terpilih bertujuan untuk mencari konformasi struktur protein target yang lebih stabil. Pengoptimalan makromolekul ini dilakukan dengan menggunakan sebuah program kimia komputasional yang dilengkapi dengan tampilan gambar tiga dimensi, yang dinamakan dengan VEGA ZZ. Makromolekul 12-lipoksigenase dihilangkan molekul airnya terlebih dahulu, kemudian dilakukan penambahan Hidrogen, pemberian *force-field* dan muatan parsial, serta penerapan minimisasi. Pencarian konformasi enzim 12-lipoksigenase yang paling baik menggunakan parameter *force field* Autodock dan muatan parsial yang ditambahkan adalah *gasteiger charges*. Selanjutnya dilakukan proses minimisasi dengan metode minimisasi *trust* sebanyak 1000 langkah

minimisasi. Berdasarkan hasil minimisasi ini akan diperoleh konformasi enzim yang paling optimal.

## **8. Penambatan (*Docking*) dengan Protein Target enzim 12-lipoksigenase**

Pada tahap ini, hasil pemodelan dari struktur tiga dimensi yang telah dioptimasi tadi, selanjutnya ditambatkan (*docking*) dengan enzim 12-lipoksigenase yang ada. Melalui metode ini, senyawa aktif yang terkandung pada tanaman obat secara struktural dan kimia ditempatkan ke dalam sisi aktif 12-lipoksigenase berdasarkan kesamaan struktur tiga dimensi kedua senyawa (7). Selain itu, dapat dilihat interaksi dari senyawa aktif tanaman obat yang tertambat pada protein-protein target. Akibat dari penambatan inilah yang nantinya akan menghasilkan aktivitas baru dari senyawa-senyawa aktif tanaman obat tersebut. Metode *docking* ini dilakukan dengan menggunakan suatu program aplikasi komputer yang dinamakan AUTODOCK. Metode penambatan molekuler dilakukan dengan tahapan-tahapan sebagai berikut :

- a. Struktur 12-lipoksigenase yang telah dioptimasi dipersiapkan pada program *Autodock*, selanjutnya ditambahkan molekul Hidrogen pada enzim tersebut, dihilangkan hidrogen non-polar dan ditambahkan muatan parsial *gasteiger charges*, kemudian disimpan dalam format pdb.

- b. Struktur senyawa aktif tanaman obat yang telah dioptimasi juga dipersiapkan pada Autodock untuk dikonversi menjadi pdbqt melalui AutoDock Tools (ADT).
- c. Struktur 12-lipoksigenase dalam format pdb juga dikonversi menjadi pdbqt melalui ADT.
- d. Pembuatan *Grid parameter file* (gpf) yang meliputi, pembuatan *map files* yang disesuaikan terhadap ligan dan penentuan batasan ruang penambatan molekuler (*grid box*) dengan memiliki pusat koordinat (X,Y,Z): 20.222, 2.247, 19,5 dan volume *grid box* 50 x 50 x 50 Å. Pembuatan gpf juga dilakukan melalui ADT.
- e. Perubahan *grid parameter file* (gpf) menjadi glg dijalankan melalui Cygwin pada program Autodock 4.
- f. Pembuatan *Docking parameter file* (dpf) yang meliputi, penentuan file pdbqt dari makromolekul dan ligan yang akan digunakan, serta penentuan parameter *docking algorithm*.
- g. Penambatan molekuler dijalankan melalui Cygwin pada Program AutoDock4 dengan mengubah format dpf menjadi dlq.
- h. Proses penambatan molekuler Senyawa aktif tanaman obat pada enzim 12-lipoksigenase dilakukan sebanyak 3 kali.
- i. Lakukan hal yang sama dengan molekul obat yang memiliki aktivitas anti inflamasi.



## **9. Pemingkatan nilai-nilai hasil penambatan (*docking*) yang terbaik (*Scoring*) (42)**

Metode penambatan (*docking*) menggunakan beberapa tipe penilaian (*scoring*) untuk membedakan antara orientasi penambatan (*docking*) dengan molekul yang di-*dock*. Penilaian ini dilakukan selama perhitungan proses *docking* dan hasilnya akan ditulis dalam format *file* yang berbeda. Metode penambatan ini akan menilai interaksi dari ligan dengan reseptor dan juga interaksi ligan dengan protein target. Penilaian ini juga dilakukan dengan mengevaluasi proses penambatan (*docking*) yang terjadi. Untuk mengevaluasi metode penambatan dengan cepat, terlebih dahulu dihitung nilai yang potensial pada tempat penempelan antara ligan dengan protein target tersebut menggunakan *Grid*. Nilai yang diperoleh tersebut selanjutnya akan disusun dan diberi peringkat. Nilai potensial yang tinggi menunjukkan aktivitas biologis yang tinggi pada interaksi senyawa biologi dengan protein target. Hal ini dapat digunakan sebagai bahan acuan dalam merancang penemuan obat baru.

## **10. Analisis Hasil Penambatan Molekuler**

Hasil penambatan molekuler divisualisasi menggunakan program PyMol, ArgusLab, LigPlot, MOE, dan ADT. Kemudian, hasil output data penambatan molekuler pada format *dlg* dianalisa untuk mengetahui nilai kekuatan interaksi inhibisi senyawa aktif tanaman obat tersebut pada enzim

12-lipoksigenase dan juga nilai kekuatan interaksi inhibisi molekul obat pada enzim 12-lipoksigenase.



## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. HASIL

##### 1. **Screening Database Senyawa Aktif Tanaman Obat Indonesia**

Pencarian senyawa aktif yang terkandung dalam tanaman obat dilakukan melalui literatur-literatur yang terdapat pada buku, jurnal-jurnal ilmiah, serta *database* di internet. Tanaman obat yang dipilih merupakan tanaman yang tumbuh di wilayah Indonesia, kemudian tanaman tersebut dikumpulkan dan ditelusuri kandungan zat aktif yang terdapat pada tanaman tersebut beserta manfaatnya. Pada pendataan diperoleh tanaman obat sejumlah delapan puluh delapan. Hasilnya terlampir dalam sebuah *database*. Setiap tanaman obat tersebut kemudian dilakukan pendataan terhadap senyawa aktif yang berkhasiat sebagai obat. Pada data yang diperoleh, terdapat beberapa tanaman yang tidak ada senyawa aktifnya tetapi banyak juga yang mengandung senyawa aktif yang digunakan sebagai obat.

##### 2. **Pencarian Struktur Dua Dimensi Senyawa Aktif Tanaman Obat dan Molekul Obat Lipoksigenase Inhibitor**

Pada penelitian ini dilakukan pencarian struktur dua dimensi dari senyawa aktif tanaman obat yang telah berhasil dikumpulkan. Berdasarkan sumber literatur, terdapat ratusan jenis senyawa aktif yang terkandung didalamnya. Dari ratusan senyawa tersebut, kemudian dicari struktur dua

dimensinya untuk *database* selanjutnya. Hal yang sama juga dilakukan terhadap molekul obat lipoksigenase inhibitor. Obat yang telah diketahui memiliki aktifitas lipoksigenase inhibitor ini selanjutnya diperoleh struktur dua dimensinya.

### **3. Pembentukan Struktur Tiga Dimensi Senyawa Aktif Tanaman Obat dan Molekul Obat Lipoksigenase Inhibitor**

Pada *database* baru yang telah dikumpulkan berdasarkan struktur dua dimensi, maka dilakukan pencarian terhadap struktur tiga dimensinya. Banyaknya senyawa aktif yang dikumpulkan menyebabkan pencarian struktur tiga dimensi sedikit rumit. Oleh karena itu hasil dari struktur tiga dimensi yang berhasil dicari, dikumpulkan dalam suatu file tertentu sebagai bahan *database* selanjutnya. Untuk molekul senyawa obat anti inflamasi lipoksigenase inhibitor juga dilakukan hal yang sama. Pencarian struktur tiga dimensi ini menentukan dalam optimasi selanjutnya. Struktur tiga dimensi dari molekul obat lipoksiigenase inhibitor dapat dilihat pada Gambar 5

### **4. Pemilihan Senyawa Aktif yang Digunakan pada Penambatan Molekuler**

Berdasarkan senyawa aktif tersebut, kemudian dipilihlah senyawa aktif yang bekerja sebagai anti inflamasi untuk selanjutnya di evaluasi aktivitas anti inflamasi dengan enzim 12-lipoksigenase. Beberapa senyawa aktif tanaman yang tidak memiliki aktivitas anti inflamasi pun juga menjadi bahan

percobaan, agar dapat dibandingkan nilai interaksi yang dihasilkan. Senyawa aktif tersebut adalah kurkumin, demetoksikurkumin, bis-demetoksikurkumin, asam sinamat, asam kafeat, asam ferulat, baikalin, borneol, katekin, turmeron, zingiberin, dan epigallocatekin. Senyawa tersebut berasal dari beberapa tanaman obat yang dapat dilihat pada tabel 1. Senyawa inilah yang selanjutnya harus dioptimasi untuk memperoleh konformasi yang paling baik untuk proses penambatan molekuler. Struktur dua dimensi senyawa aktif tanaman obat anti inflamasi yang terpilih dapat dilihat pada Gambar 6

#### **5. Optimasi dan Komparasi Konformasi Senyawa Aktif Tanaman Obat dan Molekul Obat Anti Inflamasi Lipoksigenase Inhibitor**

Pada penelitian ini, dilakukan optimasi struktur dari senyawa aktif tanaman obat yang terpilih dan senyawa obat lipoksigenase inhibitor. Proses optimasi dilakukan melalui suatu program komputasi VEGA ZZ. Melalui program ini, metode optimasi dilakukan dengan cara minimisasi energi terlebih dahulu. Minimisasi energi dilakukan dengan penambahan hidrogen, pemberian *force-field* SP4 dan muatan parsial *gasteiger charges*, penerapan minimisasi dengan metode *trust* sebanyak 1000 langkah minimisasi. Struktur dua dimensi dari senyawa terpilih diminimisasi sehingga diperoleh konformasi yang paling baik di akhir minimisasi. Banyaknya torsi pada tiap senyawa akan mempengaruhi lamanya proses minimisasi. Semakin banyak torsi yang ada pada tiap senyawa, maka semakin lama proses minimisasi. Konformasi yang paling baik akan dihasilkan di akhir proses.

Setelah proses minimisasi energi, dilakukan proses komparasi, yaitu membandingkan struktur tiga dimensi yang terbentuk dengan struktur tiga dimensi yang ada sebelumnya. Sebagian besar, senyawa aktif tanaman obat anti inflamasi yang terpilih, memiliki struktur yang sama pada saat sebelum dan sesudah minimisasi, meskipun ada juga yang memiliki perbedaan. Struktur inilah yang nantinya akan digunakan pada proses penambatan molekuler. Struktur hasil optimasi dapat dilihat pada Gambar 7.

#### **6. Pemilihan Enzim Lipoksigenase sebagai Protein Target**

Pada pemilihan protein target, struktur tiga dimensi dari enzim 12-lipoksigenase dilakukan menggunakan data protein yang dapat diakses secara bebas pada *Protein Data Bank* (PDB). Hasil pencarian enzim ini diperoleh sembilan belas buah struktur kristal dengan identitas PDB 1F8N, 1FGM, 1FGO, 1FGQ, 1FGR, 1FGT, 1HU9, 1IK3, 1JNQ, 1LOX, 1NBQ, 1RRH, 1RRL, 1Y4K, 1YGE, 2IUK, 2P0M, 3BNC, dan 3D3L. Masing-masing pdb memiliki kualitas struktur yang berbeda-beda dan berasal dari sumber yang berbeda pula. Sepuluh struktur berasal dari enzim lipoksigenase-1 tanaman kedelai, yakni 1F8N, 1FGM, 1FGO, 1FGQ, 1FGR, 1FGT, 1Y4K, 1NBQ, 1LOX dan 1YGE. Lima struktur berasal dari enzim Lipoksigenase-3 tanaman kedelai, yakni 1HU9, 1IK3, 1 RRH, 1RRL, dan 2IUK. Satu buah struktur kristal berasal dari enzim 5-lipoksigenase tanaman kedelai yang berikatan dengan epigallokatekin. Dua struktur kristal berasal dari enzim 15-

lipoksigenase, yakni 2P0M dan 3BNC. Satu buah struktur kristal berasal dari enzim 12-lipoksigenase dengan domain arakhidonat manusia, yakni 3D3L.

## **7. Pengoptimalan Makromolekul Protein Target enzim 12-lipoksigenase**

Dari kesembilan belas struktur tersebut, hanya ada dua struktur kristal pdb yang terdiri atas dua subunit, yakni 2P0M dan 3D3L. Struktur kristal PDB divisualisasikan pada gambar 8. Oleh karena itu perlu dilakukan penyejajaran masing-masing sekuens untuk melihat kemiripan tiap subunit. Hasil penyejajaran sekuens menunjukkan bahwa kedua subunit pada 2P0M dan 3D3L sangat identik. Berkas penyejajaran sekuens dapat dilihat pada lampiran 12, sehingga salah satu subunitnya dapat digunakan sebagai bahan pemilihan enzim. Setelah dilakukan penyejajaran sekuens, dilakukan pemisahan pada masing-masing unit dari 3D3L dan 2P0M, yakni unit A dan unit B, kemudian dilakukan superposisi unit 3D3L ke 2P0M untuk melihat kemiripan struktur keduanya. Hasil superposisi kedua kristal tersebut dapat dilihat pada gambar 9.

Hasil penyejajaran sekuens enzim lipoksigenase-1, dan lipoksigenase-3 yang berasal dari tanaman kedelai serta pdb 3BNC juga menunjukkan bahwa subunit setiap struktur kristal juga sangat identik. Berkas penyejajaran sekuens tersebut dapat dilihat pada lampiran 12, sehingga salah satu pdb tersebut dapat digunakan sebagai bahan pemilihan enzim. Dari hasil keseluruhan penyejajaran sekuens, maka akhirnya digunakan struktur pdb

3D3L dan 1JNQ sebagai bahan pemilihan terakhir. Hasil penyejajaran sekuens 3D3L dan 1JNQ menunjukkan bahwa ada beberapa sekuens yang identik satu sama lain. Sekuens asam amino di sekitar daerah pengikatan ligan epigallokatekin pada pdb 1JNQ identik dengan sekuens asam amino 3D3L di tempat yang sama. Setelah penyejajaran sekuens, dilanjutkan dengan superposisi kedua kristal tersebut. Seperti diketahui bahwa pdb 3D3L memiliki 2 sub unit dan 1 JNQ memiliki 1 sub unit, oleh karena itu dalam melakukan superposisi, hanya digunakan 1 unit 3D3L saja yang disuperposisikan ke unit 1JNQ. Pemisahan unit 3D3L dilakukan dengan menggunakan program CCP4. Hasil pemisahan struktur 3D3L dapat dilihat pada gambar 10. Hasil superposisi antara 3D3L dan 1JNQ menunjukkan struktur tiga dimensi yang serupa dengan konformasi yang sedikit berbeda dapat dilihat pada gambar 11. Hasil superposisi 3D3L tersebut selanjutnya dioptimasi untuk penambatan molekuler. Gambar 8 merupakan hasil optimasi makromolekuler 3D3L

#### **8. Penambatan (*Docking*) dengan Protein Target enzim 12-lipoksigenase**

Pada penelitian ini, senyawa aktif tanaman obat ditambatkan ke dalam molekul protein 12-lipoksigenase. Percobaan ini dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali, sehingga tiap senyawa diberi nama X1, X2, dan X3, X adalah nama senyawa aktif tanaman obat terpilih. Hal yang sama juga perlakuan untuk molekul obat anti inflamasi. Hasil penambatan molekuler



ditunjukkan dengan adanya nilai energi bebas ( $\bar{G}$ ) yang dihasilkan dan juga nilai konstanta inhibisi ( $K_i$ ). Masing-masing dari hasil penambatan molekuler ini selanjutnya dihitung nilai rata-ratanya dan deviasi standarnya. Nilai energi bebas ( $\bar{G}$ ) dan konstanta inhibisi ( $K_i$ ) dari senyawa aktif tanaman obat terpilih, masing-masing dapat dilihat pada tabel 2 dan tabel 3. Sedangkan nilai energi bebas ( $\bar{G}$ ) dan konstanta inhibisi ( $K_i$ ) molekul obat anti inflamasi juga masing-masing dapat dilihat pada tabel 4 dan tabel 5.

Pada tabel 3 dan 4 dapat dilihat bahwa senyawa baikalin mempunyai nilai  $\bar{G}$  dan  $K_i$  yang paling kecil, masing-masing sebesar -8,29 kcal/mol, dan 0,83 Km, sedangkan senyawa borneol justru mempunyai nilai  $\bar{G}$  dan  $K_i$  yang paling besar, masing-masing sebesar -4,58 kcal/mol, dan 437,67 Km. Sedangkan untuk hasil penambatan molekuler obat, kolkisin mempunyai nilai  $\bar{G}$  dan  $K_i$  yang paling kecil, masing-masing sebesar -6,93 kcal/mol, dan 8,4 Km, sedangkan parasetamol justru mempunyai nilai  $\bar{G}$  dan  $K_i$  yang paling besar, masing-masing sebesar -4,15 kcal/mol, dan 908,99 Km. Selain nilai  $\bar{G}$  dan  $K_i$ , melalui penambatan molekuler juga dapat dihasilkan interaksi ligan antara senyawa aktif tanaman obat terpilih dan molekul obat anti inflamasi dengan protein target. Visualisasi hasil penambatan molekuler tersebut dapat diamati pada Gambar 13 hingga gambar 29, sedangkan untuk melihat interaksi ligan dengan lebih jelas, dapat dilihat gambar 30 hingga gambar 41.

9. **Pemeringkatan nilai-nilai hasil penambatan (*docking*) yang terbaik (*Scoring*)**

Keseluruhan hasil penambatan molekuler yang berupa nilai energi bebas ( $\bar{G}$ ) dan juga konstanta inhibisi ( $K_i$ ), selanjutnya disusun berdasarkan peringkat mulai dari nilai yang paling kecil hingga nilai yang paling besar. Pemeringkatan nilai-nilai hasil penambatan molekuler ini dapat dilihat pada tabel 2 dan tabel 3.

10. **Analisis Hasil Penambatan Molekuler**

Hasil penambatan molekuler yang terpilih selanjutnya divisualisasikan melalui program PyMol, ArgusLab, VEGA ZZ, MOE, dan LIGPLOT

B. **PEMBAHASAN**

Pada penelitian kali ini dilakukan *screening* aktivitas anti inflamasi dari beberapa senyawa-senyawa aktif yang terkandung di tanaman obat yang ada di Indonesia. *Screening* aktivitas anti inflamasi dari senyawa aktif tanaman obat tersebut dilakukan dengan suatu metode komputasi *in silico*. Metode komputasi yang digunakan tersebut dinamakan *docking* (penambatan molekuler). Adapun tujuan akhir dari penelitian ini adalah untuk memperoleh aktivitas biologis dan sifat farmakologis anti inflamasi suatu zat aktif pada tanaman obat dengan menggunakan kesamaan struktur tiga dimensi dengan protein target 12-lipoksigenase.

Penambatan molekuler merupakan suatu metode yang digunakan untuk memprediksi suatu kompleks intermolekuler antara molekul obat dengan protein targetnya, atau suatu reseptor ligan dengan protein targetnya. Dalam penelitian ini, ligan yang ditambatkan adalah senyawa aktif yang terkandung dalam tanaman obat yang tumbuh di Indonesia dan yang memiliki aktifitas anti inflamasi, sedangkan molekul protein targetnya adalah enzim 12-lipoksigenase yang bekerja menghasilkan leukotrien sebagai mediator inflamasi. Seperti diketahui sebelumnya bahwa mediator inflamasi dihasilkan dari metabolisme asam arakhidonat yang berlangsung melalui salah satu dari dua jalur utama, sesuai dengan enzim yang mencetuskan, yaitu jalur siklooksigenase dan lipoksigenase. Beberapa molekul obat anti inflamasi yang bekerja sebagai lipoksigenase inhibitor juga digunakan sebagai ligan dalam proses penambatan molekuler ini sebagai acuan terhadap interaksi inhibisi yang dihasilkan. Molekul obat tersebut adalah zileuton, kolkisin, fenidon, dan parasetamol. Pemilihan molekul obat tersebut berdasarkan variasi aktivitas anti inflamasi yang dihasilkan, yaitu kuat, sedang, dan juga ringan.

Pertama-tama dilakukan pencarian senyawa aktif tanaman obat Indonesia (*screening database*). Pencarian ini bertujuan untuk mengumpulkan semua informasi mengenai jenis-jenis tanaman obat yang ada di Indonesia, beserta senyawa aktif yang terkandung didalamnya. Pencarian *database* senyawa aktif yang berasal dari tanaman obat diperoleh dengan penelusuran literatur pada jurnal-jurnal ilmiah, buku-buku penunjang,

serta situs-situs tanaman obat yang terdapat di internet, baik yang berasal dari luar maupun situs dalam negeri. Pencarian *database* tanaman kemudian dilanjutkan dengan pencatatan jenis-jenis senyawa aktif yang memberikan efek farmakologis tersebut. Setelah dilakukan pencatatan, kemudian dilakukan pencarian struktur dua dimensi dari kumpulan data senyawa aktif tanaman obat yang berhasil dikumpulkan.

Pencarian struktur dua dimensi diunduh dari *database Pubchem Compound* dengan alamat situs yakni <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>, kemudian format file yang di unduhkan tersebut adalah format file SDF. Pada pelaksanaannya, ada beberapa senyawa yang tidak ada dalam *database Pubchem Compound*, sehingga perlu dilakukan penelusuran literatur lebih lanjut melalui buku-buku ataupun jurnal ilmiah lainnya. Hal ini dikarenakan keterbatasan *database* yang tersedia di *Pubchem Compound*. Proses pencarian struktur ini juga dilakukan pada senyawa obat lipoksigenase inhibitor.

Kumpulan data struktur dua dimensi yang sudah terkumpul selanjutnya digunakan sebagai bahan dalam pembentukkan struktur tiga dimensi. Setelah struktur dua dimensi dari senyawa aktif tanaman obat tersebut terkumpul, dilanjutkan dengan pembentukkan struktur tiga dimensinya. Pembentukkan struktur tiga dimensi ini dilakukan dengan dua cara, yaitu dengan menggunakan program aplikasi komputer, VEGA ZZ dan website ZINC DATABASE dengan alamat <http://zinc.docking.org/>. Semua struktur dua dimensi yang diperoleh dari *database Pubchem Compound*

dapat dibentuk struktur tiga dimensinya menggunakan program VEGA ZZ. Sedangkan struktur senyawa dua dimensi yang diperoleh berasal dari buku-buku atau jurnal ilmiah yang tidak dalam format SDF, maka pembentukan molekul tiga dimensi senyawa tersebut dapat dilakukan menggunakan website *ZINC DATABASE*. Senyawa dua dimensi tersebut digambarkan secara manual dalam kotak gambar yang ada dalam aplikasi situs, dan selanjutnya akan bekerja secara otomatis menghasilkan struktur tiga dimensi.

Setelah semua data senyawa aktif tanaman obat, struktur dua dimensi dan struktur tiga dimensinya terkumpul, dilakukan pemilihan senyawa aktif yang akan digunakan untuk proses penambatan molekuler. Keterbatasan waktu menyebabkan tidak semua data tersebut digunakan pada proses penambatan molekuler. Pemilihan dilakukan dengan penelusuran literatur terlebih dahulu mengenai senyawa aktif yang berasal dari tanaman obat yang dapat memberikan efek anti inflamasi dengan menghambat kerja enzim lipoksigenase. Berdasarkan penelusuran literatur, diketahui bahwa kurkumin kurkumin II (demetoksikurkumin) dan kurkumin III (bis-demetoksikurkumin) terbukti bekerja menghambat aktivitas enzim lipoksigenase(18, 43).

Senyawa lain yang terbukti bekerja sebagai anti inflamasi adalah Epigallocatekin. Senyawa ini merupakan suatu flavonoid yang bekerja sebagai anti inflamasi dengan mekanisme kerjanya menghambat produksi leukotrien pada metabolisme asam arakhidonat pada jalur lipoksigenase. Lebih lanjut lagi, penelitian epigallocatekin sebelumnya juga dilakukan melalui proses penambatan molekuler dengan enzim 12-lipoksigenase (kode

pdb:1JNQ). Sehingga telah dihasilkan struktur Kristal dari enzim 12-lipoksigenase yang berikatan dengan epigallocatekin dan data tersebut sudah ada dalam data kristal *Protein Data Bank*. Senyawa aktif yang dipilih berikutnya adalah asam sinamat, asam kafeat dan asam ferulat. Alasan pemilihan senyawa ini adalah, karena struktur dari ketiga senyawa asam tersebut memiliki kemiripan dengan struktur kurkumin. Oleh karena itu dapat diteliti lebih lanjut mengenai aktifitas anti inflamasinya terhadap enzim lipoksigenase. Senyawa lain yang juga digunakan dalam proses penambatan molekuler ini adalah baikalin, turmeron, katekin, dan zingiberin. Senyawa ini juga merupakan senyawa anti inflamasi, akan tetapi belum diketahui variasi inhibisi yang dihasilkan apabila senyawa itu berinteraksi dengan enzim lipoksigenase.

Selain molekul senyawa aktif tanaman obat, dilakukan pula pemilihan terhadap jenis obat anti inflamasi yang bekerja pada enzim lipoksigenase. Molekul senyawa obat digunakan sebagai bahan pembanding terhadap nilai inhibisi yang dihasilkan oleh senyawa aktif tanaman obat terpilih pada proses penambatan molekuler. Oleh sebab itu, diperlukan penelusuran literatur terhadap jenis-jenis obat anti inflamasi yang bekerja menghambat aktivitas enzim lipoksigenase. Berdasarkan penelusuran literatur itulah, maka dipilih beberapa bahan obat sebagai pembanding. Obat tersebut antara lain, kolkisin, zileuton, fenidon, dan parasetamol. Keempat obat tersebut memiliki aktifitas anti inflamasi yang berbeda-beda. Berdasarkan literatur, kolkisin merupakan obat yang bekerja sebagai anti inflamasi dengan aktivitas yang

cukup tinggi, sehingga pemakaiannya cukup sering digunakan. Sedangkan zileuton (*N*-[1-(1-benzothien-2-yl)ethyl]-*N*-hydroxyurea) merupakan suatu obat asma yang dikeluarkan oleh laboratorium *Abbot*. Obat ini memblok sintesis leukotrien pada enzim 5-lipoksigenase pada jalur metabolisme eiksanoid (44). Fenidon dan parasetamol juga merupakan suatu obat anti inflamasi, meskipun aktifitas anti inflamasinya tidak begitu kuat. Hal tersebut bertujuan agar diperoleh data pembandingan yang bervariasi, sehingga kita bisa membandingkan hasil penambatan molekuler antara senyawa aktif tanaman obat terpilih dengan obat anti inflamasi yang memiliki aktivitas inhibisi kuat, sedang, rendah, ataupun yang tidak ada aktivitasnya sama sekali.

Setelah tersedia senyawa aktif tanaman obat yang terpilih dan molekul obat sebagai ligan, maka selanjutnya dilakukan optimasi dan komparasi struktur-struktur tersebut. Metode optimasi ini berupa minimisasi energi, yaitu mengubah geometri dari molekul ke energi yang lebih rendah dari suatu sistem dan untuk menghasilkan konformasi yang lebih stabil. Tahap ini bertujuan untuk mendapatkan struktur senyawa yang paling stabil yang ditunjukkan dengan energi pembentukan terendah. Pada proses ini dilakukan perancangan senyawa uji pada *software VEGA ZZ* dan dilakukan minimisasi energi pembentukan senyawa hingga didapatkan struktur senyawa aktif tanaman obat terpilih dan molekul obat anti inflamasi lipoksigenase inhibitor dalam keadaan paling stabil. Optimasi ligan ini meliputi penerapan minimisasi dengan metode *trust* sebanyak 1000 langkah minimisasi. Penggunaan

metode *trust* sebanyak 1000 langkah merupakan sebuah parameter standar dalam optimasi ligan ataupun mikromolekul lainnya. Jika digunakan langkah yang lebih kecil dari 1000, maka hasil minimisasi kurang optimal, akan tetapi jika terlalu banyak langkah minimisasi (lebih dari 1000), maka hasilnya justru akan merusak struktur yang terbentuk, sehingga hasilnya pun juga tidak akan optimal.

Setelah bahan ligan tersedia, selanjutnya dilakukan pemilihan protein target yang digunakan sebagai anti inflamasi. Pengembangan perancangan obat anti inflamasi dengan protein target enzim lipoksigenase masih jarang dilakukan dibandingkan penelitian dengan enzim siklooksigenase (COX), umumnya obat-obat anti inflamasi yang beredar di pasaran bekerja dengan menghambat kinerja enzim tersebut. Padahal inflamasi tidak hanya disebabkan karena metabolit enzim COX, akan tetapi lipoksigenase LOX juga turut berperan dalam menghasilkan mediator inflamasi. Sehingga pengembangan terhadap enzim LOX terus dilakukan.

Protein yang digunakan sebagai target anti inflamasi disini berasal dari sumber data *Protein Data Bank* (pdb). Dalam data pdb terdapat Sembilan belas struktur kristal protein target lipoksigenase. Dari kesembilan belas data tersebut, dikelompokkan berdasarkan sumber enzimnya. Selanjutnya masing-masing kelompok enzim ini dilakukan penyejajaran sekuens yang bertujuan untuk melihat kemiripan struktur penyusun enzim tersebut. Pada hasil penyejajaran kelompok enzim LOX-1, diperoleh kemiripan yang sangat baik antara satu kristal dengan kristal yang lain, sehingga dapat digunakan



satu kristal pdb saja yang mewakili kelompok tersebut. Hal yang sama juga dilakukan pada enzim LOX-3. Selanjutnya dilakukan penyejajaran antara LOX-1 dan LOX-3, ternyata hasil yang diberikan menyatakan bahwa sekuens asam amino penyusun enzim tersebut juga mirip, sehingga cukup diambil satu kristal saja yang mewakili dari keseluruhan kristal LOX-1 dan LOX-3. Kristal yang akhirnya dipilih adalah pdb 1JNQ, yakni enzim 12-lipoksigenase yang telah berikatan dengan epigallocatekin. Struktur ini selanjutnya digunakan sebagai acuan dalam menentukan sisi aktif dari enzim lipoksigenase.

Sedangkan pada kristal diluar kelompok tersebut yakni kristal pdb 2P0M dan 3D3L merupakan kristal yang memiliki dua subunit asam amino penyusunnya. Sehingga kedua pdb itu harus disejajarkan juga sekuens asam amino. Apabila terdapat struktur yang terdiri atas lebih dari satu subunit maka harus disejajarkan sekuens asam amino antar-subunitnya menggunakan ClustalW2, lalu dilakukan superposisi dengan menggunakan CCP4 untuk melihat kemiripan sekuens asam amino antar subunitnya. Ternyata hasil penyejajarannya sama, sehingga hanya diperlukan salah satu kristal saja. Kristal berikutnya yang dipilih adalah pdb 3D3L. Alasan pemilihan pdb tersebut adalah karena pdb 2P0M berasal dari enzim lipoksigenase tanaman kedelai, sedangkan pdb 3D3L adalah enzim 12-lipoksigenase yang berasal dari domain arakhidonat manusia, sehingga dapat mewakili struktur enzim yang sebenarnya. Berdasarkan penelitian ini, diperoleh dua buah kristal pdb yaitu 1JNQ dan 3D3L. Dari dua kristal tersebut, akan dibuat kristal

yang homolog, yang lebih optimal dalam penambatan molekuler. Proses ini dilakukan dengan mensuperposisikan enzim 3D3L ke enzim 1JNQ. Enzim 1JNQ yang sudah memiliki ligan epigallokatekin digunakan sebagai model cetakan enzim (*fix model*) dan enzim 3D3L digunakan sebagai bahan enzim yang akan dibuat baru (*moving model*). Hasil dari penelitian ini akan diperoleh struktur kristal 3D3L yang baru, yang memiliki daerah aktif yang sama dengan 1JNQ. Struktur inilah yang selanjutnya akan dioptimasi untuk digunakan sebagai protein target dalam penambatan molekuler.

Pada optimasi molekul target enzim 12-lipoksigenase dilakukan dengan minimisasi struktur enzim. Proses itu dilakukan menggunakan program VEGA ZZ dengan penambahan Hidrogen, penghilangan molekul air, pemberian *force-field Autodock* dan muatan parsial *gasteiger charges*, penerapan minimisasi dengan metode *trust* sebanyak 1000 langkah minimisasi, dan pencarian konformasi terbaik berdasarkan torsi fleksibel yang dimiliki. Atom hidrogen yang hilang pada kristal perlu ditambahkan karena dengan adanya atom hidrogen dapat mempengaruhi interaksi molekuler, misalnya melalui ikatan hidrogen.

Pada proses kristalografi, digunakan molekul air sebagai pelarut dan ikut terdeteksi pada struktur kristal, oleh karena itu harus dihilangkan agar tidak mengganggu proses penambatan molekuler. *Force-field* dan muatan parsial juga perlu ditambahkan karena diperlukan oleh program penambatan molekuler dalam melakukan perhitungan atau *scoring*. Penerapan minimisasi ini hampir sama dengan ligan, akan tetapi parameter yang digunakan pada

optimasi protein menggunakan *force field Autodock*, hal ini dikarenakan program penambatan molekuler yang digunakan adalah Autodock 4.0, sehingga apabila menggunakan *force field* yang sama, akan menghasilkan konformasi struktur protein yang lebih stabil.

Tahap selanjutnya adalah tahap *docking* (penambatan molekuler) senyawa aktif tanaman obat yang terpilih, terlihat pada tabel 2 dan molekul obat anti inflamasi terhadap protein target 12-lipoksigenase (12-LOX). Proses penambatan molekuler dilakukan dengan program AutoDock4 dan algoritme penambatan molekuler yang digunakan adalah *Lamarckian Genetic Algorithm* karena algoritme ini merupakan perpaduan dari *local search* (pencarian optimum lokal) dan *genetic algorithm* (pencarian optimum global). Pada penambatan molekuler, untuk menentukan selektivitas senyawa tersebut terhadap protein target dapat dilihat dari *docking score* yang dihasilkan. *Score* ini adalah nilai energi bebas ( $\bar{G}$ ) dan konstanta inhibisi ( $K_i$ ). Semakin rendah nilai energi bebas ( $\bar{G}$ ) menunjukkan bahwa senyawa makin selektif terhadap protein target. Hal ini karena rendahnya nilai energi bebas ( $\bar{G}$ ) mencerminkan kuatnya interaksi senyawa dengan protein target (45).

Semakin rendah nilai konstanta inhibisi ( $K_i$ ) menunjukkan bahwa senyawa makin efektif menghambat aktivitas kerja dari enzim 12-LOX. Di samping itu, dengan proses *docking* akan diperoleh hubungan antara *score* dengan jenis ikatan senyawa-protein dimana *score* rendah akan yang memiliki afinitas (kekuatan ikatan) tertinggi. Pada hasil percobaan

penambatan molekuler ini, akan diperoleh grafik *cluster* dari senyawa. Grafik ini menampilkan pengelompokan tipe interaksi ikatan yang mirip satu sama lain pada setiap konformasi *docking*, sehingga untuk menentukan nilai dan interaksi hasil penambatan diperlukan konformasi yang terbaik berdasarkan *best dock* dan *best cluster*. Pada penelitian ini, semua hasil penambatan menunjukkan bahwa konformasi pada *best dock* sama dengan hasil yang ditunjukkan pada *best cluster*. Oleh karena itu, cukup hanya satu konformasi saja yang ditampilkan yang dianggap paling terbaik dari semua *run docking* yang dijalankan. Konformasi hasil penambatan molekuler dapat dilihat pada gambar 12. Dari hasil percobaan pada senyawa baikalin, *score*/nilai hasil *docking* dengan 12-LOX lebih rendah bila dibandingkan dengan nilai hasil *docking* senyawa aktif terpilih lainnya. Hal ini berarti baikalin lebih kuat berinteraksi dengan 12-LOX. Dalam hal efektifitas, baikalin dapat dikatakan efektif menghambat enzim 12-LOX karena hasil penambatan molekuler menunjukkan nilai  $K_i$  yang paling kecil dibandingkan dengan senyawa aktif lainnya.

Energi bebas menunjukkan jumlah kekuatan ikatan (ikatan Van der Waals, ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik) antara senyawa aktif dengan protein target. Nilai antara baikalin dengan 12-LOX yang lebih rendah bila dibandingkan dengan senyawa aktif terpilih lainnya menyebabkan ikatan antara baikalin dan 12-LOX lebih stabil. Hasil penambatan molekuler baikalin terhadap enzim 12-LOX menunjukkan nilai  $K_i$  yang paling kecil dibandingkan dengan senyawa aktif lainnya menjelaskan bahwa pada kadar yang rendah

yakni 0,83 Km, baikalin mampu menghambat kerja enzim 12-LOX, sehingga menyebabkan tidak adanya mediator inflamasi yang dihasilkan. Masing-masing data Ki tersebut dikorelasikan dengan data Ki yang terdapat pada jurnal sebagai bahan pembanding kesesuaian hasil uji *in silico* dengan uji lab non *in silico*. Sebagian besar data Ki hasil penambatan molekuler senyawa aktif tanaman obat terpilih tersebut memiliki nilai yang mendekati nilai Ki pada uji diluar *in silico*. Keteresuaian ini memberikan indikasi bahwa senyawa tersebut memang mampu menginhibisi protein 12-lipoksigenase pada kadar hasil penambatan molekuler.

Senyawa aktif kurkumin II dan kurkumin III menempati posisi kedua dan keempat dalam efektifitas dan selektifitas anti inflamasi. Hasil penambatan molekuler ini dapat dilihat secara lengkap pada tabel 2. Hasil penambatan molekuler molekul obat kolkisin terhadap enzim 12-LOX menunjukkan nilai energi bebas ( $\bar{G}$ ) yang paling kecil dibandingkan dengan senyawa obat lainnya, yakni sebesar menjelaskan bahwa pada kadar yang rendah yakni -6,93 kcal/mol, hal ini berarti kolkisin lebih kuat berinteraksi dengan 12-LOX. Dalam hal efektifitas, kolkisin dapat dikatakan efektif menginhibisi enzim 12-LOX karena hasil penambatan molekuler menunjukkan nilai Ki yang paling kecil dibandingkan dengan senyawa aktif lainnya, yakni sebesar 8,40 Km.

Menurut data tersebut dapat disimpulkan bahwa kolkisin memberikan aktivitas anti inflamasi yang sangat kuat, diikuti dengan senyawa zileuton, fenidon, dan parasetamol yang aktivitas anti inflamasinya sangat kecil. Hasil

penambatan molekuler selengkapnya terdapat pada tabel 2 dan tabel 3. Menurut perbandingan data hasil penambatan molekuler senyawa aktif tanaman obat terpilih dan molekul obat anti inflamasi menunjukkan bahwa senyawa aktif tanaman obat terpilih lebih efektif menghambat kerja dari enzim 12-lipoksigenase, sehingga efek anti inflamasi yang dihasilkan lebih besar dibandingkan dengan senyawa obat anti inflamasi yang sudah beredar di pasaran.

Keakuratan data hasil penambatan molekuler senyawa aktif tanaman obat terpilih dan molekul senyawa obat anti inflamasi dapat dibandingkan dengan nilai konstanta inhibisi ( $K_i$ ) yang tersedia di jurnal-jurnal penelitian yang sebelumnya telah diketahui. Salah satu contohnya adalah kurkumin. Pada hasil penambatan molekuler, dihasilkan nilai  $K_i$  rata-rata untuk kurkumin adalah sebesar  $2,2 \mu\text{m}$ . Nilai  $K_i$  tersebut masuk dalam rentang nilai  $K_i$  yang diperoleh melalui uji in vitro oleh peneliti Deschamps dkk, yaitu rentang antara  $1,7-4,3 \mu\text{m}$ . berdasarkan uji tersebut, hasil yang diperoleh dari penambatan molekuler patut dijadikan acuan dalam melakukan penelitian yang lebih lanjut lagi.

Selain dihasilkan energi bebas dan konstanta inhibisi, pada proses penambatan molekuler juga dapat dilihat ikatan senyawa aktif tanaman obat serta senyawa obat lipoksigenase inhibitor dengan protein target 12-lipoksigenase yang dapat menggambarkan aktivitas biologis dalam tubuh. Enzim 12-lipoksigenase memiliki situs aktif yang terbentuk oleh atom Fe non heme yang dibatasi oleh heliks  $\alpha 1$ . Residu asam amino yang penting adalah

His 360, His 365, His 453, dan His 540. Pada daerah sisi aktif tersebut, masing-masing dari residu histidin ini berperan sebagai agen pengkhelat atom besi. Selain itu, adanya rantai samping hidrofob yang mengarah ke celah sisi aktif, berperan penting dalam menjaga ukuran rongga dari daerah situs aktif enzim 12-LOX, seperti yang terlihat pada lampiran 9. Rongga tersebut merupakan pusat dari terjadinya reaksi oksigenasi dan pengikatan substrat. Rantai samping hidrofob tersebut berasal dari Ile 357 dan Ile 593 dan Val 190. Apabila terdapat ligan yang berinteraksi dengan residu-residu histidin dan rantai samping hidrofob tersebut, maka dapat menghambat terjadinya reaksi dioksigenase untuk menghasilkan metabolit dari enzim lipoksigenase yang berperan sebagai mediator inflamasi. Pada hasil penambatan molekuler justru diperoleh rantai samping hidrofob yang lebih spesifik yakni, Ile 357, Ile 593, Leu 193, Leu 194, Leu 361, Leu 597, Leu 589, Val 190 dan Phe 352. Selain itu terdapat pula residu dengan rantai samping bersifat polar dan berpotensi membentuk ikatan hidrogen dengan inhibitor yakni Ser 594 dan Cys 559. Beberapa residu pada enzim 12-LOX dengan rantai samping polar juga tampak berperan pada interaksi hidrofobik karena memiliki bagian hidrofob, seperti rantai karbon, yang mengarah pada situs aktif enzim 12-LOX, sedangkan bagian polarnya mengarah keluar sisi aktif. Residu ini adalah asam glutamat (Glu) 356. Glu 356 merupakan residu yang penting dalam hal stabilitas ikatan hidrogen yang terbentuk, sehingga residu ini akan mengakibatkan ikatan hidrogen yang lebih rigid.

Pada hasil penambatan molekuler kurkumin, demetoksikurkumin, dan bisdemetoksikurkumin menunjukkan bahwa ketiga senyawa tersebut menempati sembilan daerah hidrofobik dengan baik dan terdapat satu buah ikatan hidrogen pada kurkumin, yaitu antara gugus metoksi kurkumin dengan Ser 594. Ketiga senyawa ini juga berinteraksi hidrofobik dengan His 360 dan His 365, sehingga karena adanya interaksi tersebut menyebabkan terjadinya penghambatan reaksi oksigenasi pada aktivitas metabolisme mediator inflamasi. Hasil yang sama juga diperoleh pada penambatan molekuler senyawa baikalin, dan zingiberin. Namun demikian, tidak terbentuk adanya ikatan hidrogen antara masing-masing senyawa, meskipun posisi tersebut memiliki energi bebas pengikatan dan  $K_i$  yang paling rendah. Hasil penambatan senyawa aktif turmeron, katekin, dan epigallokatekin menunjukkan bahwa kedua senyawa tersebut menghambat aktivitas anti inflamasi dengan menempati enam daerah hidrofobik, yakni Ile 357, Leu 194, Leu 361, His 360, Val 190 dan Tyr 191. Sedangkan untuk ikatan hidrogen, epigallokatekin dan katekin membentuk tiga buah ikatan hidrogen, yakni antara gugus hidroksi dengan kedua ujung atom O pada residu Glu 356. Turmeron hanya membentuk satu buah ikatan hidrogen, yakni antara gugus hidroksinya dengan atom N pada residu rantai samping His 425.

Untuk senyawa asam kafeat dan asam sinamat, hasil penambatan molekulernya agak sedikit berbeda. Hal ini dikarenakan, kedua senyawa tersebut menempati dua sisi yang berbeda pada situs aktif enzim lipoksigenase. Hal ini mungkin saja berkaitan struktur dari kedua senyawa



tersebut yang hampir identik dengan setengah bagian dari dimer kurkumin. Sehingga pada hasil penambatan molekuler, apabila struktur kedua senyawa tersebut di *superimpose* dengan kurkumin, maka akan terdapat dua posisi yang berbeda. Posisi yang pertama merupakan posisi struktur kurkumin yang berinteraksi dengan rantai samping utama hidrofob enzim 12-LOX, yang berperan penting pada aktivitas inflamasi, sedangkan posisi yang kedua merupakan daerah diluar sisi aktif enzim 12-LOX seperti yang terlihat pada gambar 23, 24 dan 25. Hal ini sesuai dengan penelitian Mou Thuan Huang, dkk, bahwa asam kafeat dan asam sinamat berperan sebagai inhibitor non kompetitif untuk menghambat aktivitas enzim lipoksigenase. residu rantai samping dari interaksi antara asam kafeat dan asam sinamat dapat dilihat pada tabel 6. Hasil penambatan molekuler pada senyawa asam ferulat menunjukkan bahwa senyawa tersebut menempati delapan daerah hidrofobik dengan baik, dengan terbentuk satu ikatan hidrogen antara gugus hidroksi dengan atom N pada residu His 425. Sedangkan pada senyawa borneol, hasil penambatan molekuler menunjukkan bahwa struktur ini menempati enam buah daerah hidrofob dengan terbentuknya satu buah ikatan hidrogen antara gugus hidroksi senyawa tersebut dengan atom O pada residu asam amino Glu 356. Hal ini menunjukkan bahwa kedua senyawa tersebut memiliki aktifitas anti inflamasi meskipun dengan interaksi yang lemah.

Pada hasil penambatan molekuler senyawa obat lipoksigenase inhibitor, zileuton dan kolkisin memberikan hasil interaksi ligan dengan protein target yang hampir serupa dengan kurkumin. Residu asam amino

rantai samping yang berinteraksi juga sebagian besar menempati sembilan daerah hidrofobik. Hasil penambatan untuk obat parasetamol, hanya menempati lima daerah hidrofobik, sedangkan untuk fenidon, hasil penambatan molekuler menunjukkan bahwa senyawa tersebut menempati posisi diluar situs aktif enzim 12-LOX, karena sebagian besar, senyawa tersebut berinteraksi dengan residu-residu diluar situs aktif. Ikatan hidrogen yang terbentuk pada keempat senyawa obat juga bervariasi. Pada hasil analisa Ligplot, kolkisin tidak memberikan adanya interaksi ikatan hidrogen, meskipun nilai  $K_i$  nya paling kecil. Untuk zileuton, ikatan hidrogen terbentuk atom N senyawa dengan atom O pada Glu 356 dan atom N pada His 360. Hasil penambatan molekuler fenidon, memberikan ikatan hidrogen antara atom N senyawa dengan atom O pada residu Leu 589 dan Gln 586, sedangkan parasetamol memberikan ikatan hidrogen antara atom N senyawa dengan atom N residu Glu 356. Dari hasil penambatan molekuler, terlihat bahwa sebagian besar senyawa berinteraksi dengan Glu 356 yang berperan penting dalam pengikatan substrat, dan juga His 360, His 365, dan His 540 yang penting dalam penghambatan aktivitas enzim 12-LOX. Residu rantai samping dari interaksi antara senyawa obat lipoksigenase inhibitor dengan protein target 12-LOX dapat dilihat pada tabel 7.

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### A. KESIMPULAN

1. Hasil pencarian senyawa aktif tanaman obat indonesia, diperoleh delapan puluh delapan nama tanaman obat yang terdapat di Indonesia dengan banyak senyawa aktif yang terkandung didalamnya. Nama-nama tersebut dimasukkan dalam suatu database yang disertai lengkap dengan struktur dua dimensi, serta struktur tiga dimensi dari tiap-tiap senyawa aktif yang terkandung dalam tanaman obat.
2. Hasil dari penambatan molekuler diperoleh bahwa terdapat beberapa senyawa yang memiliki aktifitas sebagai anti inflamasi dengan menghambat kerja enzim 12-lipoksigenase. Aktivitas tertinggi penghambatan enzim tersebut dimiliki oleh senyawa baikalin dengan nilai  $K_i$  rata-rata sebesar  $0,83 \mu\text{m}$ , diikuti oleh kurkumin, dan epigallokatekin. Sedangkan untuk turmeron, zingiberin dan borneol memiliki aktivitas anti inflamasi yang cukup rendah. Nilai tersebut dikorelasikan dengan hasil yang diperoleh pada senyawa obat lipoksigenase inhibitor. Kolkisin yang merupakan obat anti inflamasi kuat memiliki nilai  $K_i$  sebesar  $8,4 \mu\text{m}$ , dan parasetamol yang memiliki aktivitas anti inflamasi yang cukup lemah memiliki nilai  $K_i$  sebesar  $908.99 \mu\text{m}$ .

**B. SARAN**

1. Perlunya pencarian yang lebih banyak lagi terhadap nama tanaman dan senyawa aktif yang berkhasiat sebagai anti inflamasi, agar diperoleh variasi aktivitas yang lebih beragam.
2. Perlu dilakukan metode optimasi dan minimisasi yang lebih terarah terhadap masing-masing senyawa ligan atau protein target untuk menghasilkan konformasi struktur yang lebih stabil dan spesifik untuk penambatan molekuler.
3. Perlu penelitian yang lebih lanjut lagi untuk memastikan efek anti inflamasi beserta efek toksisitas, dan lain-lain yang diberikan senyawa aktif tanaman obat tersebut.

## DAFTAR ACUAN

1. Zein, Umar. *Pemanfaatan Tumbuhan Obat Dalam Upaya Pemeliharaan Kesehatan*. Medan: Divisi Penyakit Tropik dan Infeksi Bagian Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatera Utara, 2005.
2. Anonim. *Pemanfaatan Obat Belum Maksimal*. Dikutip dari <http://www.kompas.com/read/xml>. 2008. 9 Desember 2008, pk. 22.30.
3. Turk Rhen, Ph.D., dan John A. Cidlowski, Ph.D. Mechanisms of Disease Antiinflammatory Action of Glucocorticoids-New Mechanisms for Old Drugs. *Jour. of med*, 2005.1711-1723.
4. Lelo, Aznan., D.S. Hidayat, dan Sake Juli. *Penggunaan Anti-Inflamasi Non-Steroid Yang Rasional Pada Penanggulangan Nyeri Rematik*. Medan: Fakultas Kedokteran, Bagian Farmakologi dan Terapeutik, Universitas Sumatera Utara, 2004.
5. Albar, Dr. H. Zuljasri. *Penggunaan Obat Anti Inflamasi Non Steroid pada Penyakit Rematik*. Jakarta: Bagian Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Universitas YARSI. Cermin Dunia Kedokteran, 1995.13-16.
6. Walther, Matthias, et al. *The Inhibition of Mammalian 15-Lipoxygenases by the Anti-Inflammatory Drug Ebselen: Dual-Type Mechanism Involving Covalent Linkage and Alteration of the Iron Ligand Sphere*. Jerman: Institute of Biochemistry, University Clinics Charite´ , Humboldt University, 1999.56:196–203.
7. Chen, Xin., Choong Yong Ung,. Yuzong Chen. “Can an in Silico drug Target Search Method be used to Probe Potential Mechanism of Medicinal Plant Ingredients?” Singapura: Departement of Computational Science, National University of Singapore, 2003.
8. Istyastono, Enade Perdana. *Peran Komputer Dalam Penemuan Obat*. Dikutip dari <http://www.chem-is-try.org/?sect=fokus&ext=41>. 18 Januari 2009, pk. 23.13

9. Istyastono, Enade Perdana. *Sekilas Tentang Pemodelan Molekul*. Dikutip dari <http://molmod.org/index.php>. 19 Januari 2009, pk. 23.38.
10. Anggraini, Dwi. *Ramuan Obat Tradisional*. Dikutip dari <http://www.suaramerdeka.com/>. 2002. 9 Desember 2008, pk 23.20.
11. Anonim. *Tumbuhan Berkhasiat Obat Sebagai Obat*. Dikutip dari <http://www.suaramerdeka.com/>. 2004. 9 Desember 2008, pk 23.30.
12. Chumaidah, Nur F., dan Taslim Ersam. *Isolasi dan Uji Antimikrobia Senyawa Kumarin dari Fraksi Polar pada Ekstrak Etil Asetat Garcinia balica Miq. (Mundu Alas)*. Surabaya: Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi 10 November, 2006.
13. Pramono, S., Katno. *Tingkat Manfaat dan Keamanan Tanaman Obat dan Obat Tradisional*. Yogyakarta: Balai Penelitian Tanaman Obat Tawangmangu, Fakultas Farmasi, Universitas Gajah Mada, Tanpa Tahun.
14. Widarto, Heru Tri. *Bagaimana Tumbuhan Melindungi Diri dari Serangan Serangga Hama?*. Dikutip dari <http://ditjenbun.deptan.go.id>. 10 Desember 2008, pkl 23.01
15. Sjahrir, Hasan. *Mekanisme Terjadinya Nyeri Kepala Primer Dan Prospek Pengobatannya*. Medan: Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatera Utara, 2004.
16. Anonim. *Introduction The Lipoxygenase Family*. Dikutip dari [http://www.diss.fuberlin.de/diss/servlets/MCRFileNodeServlet/FUDISS\\_derivate\\_000000002494/01\\_Introduction.pdf](http://www.diss.fuberlin.de/diss/servlets/MCRFileNodeServlet/FUDISS_derivate_000000002494/01_Introduction.pdf). 13 Februari 2009. Pkl 22.06.
17. Vignola, Antonio M., et al. *Assessment Of Airway Inflammation In Asthma. USA J. Resp. Critic. Med.*, 1998. **157**: 184-187.
18. Jankun, Ewa Skrzypczak., et al. Curcumin inhibits lipoxygenase by binding to its central cavity: theoretical and X-ray evidence. *Int. J. Mol. Med.*, 2000. **6**: 521-526.

19. Khana, Savita., *et al.* Molecular Basis of Vitamin E Action. Tocotrienol modulates 12-Lipoxygenase, a Key Mediator of Glutamate-Induced Neurodegeneration. *Jour. of Biol. Chem.*, 2003. **278**: 43508–43515.
20. InfoPOM. Obat Anti Inflamasi Non Steroid (OAINS). Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. **Vol. IV**. Ed.3. Maret. 2003.
21. Astuti, Dwi., dan M. Abdushshomad E. *Bioinformatika : Perkembangan, disiplin Ilmu dan Penerapannya di Indonesia*. 22 hlm. Dikutip dari <http://bebas.vlsm.org/v06/Kuliah/SistemOperasi/2003/50/Bioinformatika.pdf>, 1 Januari 2009, pk. 23.15.
22. Nair, Achuthsankar S. *Computational Biology & Bioinformatics: A Gentle Overview*. India: Communications of the Computer Society of India, 2007.
23. Bernstein, F.C., T.F Koetzle, G.J.B. William & E.F. Meyer Jr., Protein Data Bank: a Computer-Based Archival File for Macromolecular Structures. *Eur. J. Biochem*, 1977. 319-323.
24. Pandit, Deepangi. *Ligand-based drug design : I. conformational studies of GBR 12909 analogs as cocaine antagonists; II. 3d-QSAR studies of salvinorin a analogs as kappa opiod agonists. Abstract*. Dikutip dari <http://library1.njit.edu/etd/2000s/2007/njit-etd2007-051/njit-etd2007-051.html>. 2007. 4 Januari 2009, pk. 23.08.
25. Teodoro, Miguel L., George N. Philips Jr., dan Lydia E. Kavraki. *Molecular Docking: A Problem With Thousands Of Degrees Of Freedom*. Amerika Serikat: Department of Computer Science and Department of Bioengineering, Rice University, Tanpa Tahun.
26. Iqbal, Muhammad., *et al.* *Molecular Docking of Coumarin and Its Derivative to Protein Kinase C (PKC) and Tubulin Receptors : Inhibition and Interaction Study to Those Receptors Correlated with Artemisia vulgaris L. Leaves Extract's Cytotoxic Effect in T47D cell*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Gajah Mada, 2008.
27. Zuker, M., dan R. L. Somorjai. The Alignment Of Protein Structures In Three Dimensions. *Jour. Math. Bio.*, 1999. **15**: 55-78.

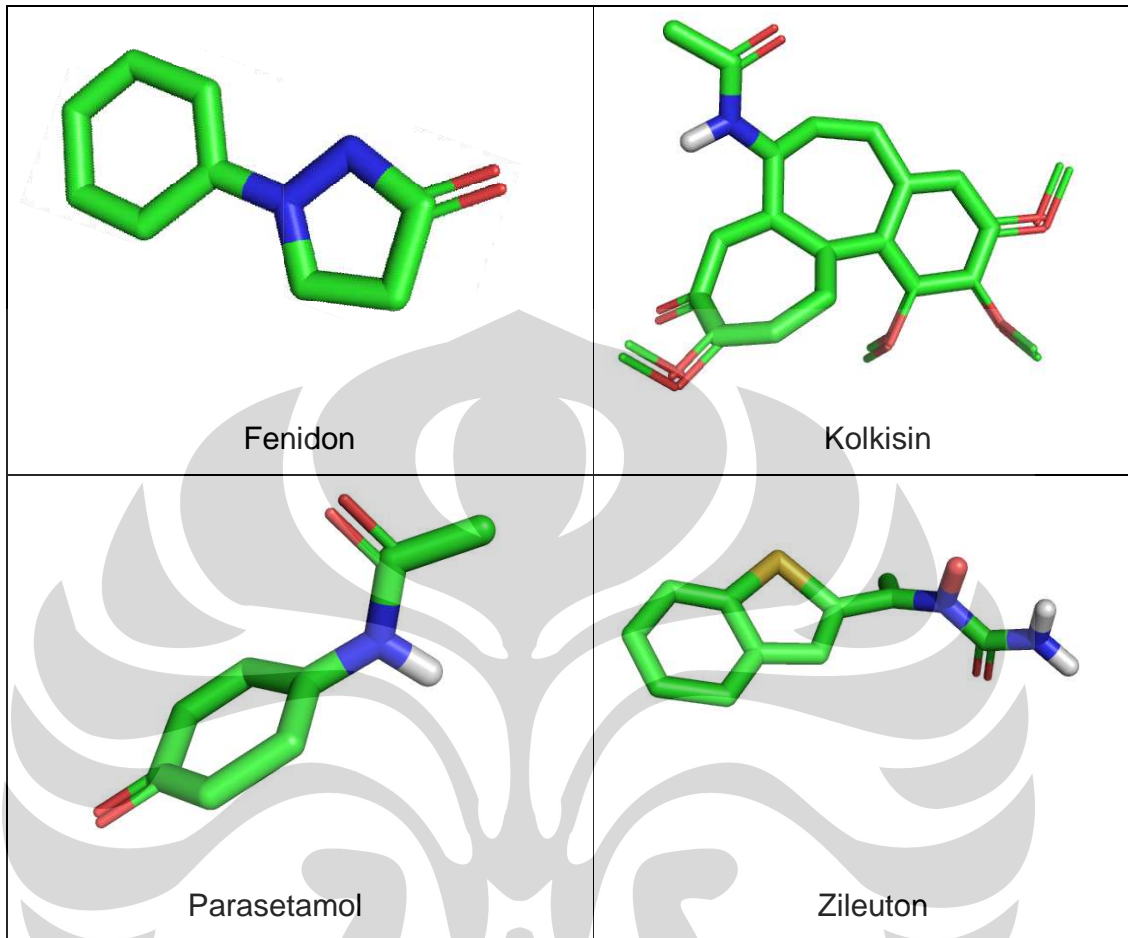
28. DeLano, W.L. & S. Bromberg. *Pymol User's Guide*. 66 hlm. Dikutip dari <http://pymol.sourceforge.net/newman/userman.pdf>. 11 Januari 2009, pk. 23.45
29. Inc, Chemical Computing Group. *Molecular Operating Environment*. Dikutip dari <http://www.chemcomp.com/software-moe2008.html>. 11 Desember 2008. 22.10
30. Pedretti, Alessandro., Angelica Mazzolari, dan Giulio Vistoli. VEGA ZZ: a Versatile toolkit for drug design and protein modeling. *J.C.A.M.D*, 2004. **18**: 167-173.
31. Keegan, Ronan. *What's new and Automation developments in CCP4*. Dikutip dari <http://www.ccp4.ac.uk>. 13 Maret 2009, pk. 23.10.
32. Thompson, Julie D., Toby. J. Gibson, dan Des G. Higgins. *Multiple Sequence Alignment Using UNIT 2.3 ClustalW and ClustalX*. *Current Protocols in Bioinformatics*, 2003. 1-22.
33. Thompson, Julie D. *The Clustal Series of Programs for Multiple Sequence Alignment*. *The Proteomics Protocols Handbook*, 2003. **47**: 493-503.
34. Thompson, Mark A. *ArgusLab*. Dikutip dari <http://www.planaria-software.com/>. 3 Desember 2008, pk. 21.00.
35. Anonim. *Introduction to Molecular Modeling using ArgusLab*. Dikutip dari <http://www.bluffton.edu/~bergerd/classes/CEM221/ArgusLabIntro.pdf>. 3 Desember 2008, pk. 22.10.
36. Morris, Garrett M., David S. Goodsell, & Ruth Huey. *Automated Docking of Flexible Ligands to Receptors, Autodock User's Guide*. Dikutip dari [http://saf.bio.caltech.edu/hhmi\\_manuals/autodock/autodock\\_2\\_4\\_userguide.pdf](http://saf.bio.caltech.edu/hhmi_manuals/autodock/autodock_2_4_userguide.pdf). 5 Desember 2008, pk. 21.15.
37. Morris, Garrett M. *Autodock*. Dikutip dari <http://autodock.scripps.edu/>. 7 Desember 2008, pk. 23.20.
38. Stoger, Dan Bensky., Erich S., dan Steven Clavey. *Chinese Herbal Medicine- Materia Medica 3<sup>rd</sup> Edition*. Eastland Press, Inc, 2004.



39. Anonim. Vandemikum Bahan Obat Alam. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1989.
40. Ross, Ivan A. *Medicinal Plant of The World, Chemical Constituent Traditional, and Modern Medicinal Uses*. New Jersey: Humana Press, 1999.
41. Anonim. Petunjuk Praktikum Kimia Komputasi Indonesia". 13 hlm. Dikutip dari <http://exchange.drawloop.com/published/download/>. Tanpa Tahun. 10 Desember 2008, pk. 19.50.
42. Anonim. *Scoring for Docking*. Dikutip dari <http://www.csb.yale.edu/userguides/dock/html>. 10 Januari 2009, pkl 20.56.
43. Jankun, Jerzy., Ansari M. Aleem., dan Sylvia Malgorzewicz. Synthetic curcuminoids modulate the arachidonic acid metabolism of human platelet 12-lipoxygenase and reduce sprout formation of human endothelial cells. *J. Mol Cancer Ther*, 2006. **5(5)**: 1371-1382.
44. Gunning, William T., Paula M. Kramer dan Michael A. Chemoprevention by Lipoxygenase and Leukotriene Pathway Inhibitors of Vinyl Carbamate-induced Lung Tumors in Mice. *Jour. Canc. Research*, 2002. **62**: 4199–4201.
45. Mita Ardiani., *et al.* *Ekstrak etanolik kulit buah jeruk mandarin (Citrus reticulata) memacu proliferasi dan ekspresi cox-2 pada sel kanker kolon WiDr*. Yogyakarta: Cancer Chemoprevention Research Center (CCRC), Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, 2008.
46. Deschamps, J.D., V A. Kenyon., dan Ted R. Holman. *Baicalein is a potent in vitro inhibitor against both reticulocyte 15-human and platelet 12-human lipoxygenases*. California: The eScholarship Repository, University of California, 2006.
47. Began, G., E. Sudharshan., dan A.G. Appu Rao. *Inhibition of Lipoxygenase 1 by Phosphatidylcholine Micelles-Bound Curcumin*. India: Department of Protein Chemistry and Technology, Central Food Technological Research Institute , 1998. **33**: 1223-1228.

48. Pilai, S., Oresajo, C.; Hayward, J. Ultraviolet radiation and skin aging: roles of reactive oxygen species, inflammation and protease activation, and strategies for prevention of inflammation-induced matrix degradation. Abstract. *Int. J. Cosm. Sci*, 2005. **27**: 17-34.
49. Gubitosi, Rose A., *et.al.* 5-Lipoxygenase, but Not 12/15-Lipoxygenase, Contributes to Degeneration of Retinal Capillaries in a Mouse Model of Diabetic Retinopathy. *Diab. Jour*, 2008. **57**: 1387-1393.
50. Anonim. *An Online Introduction to Advanced Biology*. Dikutip dari <http://faculty.fmcc.edu/mcdarby/Majors101Book/>. 12 Mei 2009, pkl.21.03.





Gambar 5. Struktur tiga dimensi molekul obat anti inflamasi lipoksigenase inhibitor

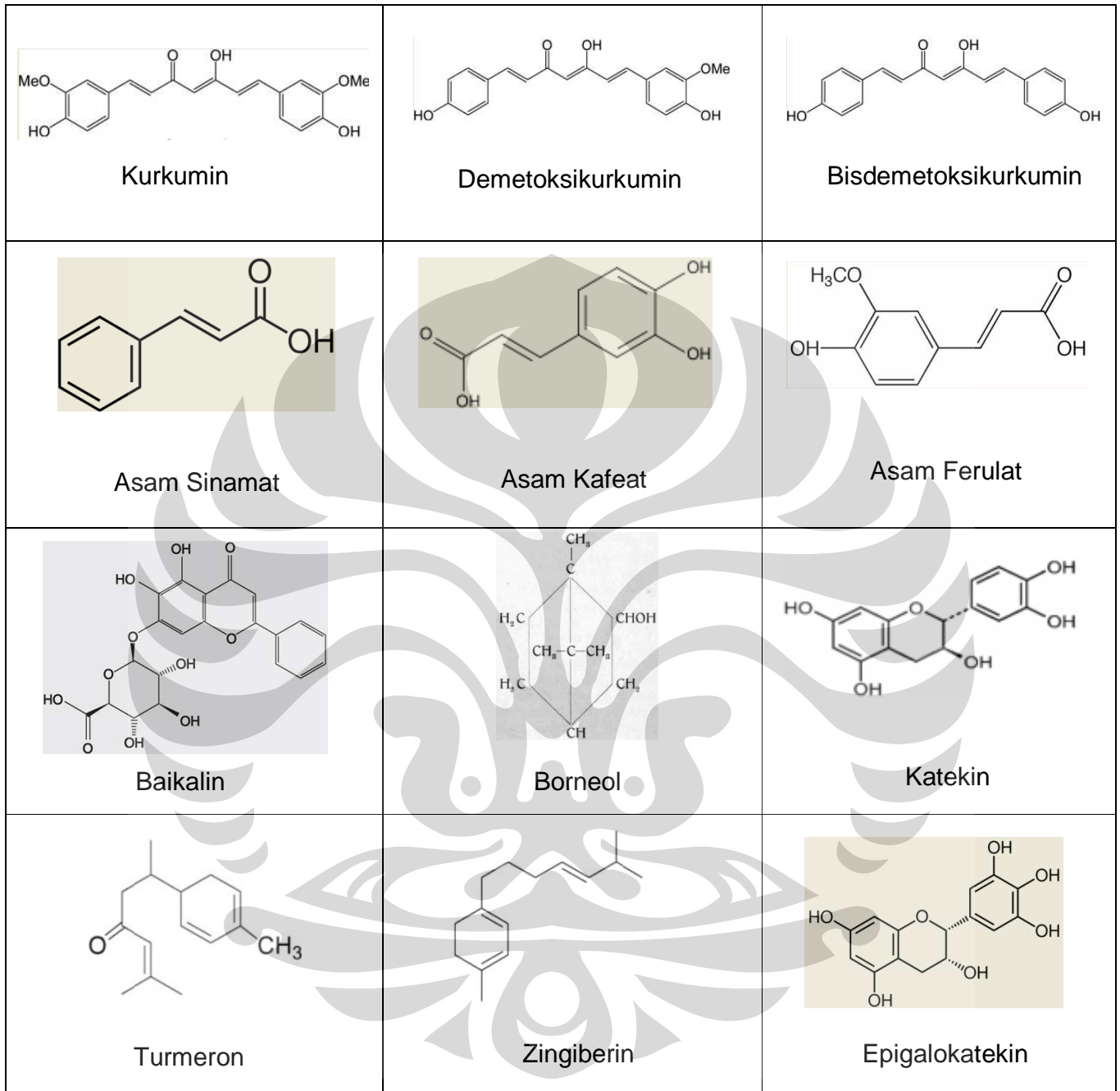
Keterangan : Merah = atom O

Biru = atom N

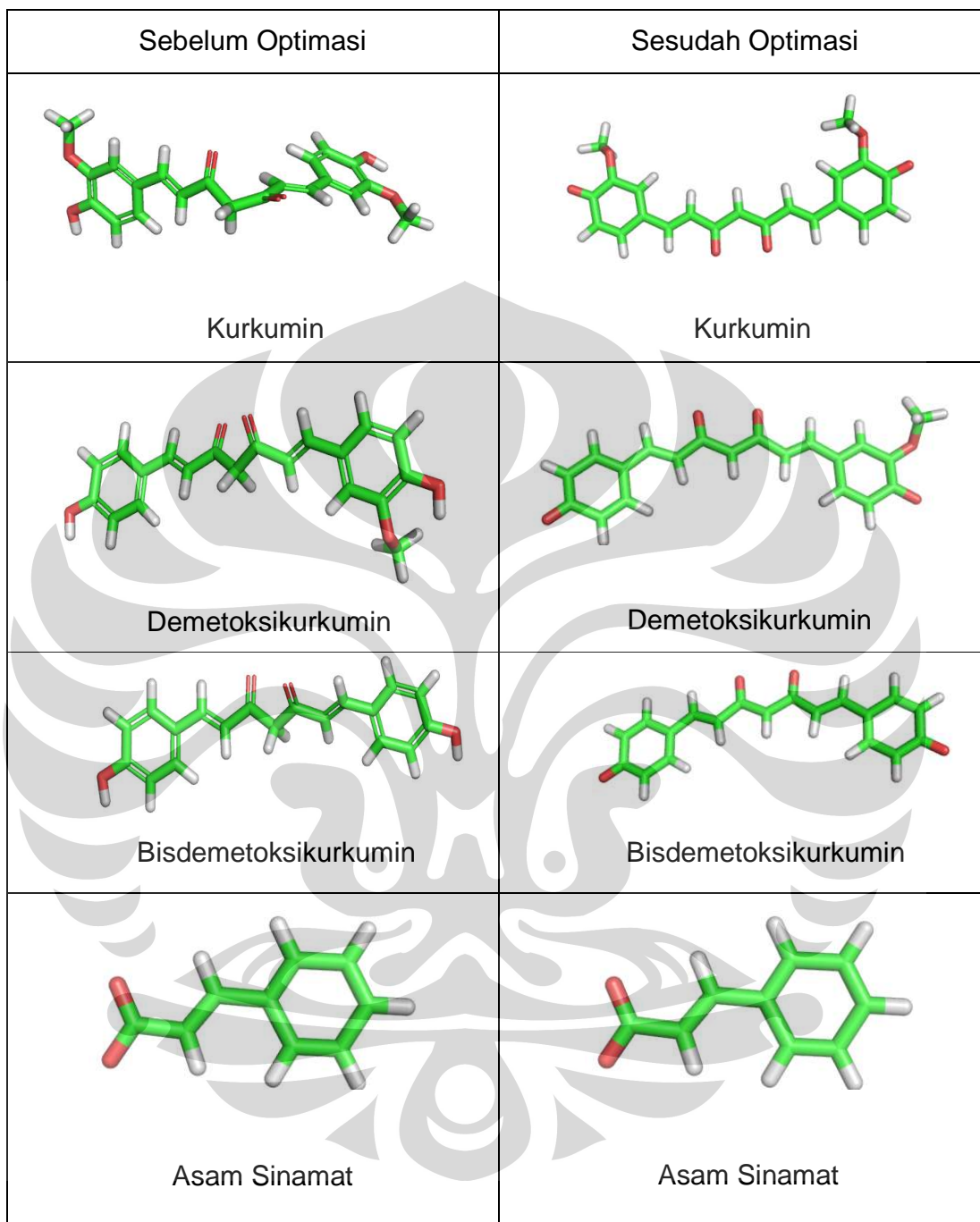
Hijau = atom C

Emas = atom S

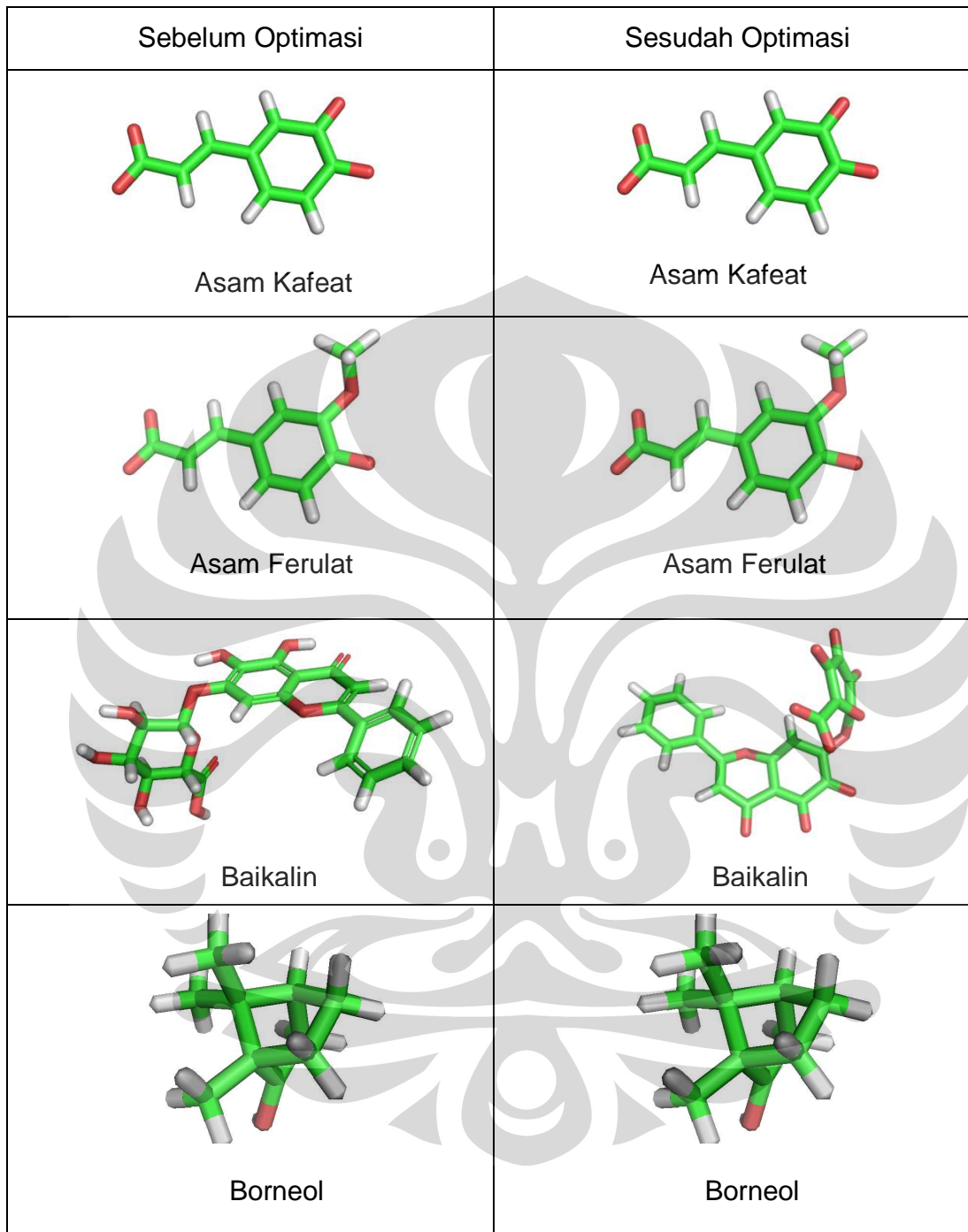
Putih = atom H



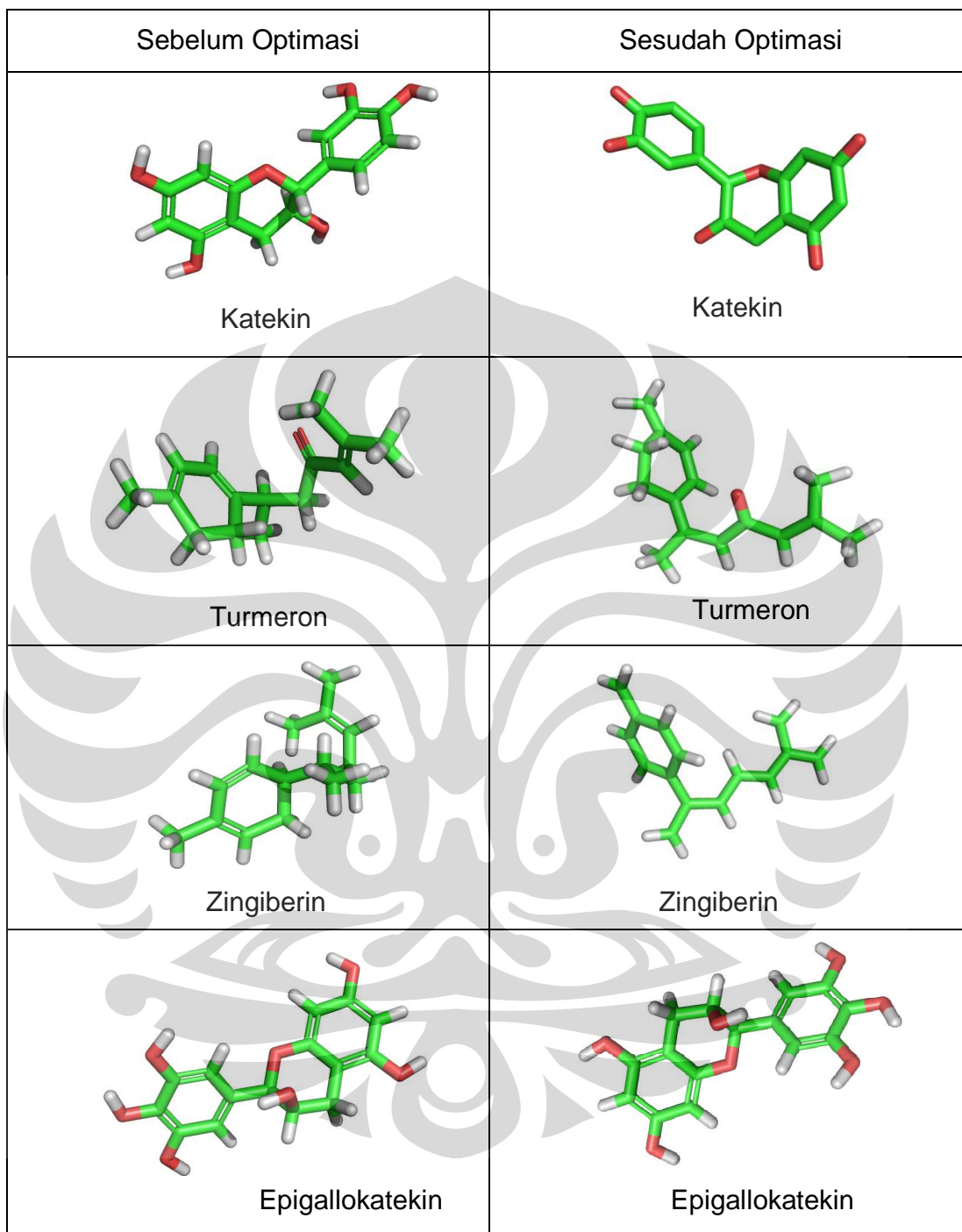
Gambar 6. Struktur dua dimensi senyawa aktif tanaman obat terpilih



Gambar 7. Struktur tiga dimensi senyawa aktif tanaman obat terpilih, sebelum dan sesudah optimasi.

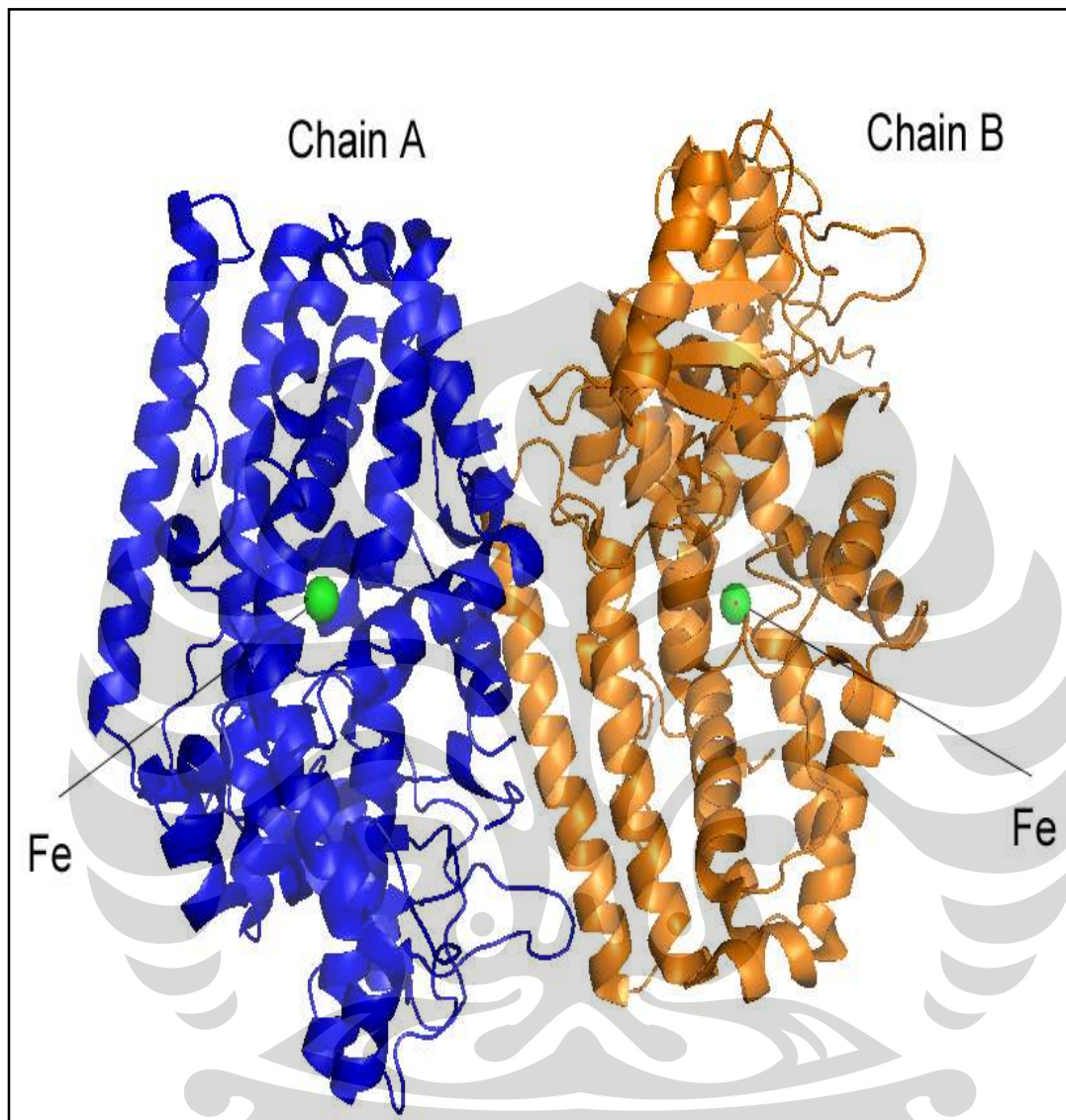


Gambar 7. Struktur tiga dimensi senyawa aktif tanaman obat terpilih, sebelum dan sesudah optimasi (lanjutan).



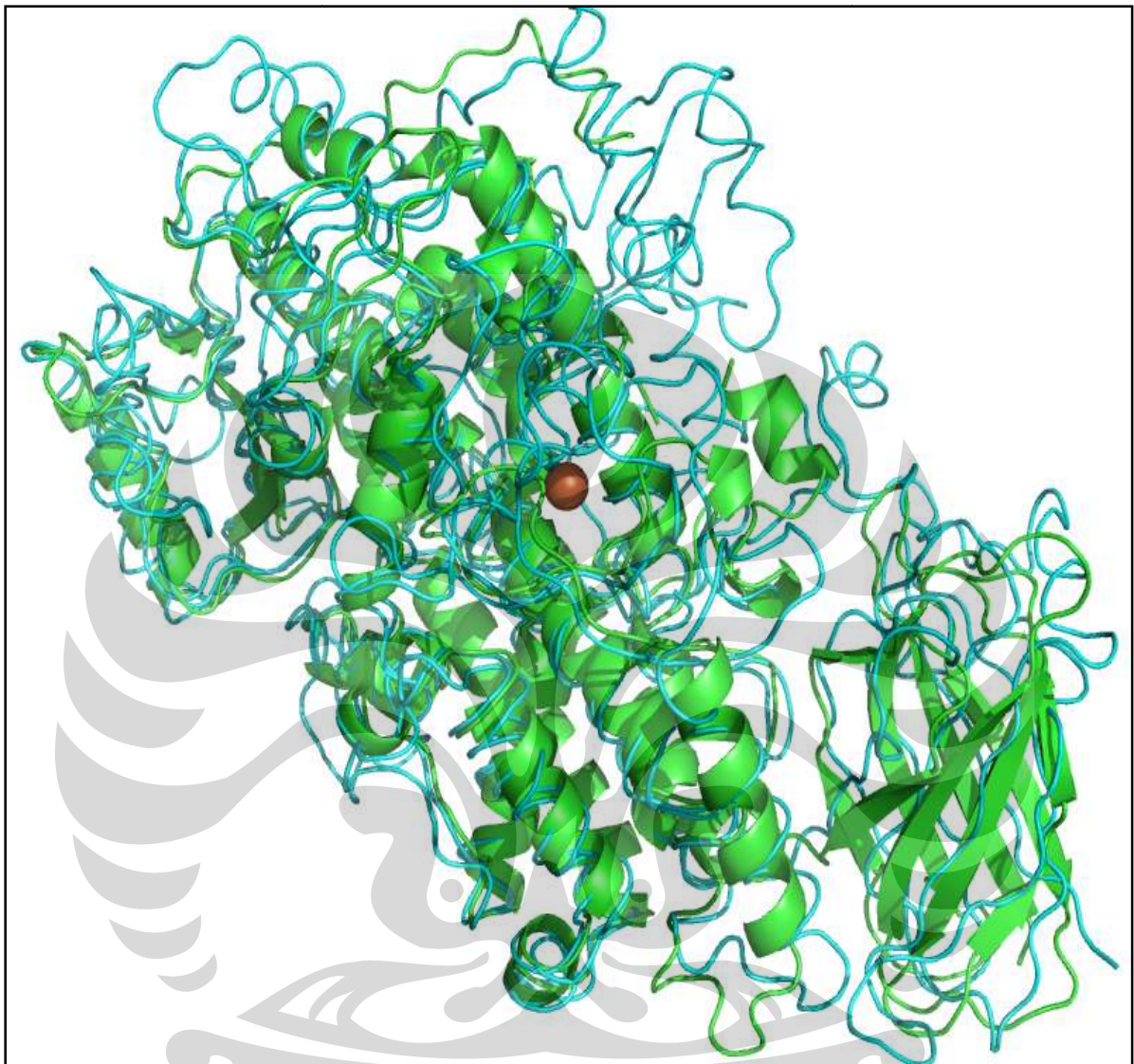
Gambar 7. Struktur tiga dimensi senyawa aktif tanaman obat terpilih, sebelum dan sesudah optimasi (lanjutan)



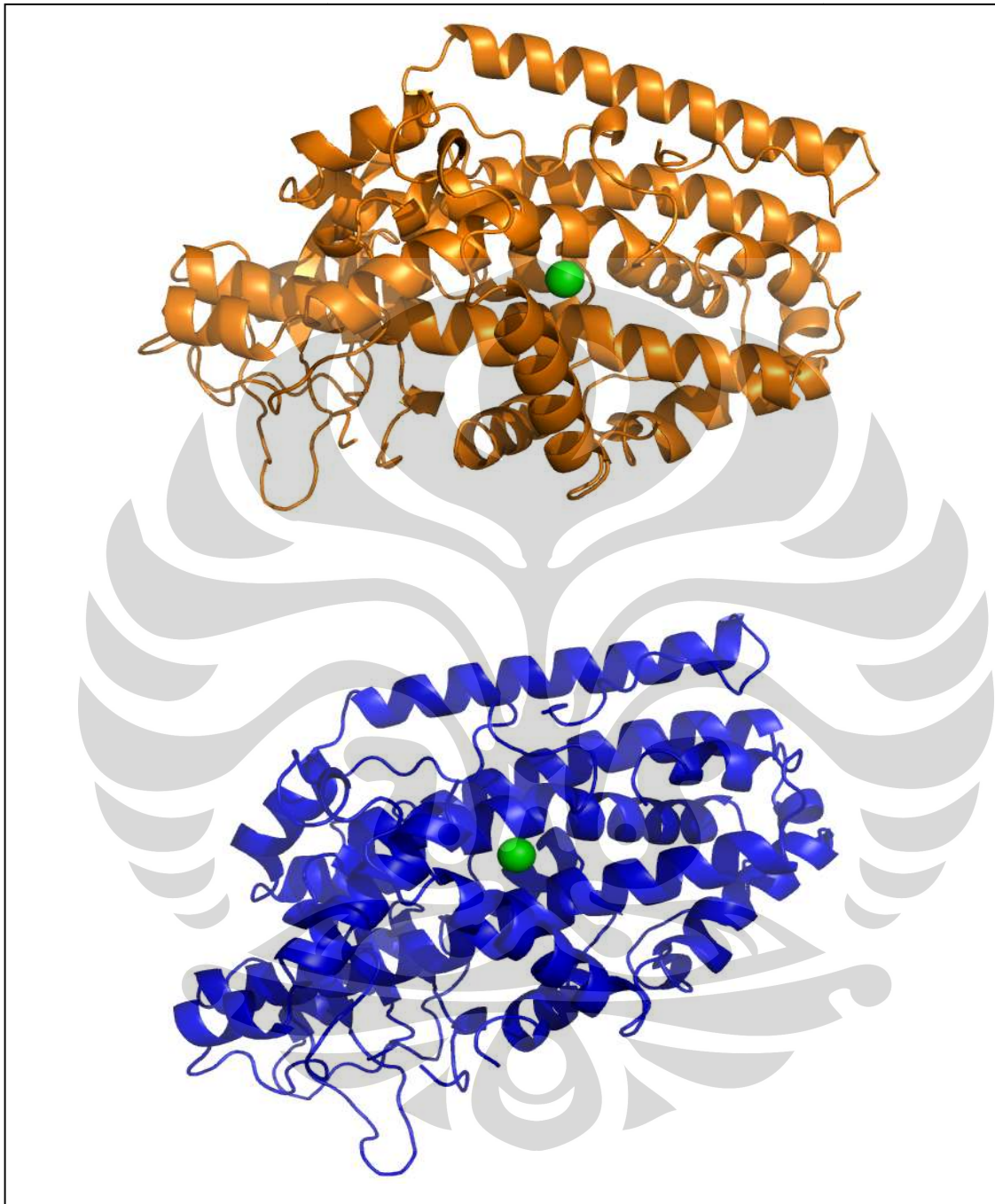


Gambar 8. Struktur kristal PDB 3D3L (12-lipoksigenase)

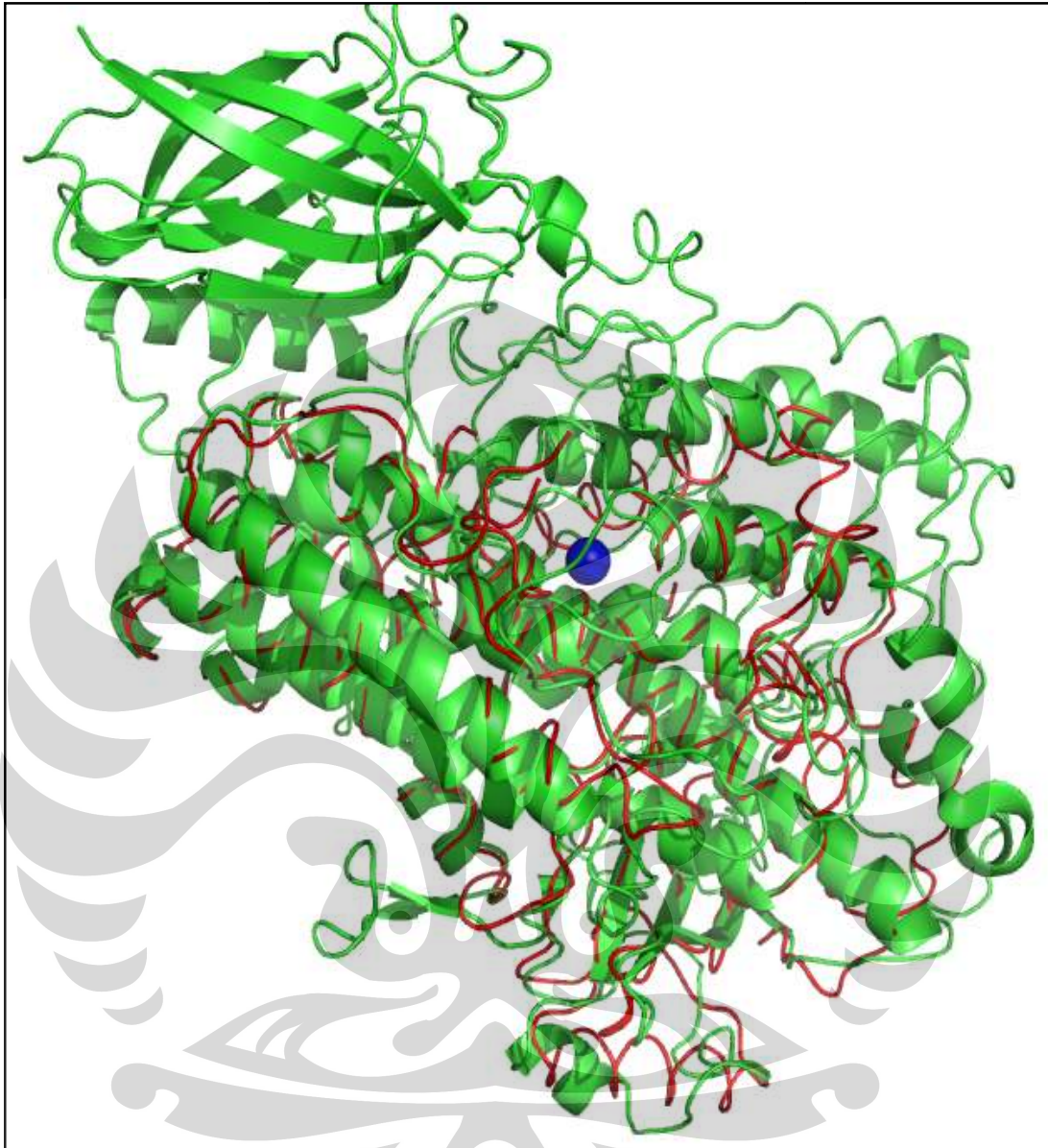




Gambar 9. *Superpose* kristal 3D3L (hijau) dengan 2P0M (biru) menggunakan program CCP4

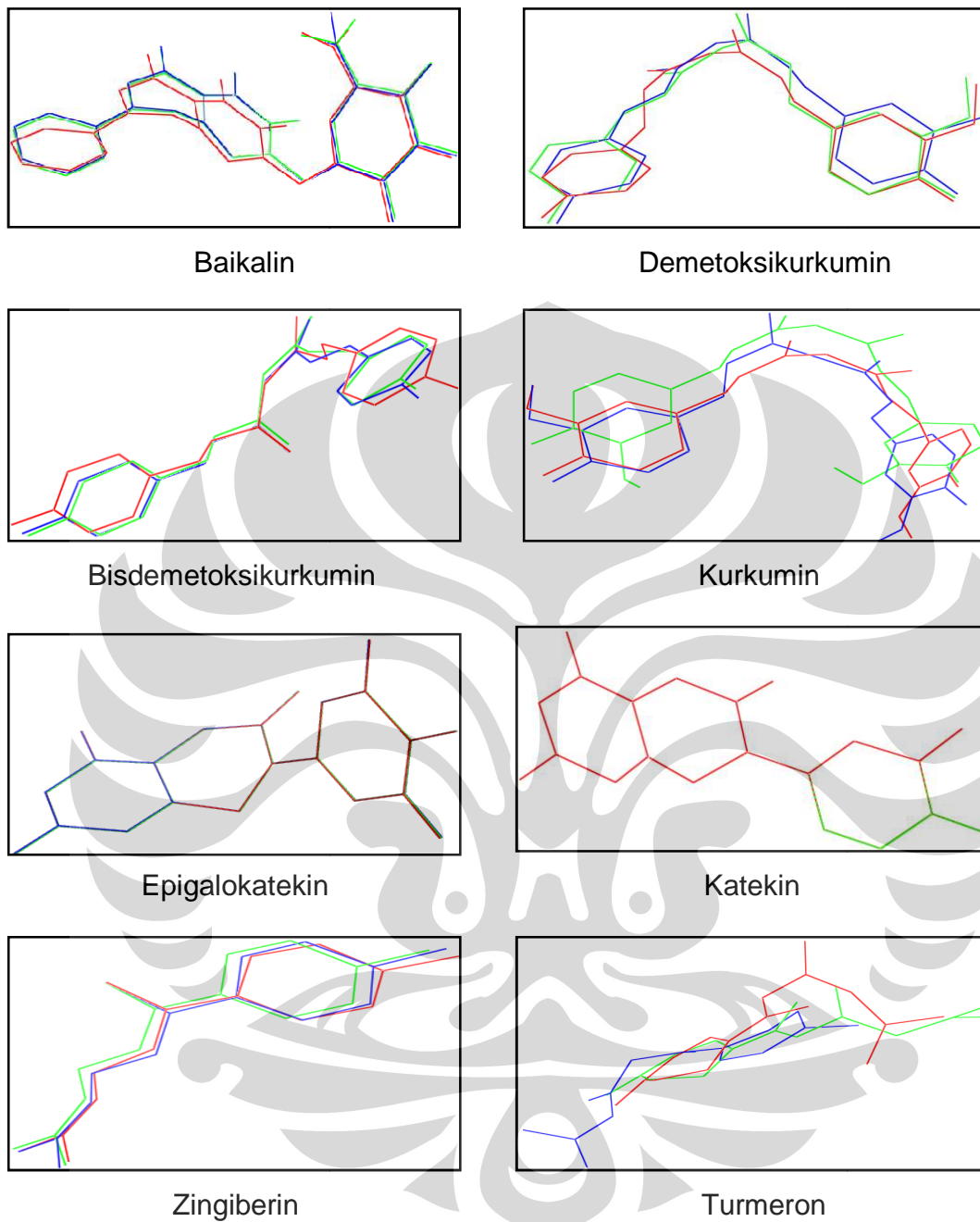


Gambar 10. Hasil pemisahan struktur kristal PDB 3D3L menggunakan CCP4,  
3D3L chain A (biru), chain B (emas)

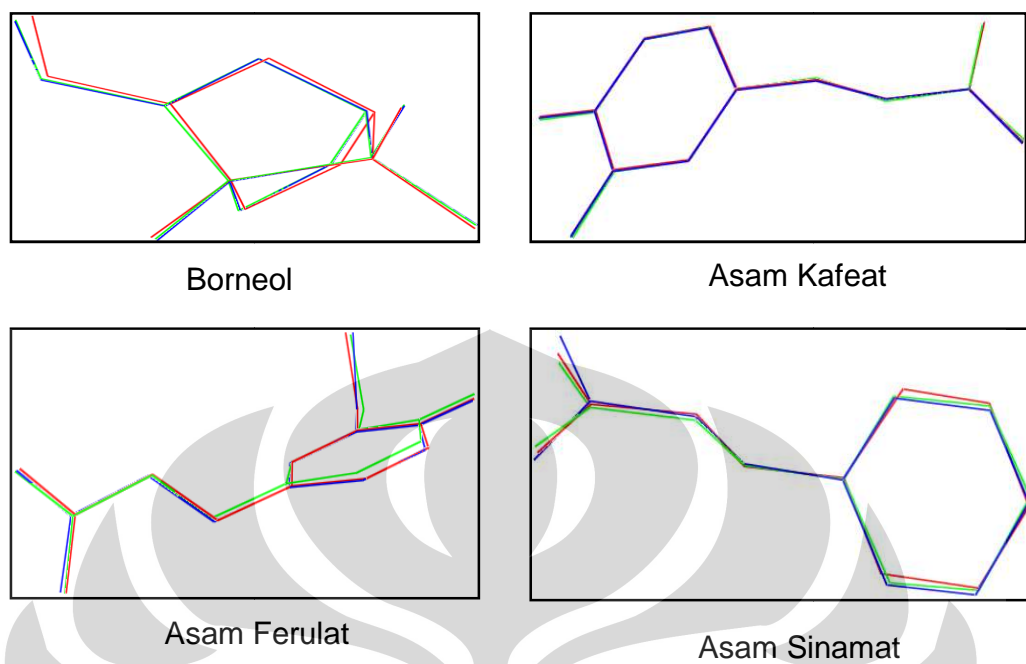


Gambar 11. *Superpose* kristal 3D3L (hijau) dengan 1JNQ (merah)  
menggunakan program CCP4

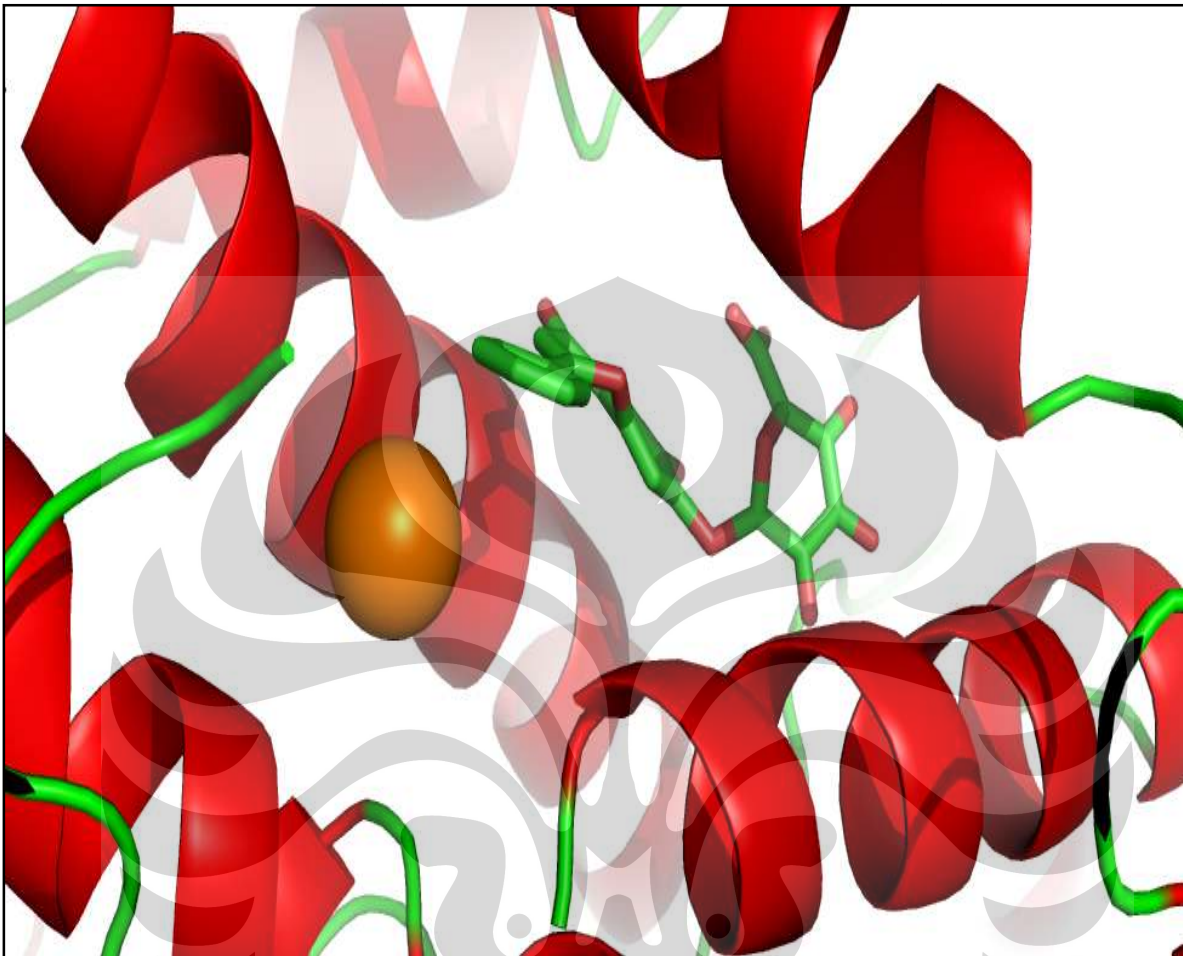




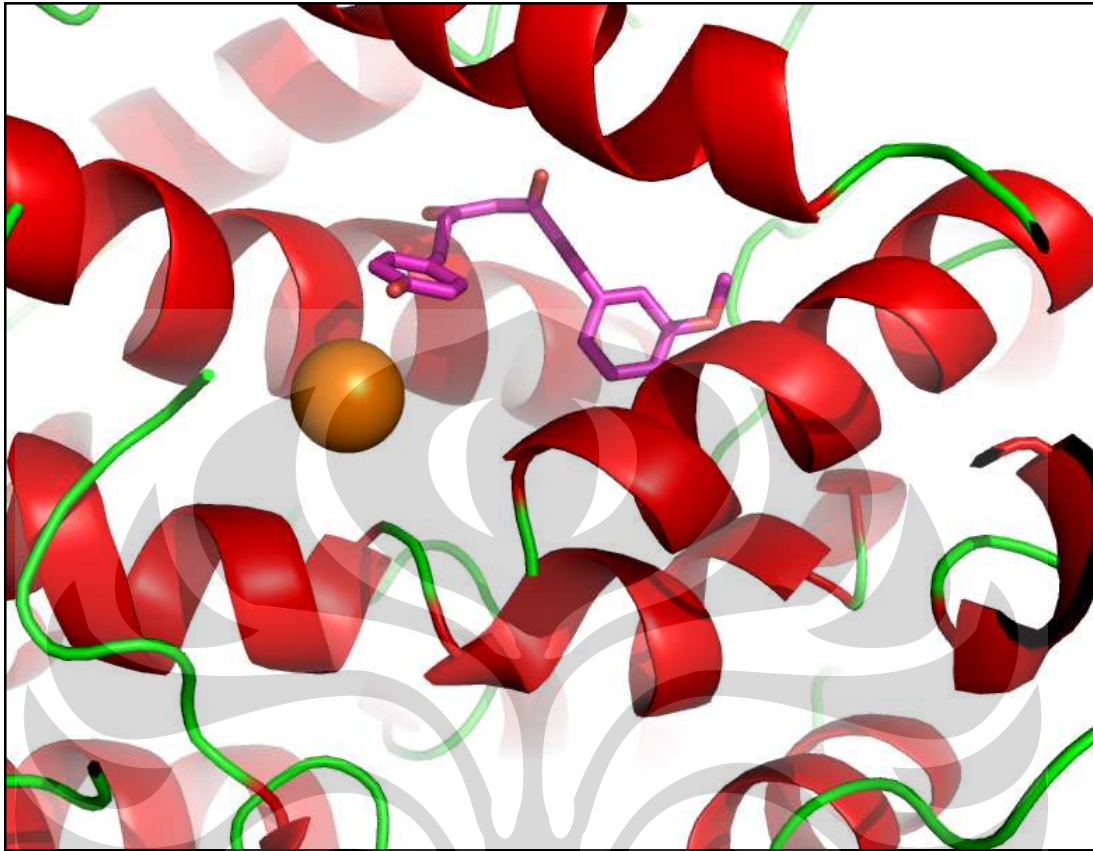
Gambar 12. Superposisi terbaik (*best cluster*) ligan senyawa aktif tanaman obat terpilih hasil penambatan molekuler pada *run* 1 (merah), *run* 2 (hijau), *run* 3 (biru)



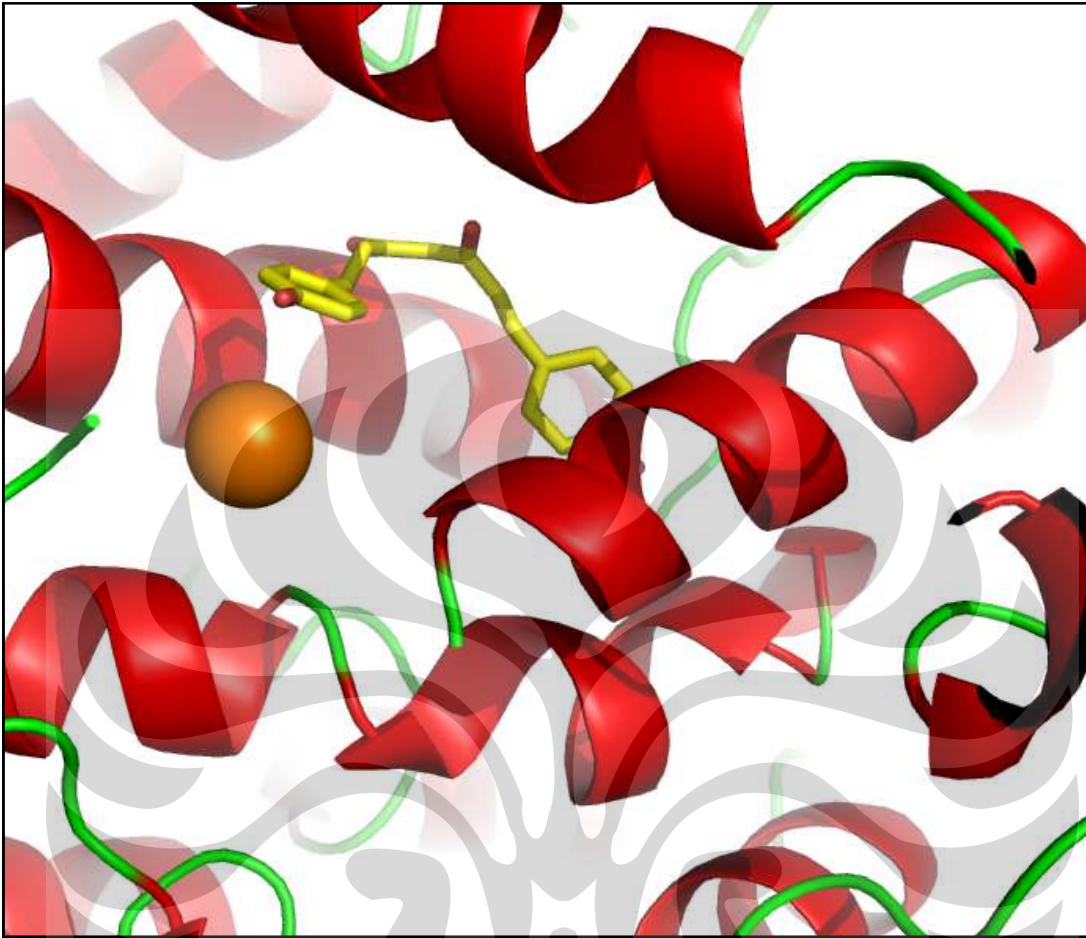
Gambar 12. Superposisi terbaik (*best cluster*) Ligan senyawa aktif tanaman obat terpilih hasil penambatan molekuler pada *run* 1 (merah), *run* 2 (hijau), *run* 3 (biru) (lanjutan).



Gambar 13. Visualisasi hasil penambatan molekuler ligan baicalin dengan protein target 12-LOX. menggunakan program PYMOL

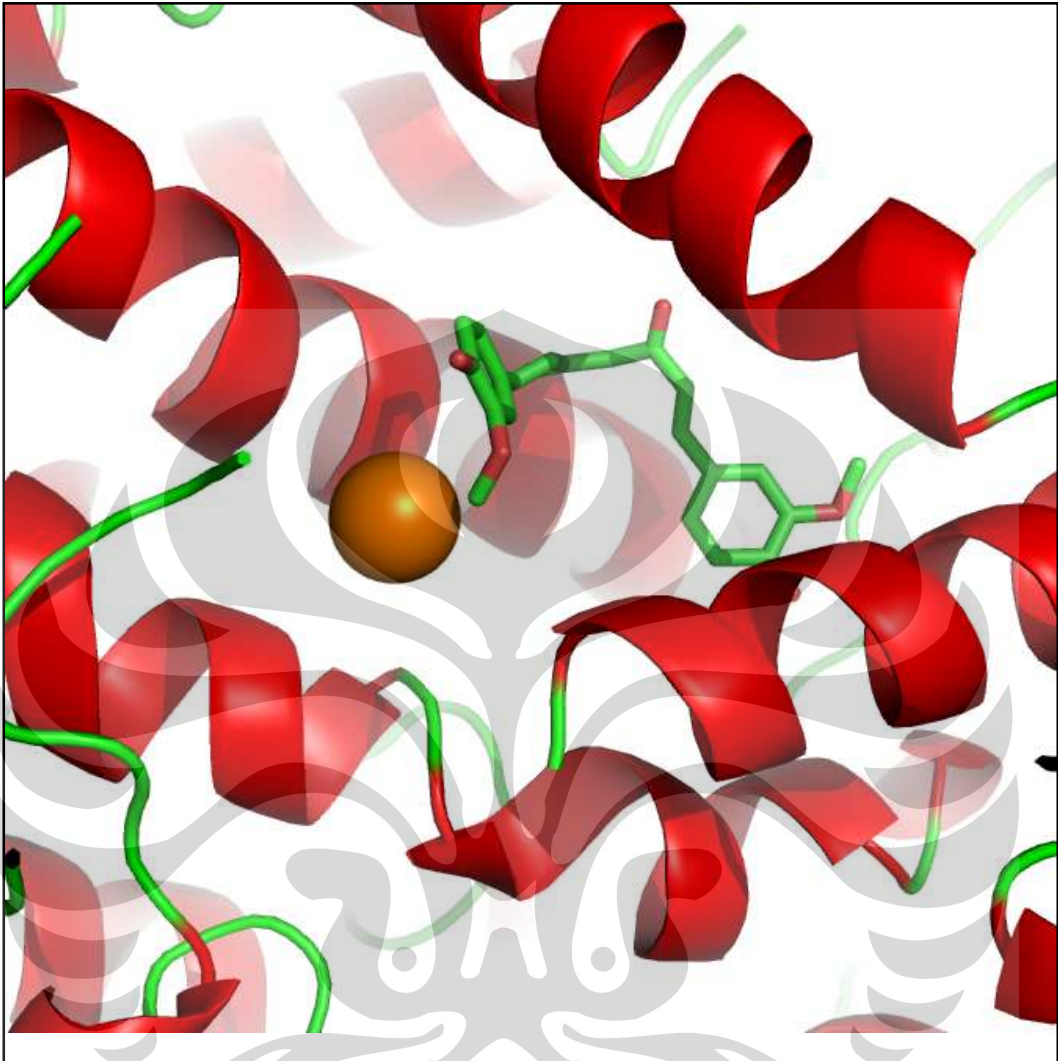


Gambar 14. Visualisasi hasil penambatan molekuler ligan demetoksikurkumin dengan protein target 12-LOX. menggunakan program PYMOL

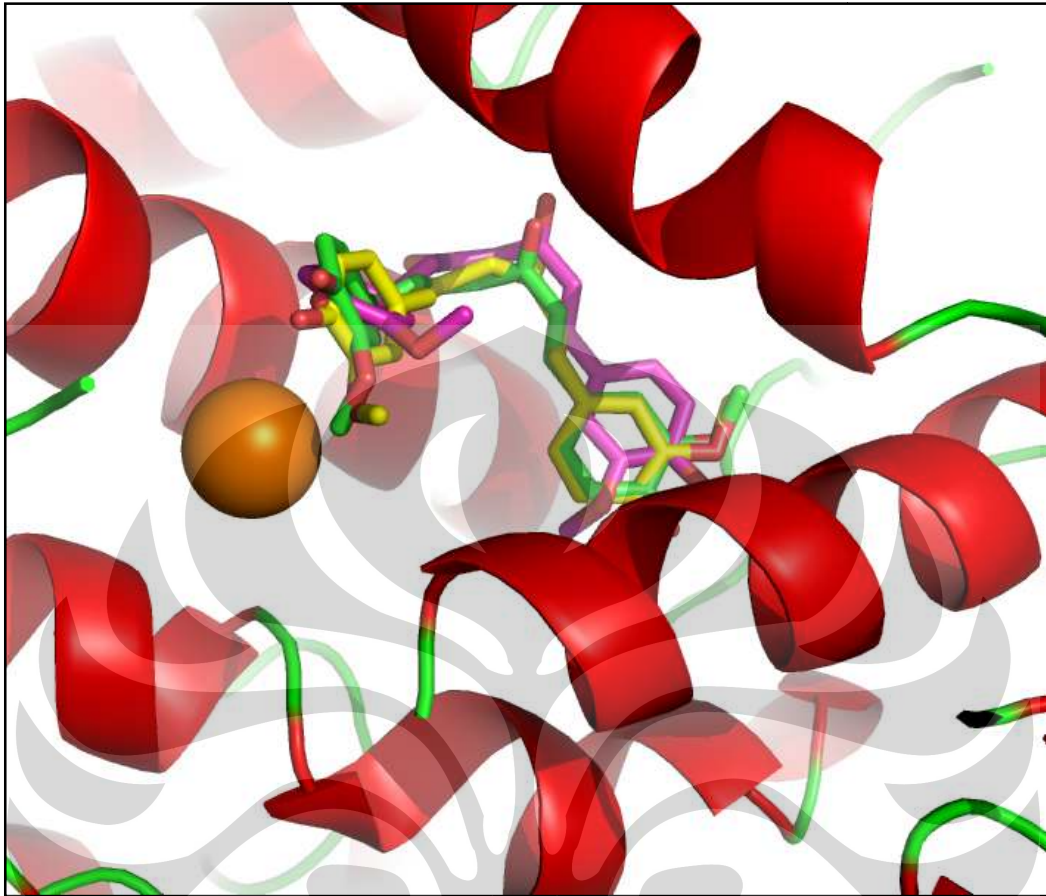


Gambar 15. Visualisasi hasil penambatan molekuler ligan bisdemetoksikurkumin dengan protein target 12-LOX. menggunakan program PYMOL





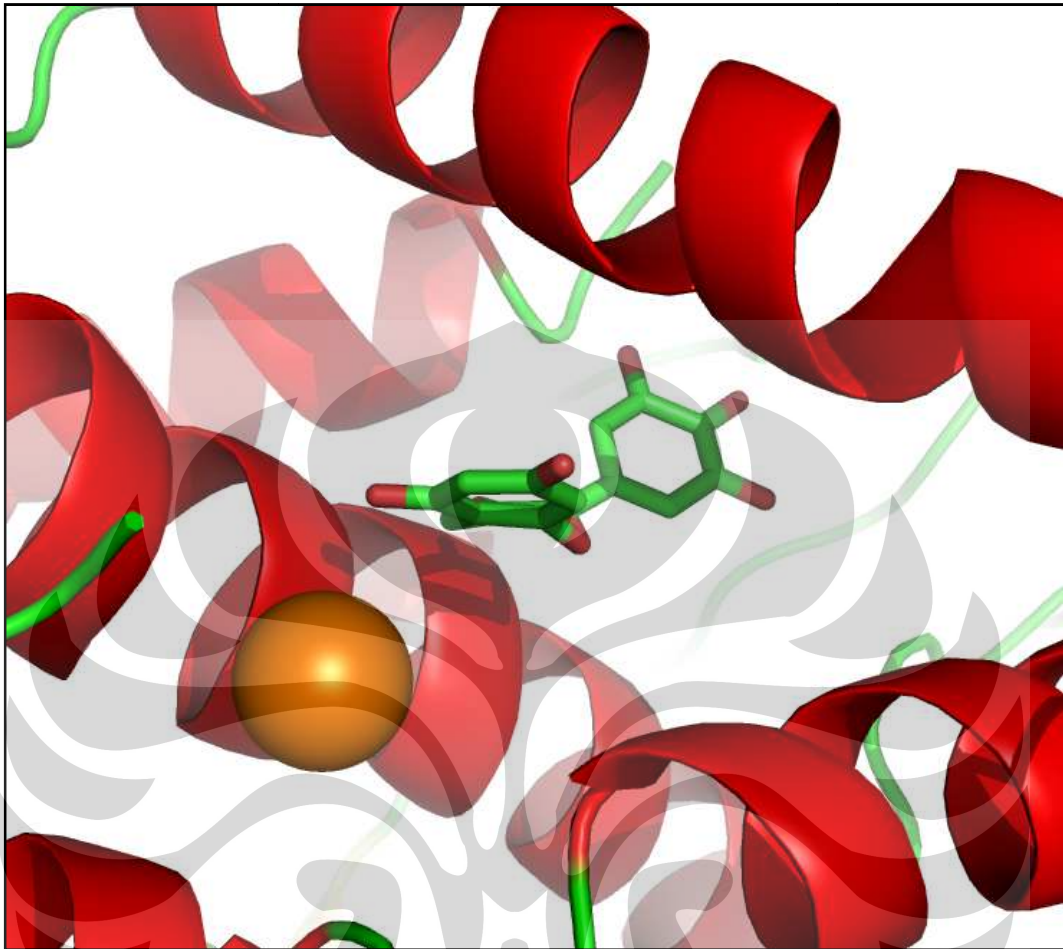
Gambar 16. Visualisasi hasil penambatan molekuler ligan kurkumin dengan protein target 12-LOX. menggunakan program PYMOL



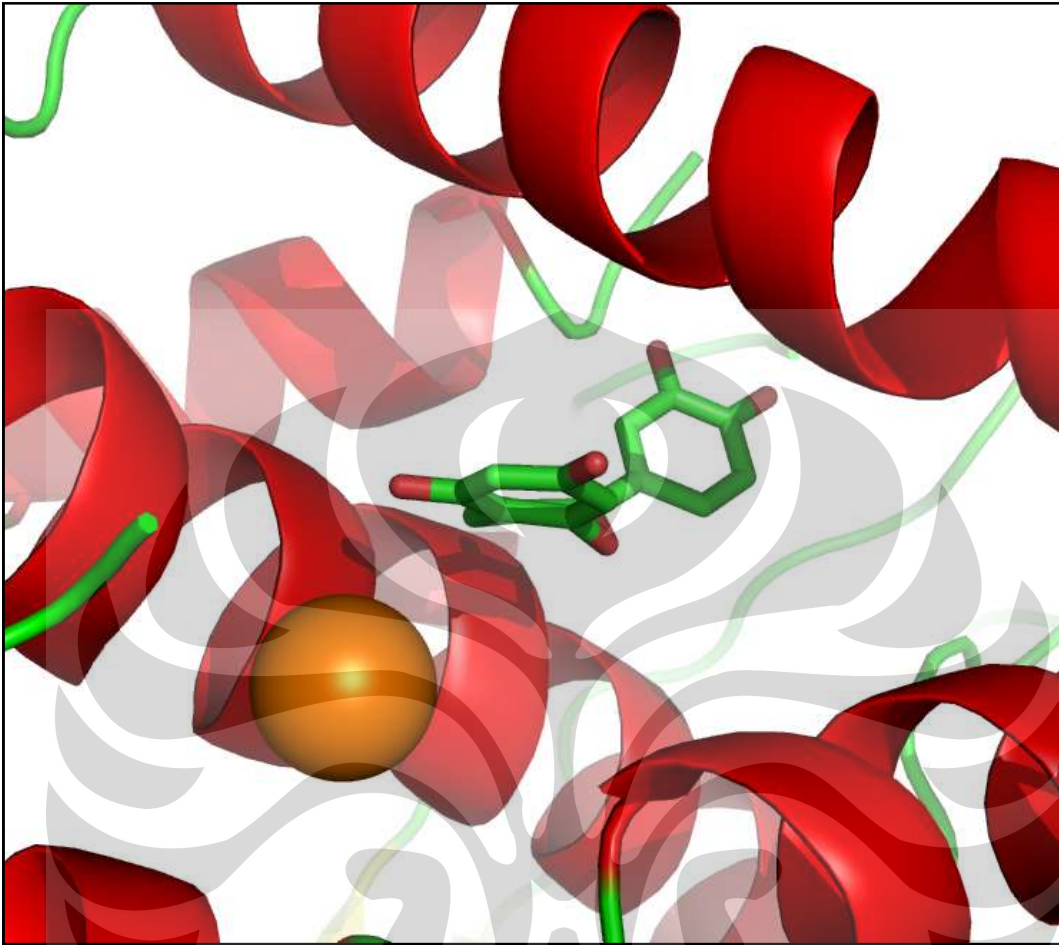
Gambar 17. Visualisasi superposisi hasil penambatan molekuler ligan kurkumin, demetoksikurkumin, bisdemetoksikurkumin dengan protein target 12-LOX. menggunakan program PYMOL.

Keterangan gambar :

- Kurkumin = warna hijau
- Demetoksikurkumin = warna pink
- Bisdemetoksikurkumin = warna kuning

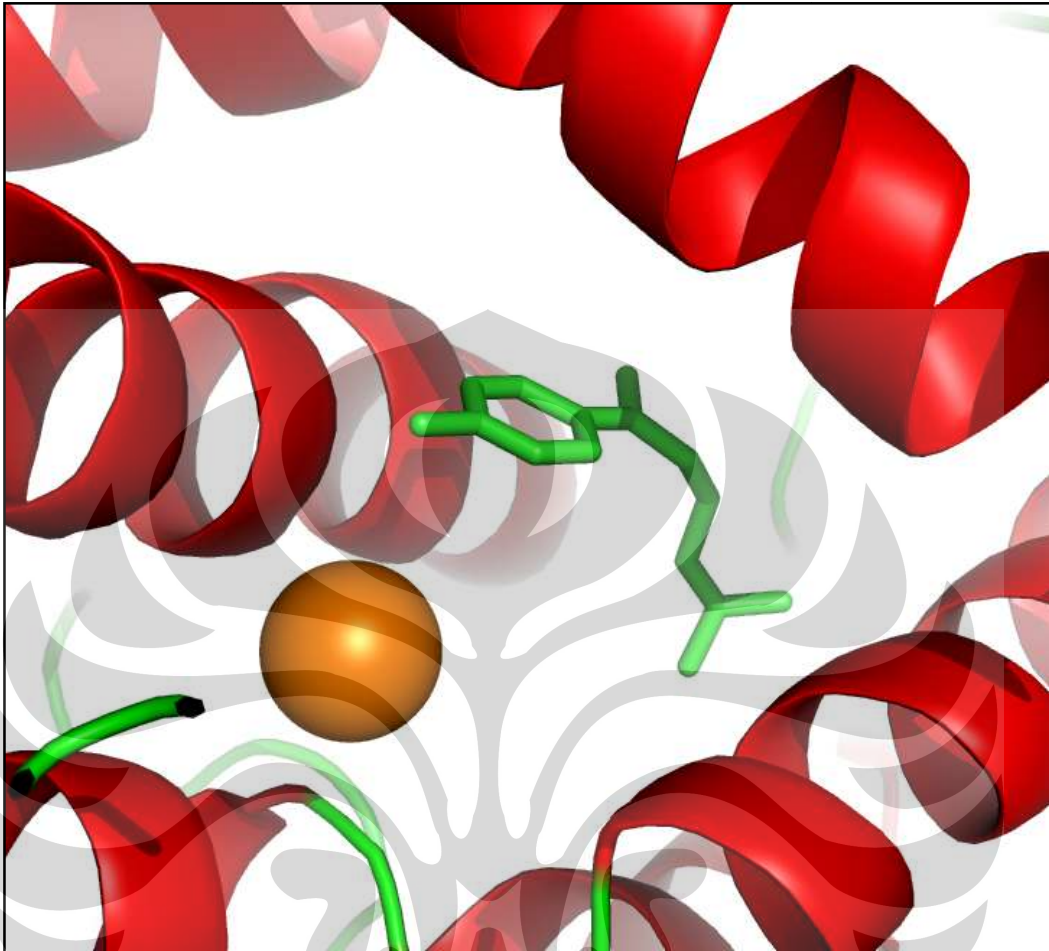


Gambar 18. Visualisasi hasil penambatan molekuler ligan epigallokatekin dengan protein target 12-LOX. menggunakan program PYMOL

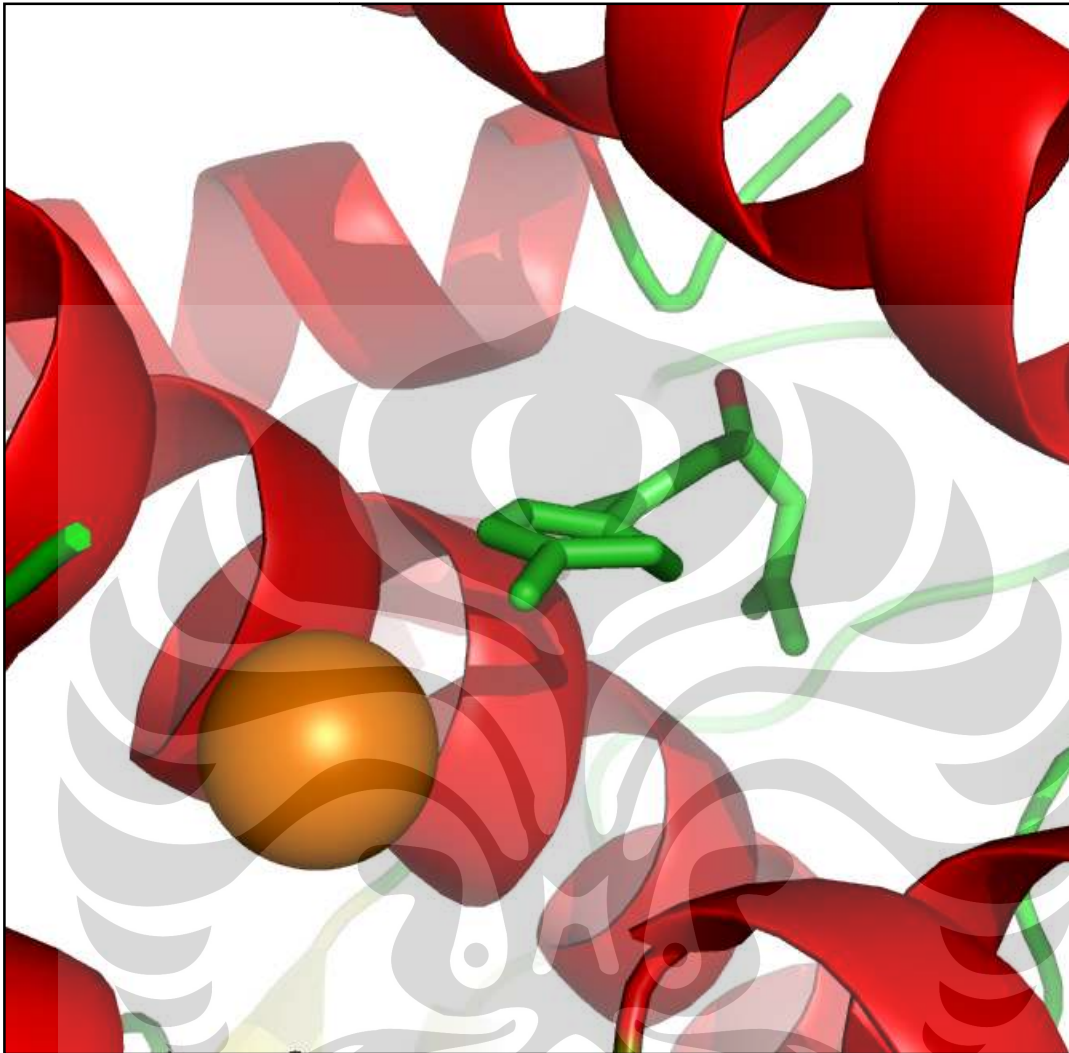


Gambar 19. Visualisasi hasil penambatan molekuler ligan katekin dengan protein target 12-LOX. menggunakan program PYMOL

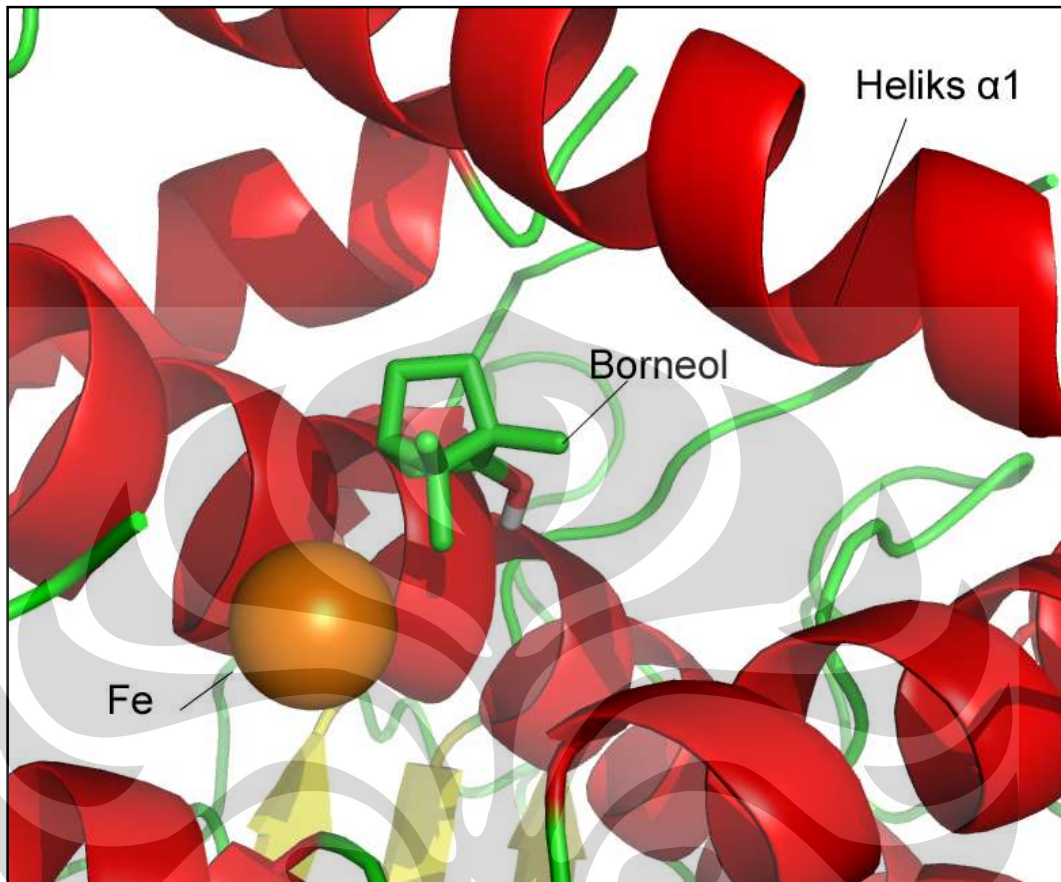




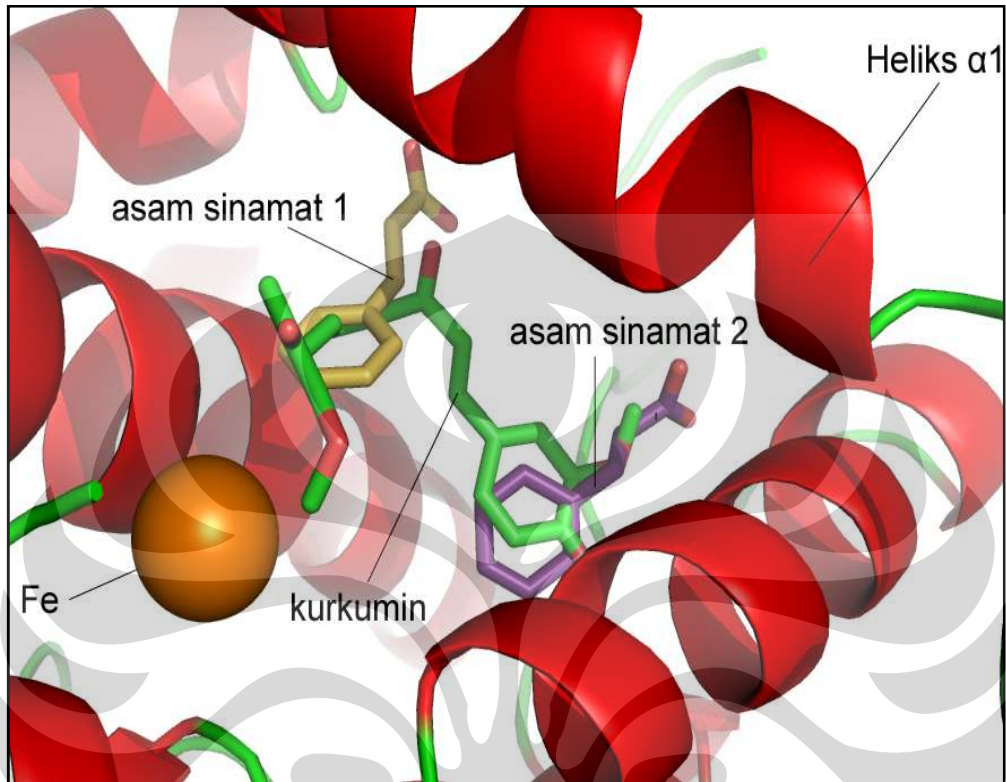
Gambar 20. Visualisasi hasil penambatan molekuler ligan zingiberin dengan protein target 12-LOX. menggunakan program PYMOL



Gambar 21. Visualisasi hasil penambatan molekuler ligan turmeron dengan protein target 12-LOX. menggunakan program PYMOL

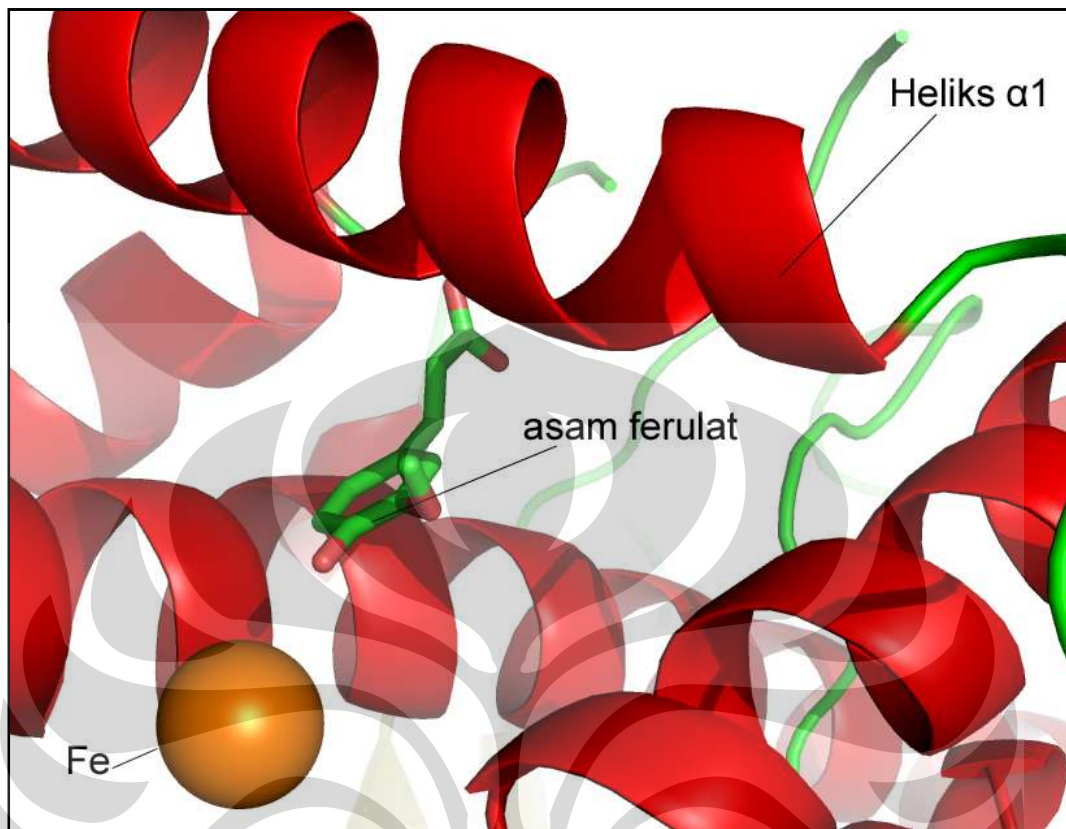


Gambar 22. Visualisasi hasil penambatan molekuler ligan borneol dengan protein target 12-LOX. menggunakan program PYMOL

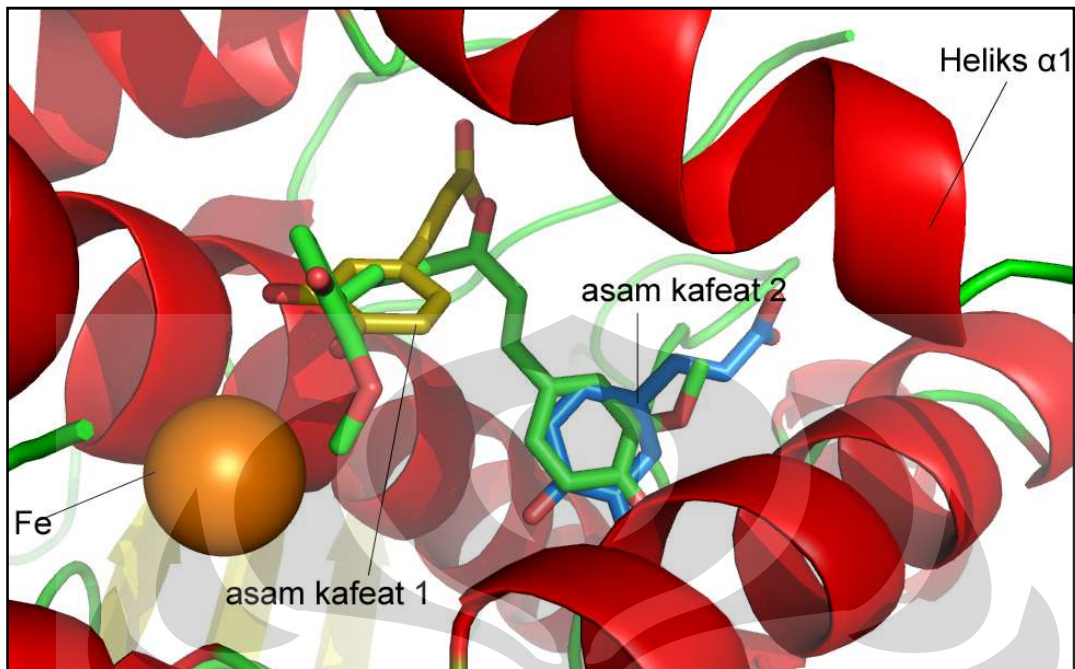


Gambar 23. Visualisasi hasil penambatan molekuler ligan asam sinamat dengan protein target 12-LOX. menggunakan program PYMOL

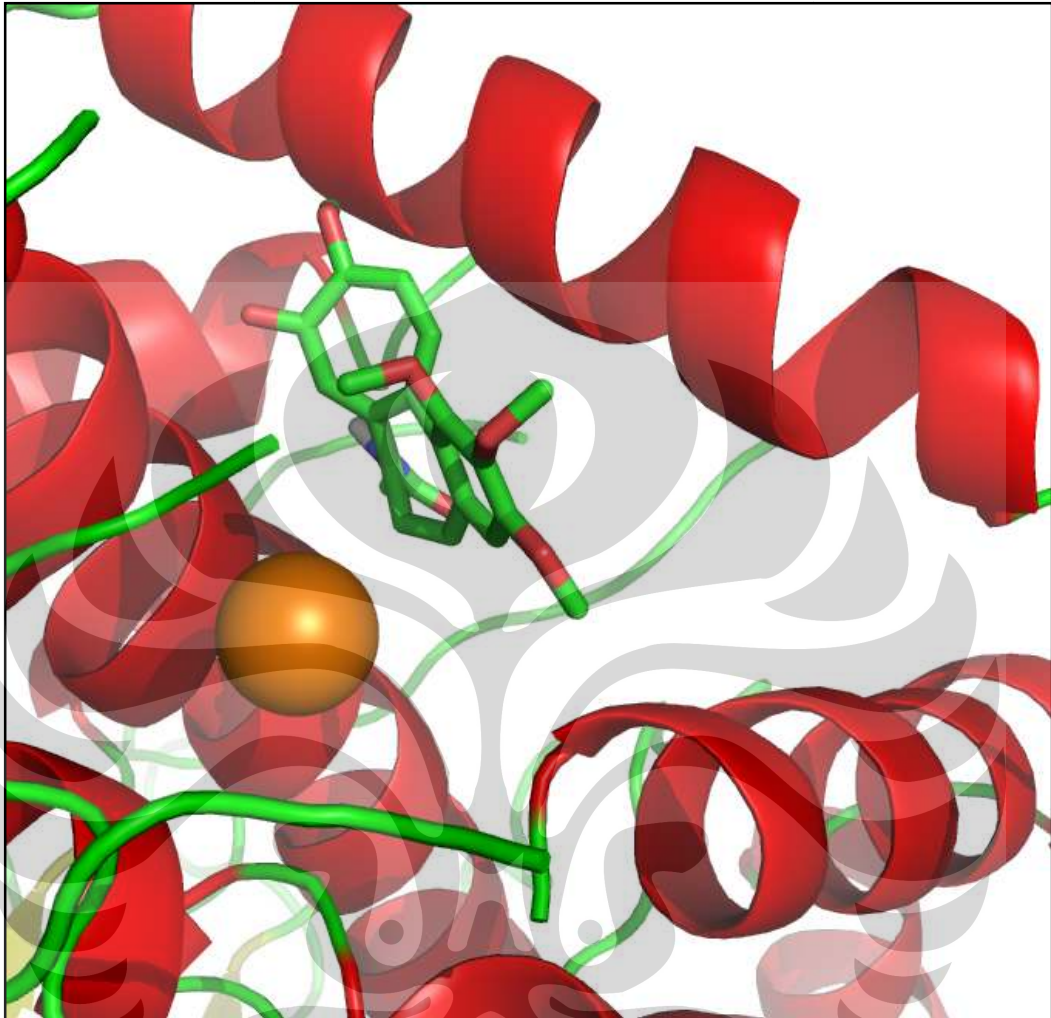




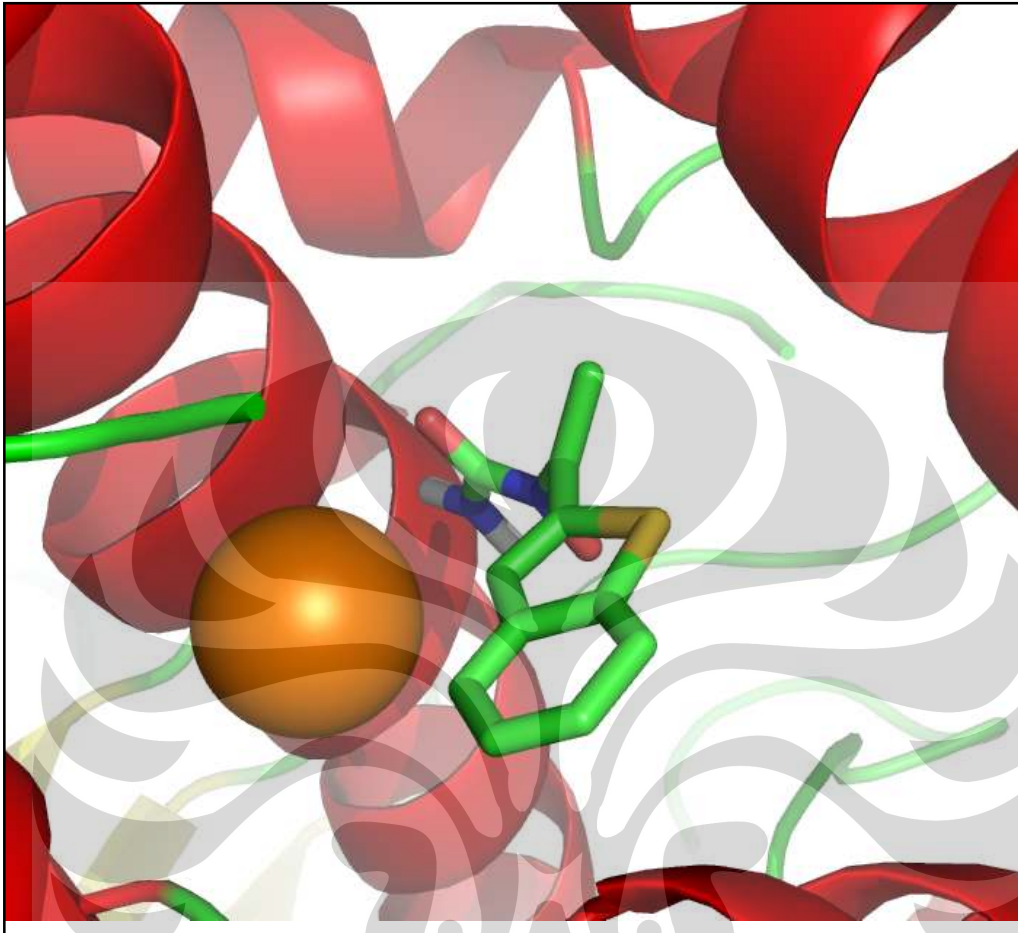
Gambar 24. Visualisasi hasil penambatan molekuler ligan asam ferulat dengan protein target 12-LOX. menggunakan program PYMOL



Gambar 25. Visualisasi hasil penambatan molekuler ligan asam kafeat dengan protein target 12-LOX. menggunakan program PYMOL

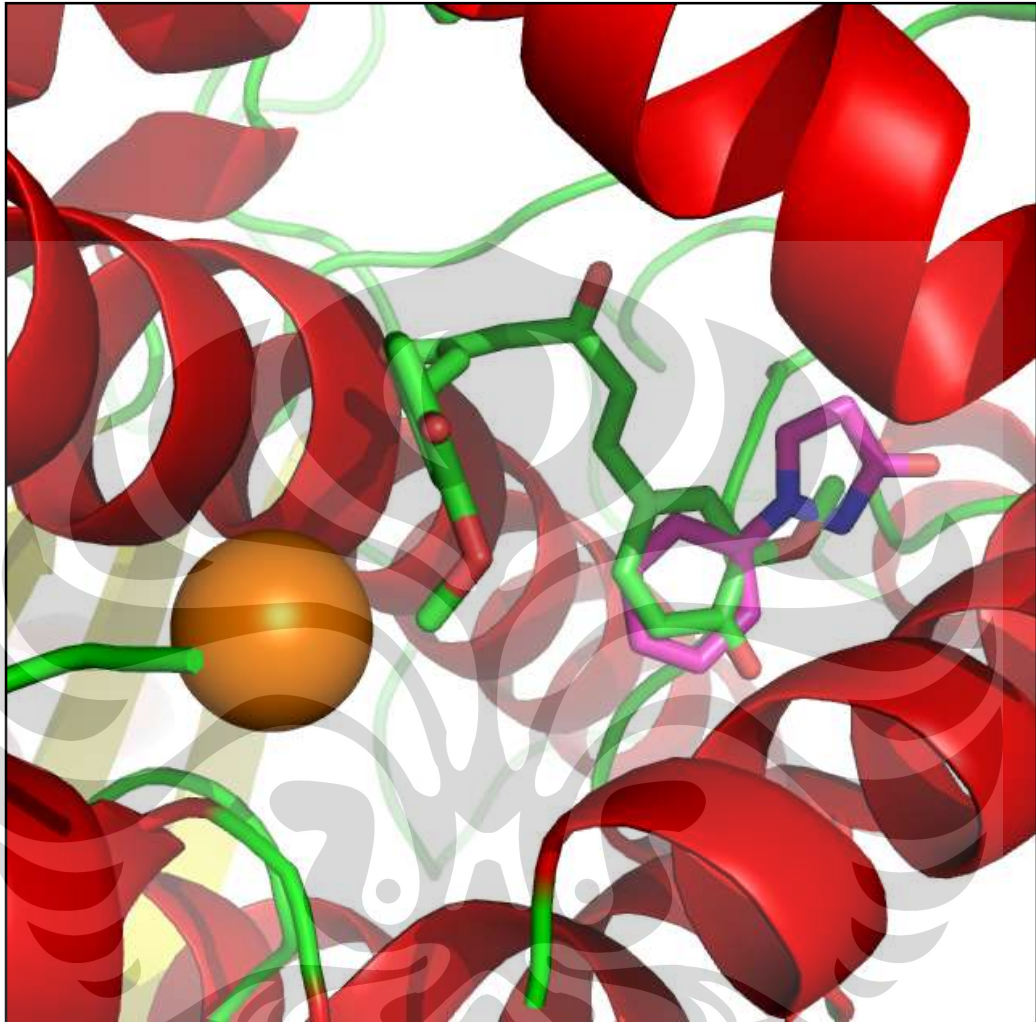


Gambar 26. Visualisasi hasil penambatan molekuler ligan kolkisin dengan protein target 12-LOX. menggunakan program PYMOL

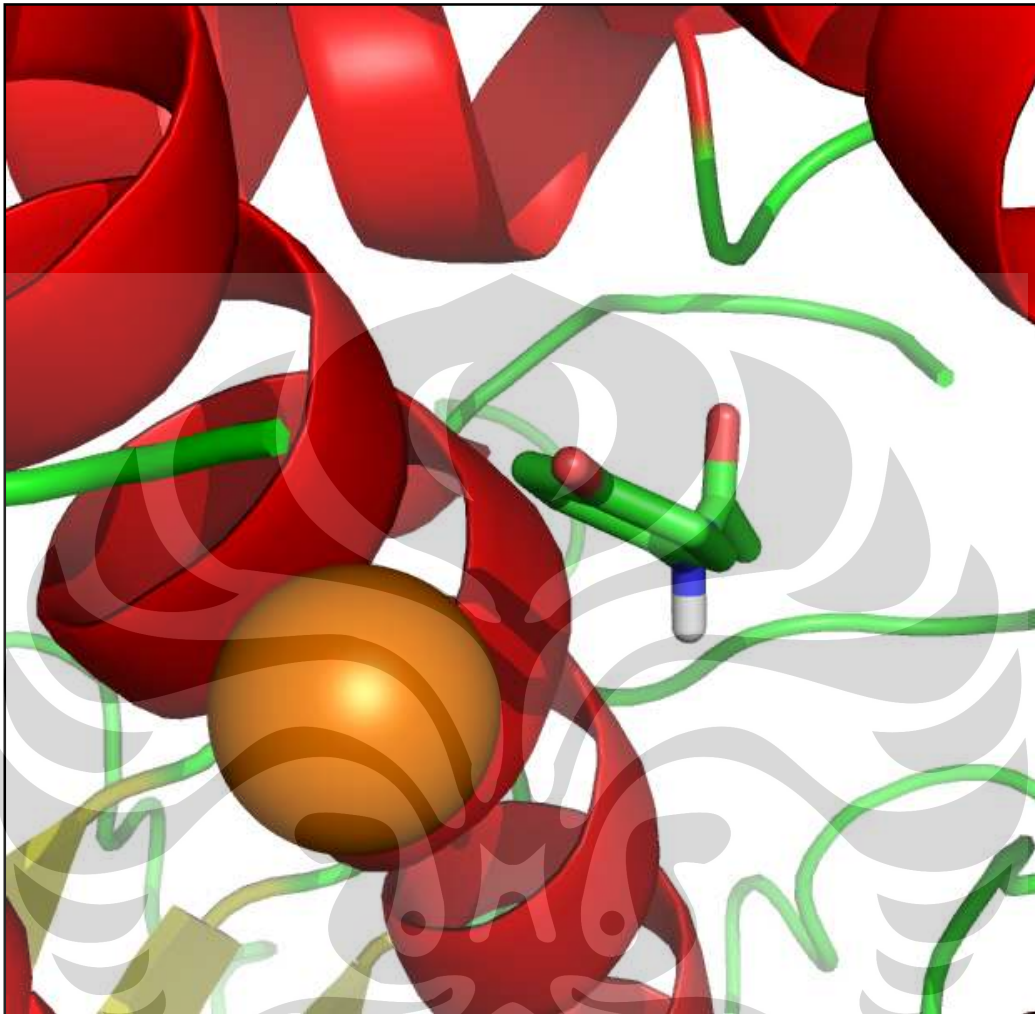


Gambar 27. Visualisasi hasil penambatan molekuler ligan zileuton dengan protein target 12-LOX. menggunakan program PYMOL

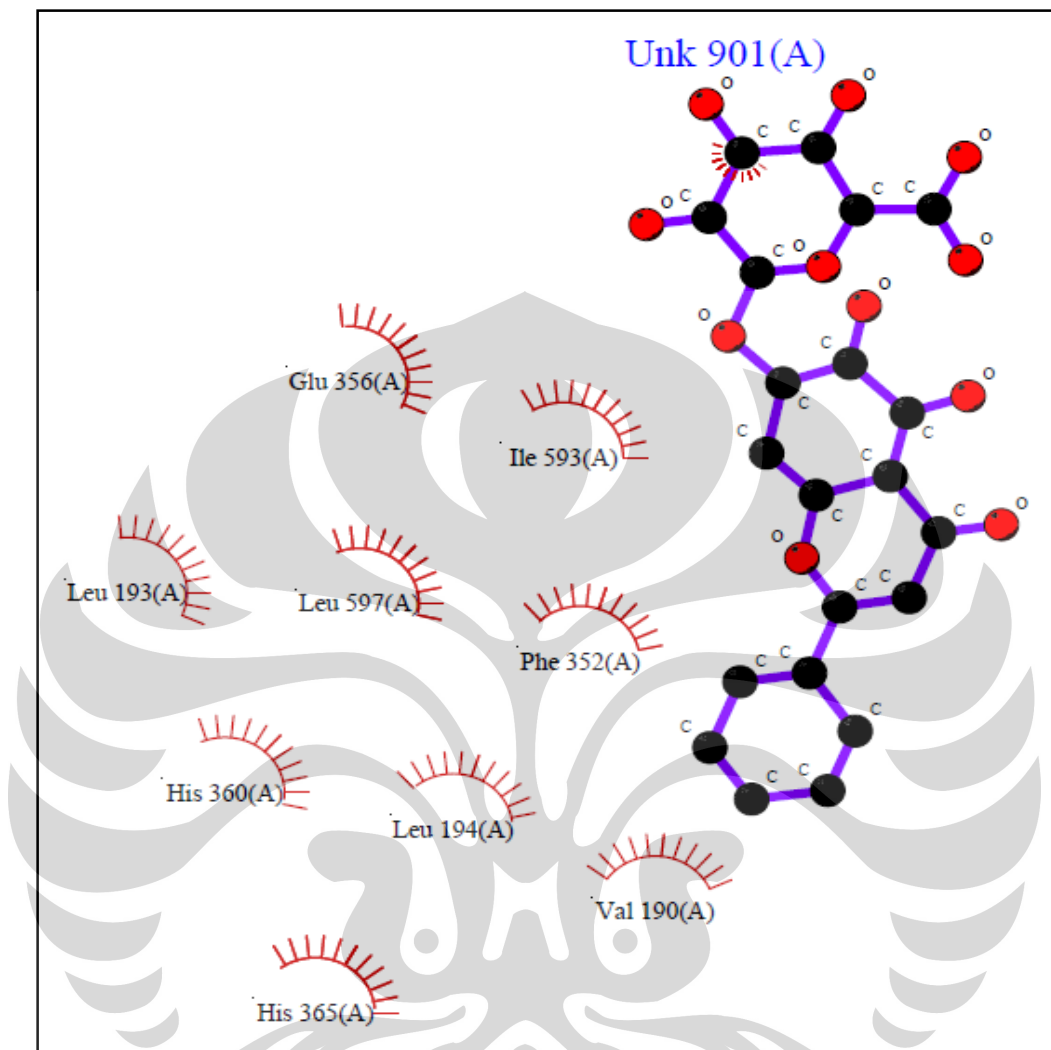




Gambar 28. Visualisasi hasil penambatan molekuler ligan fenidon (Pink) dengan protein target 12-LOX. menggunakan program PYMOL



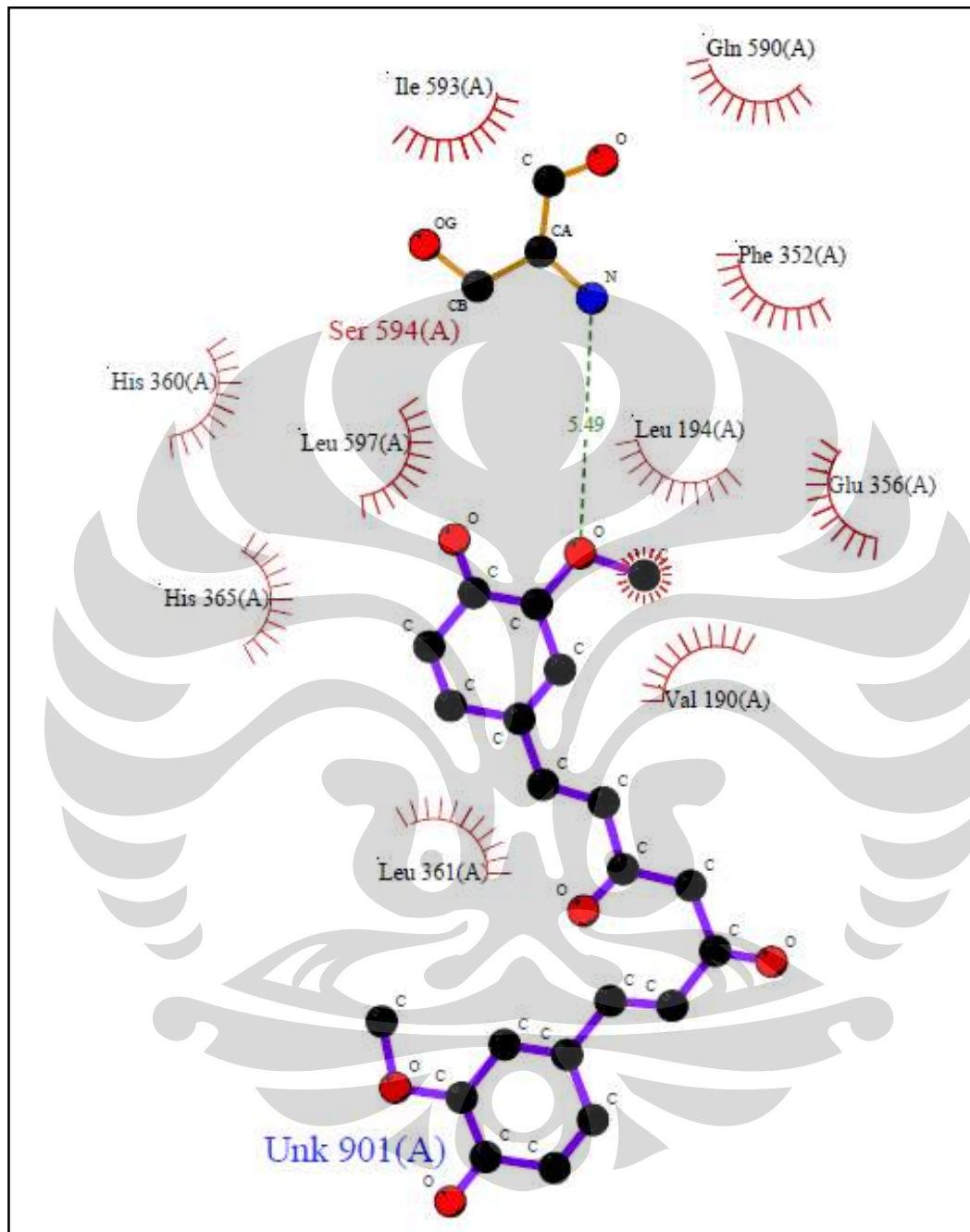
Gambar 29. Visualisasi hasil penambatan molekuler ligan parasetamol dengan protein target 12-LOX. menggunakan program PYMOL



## Key

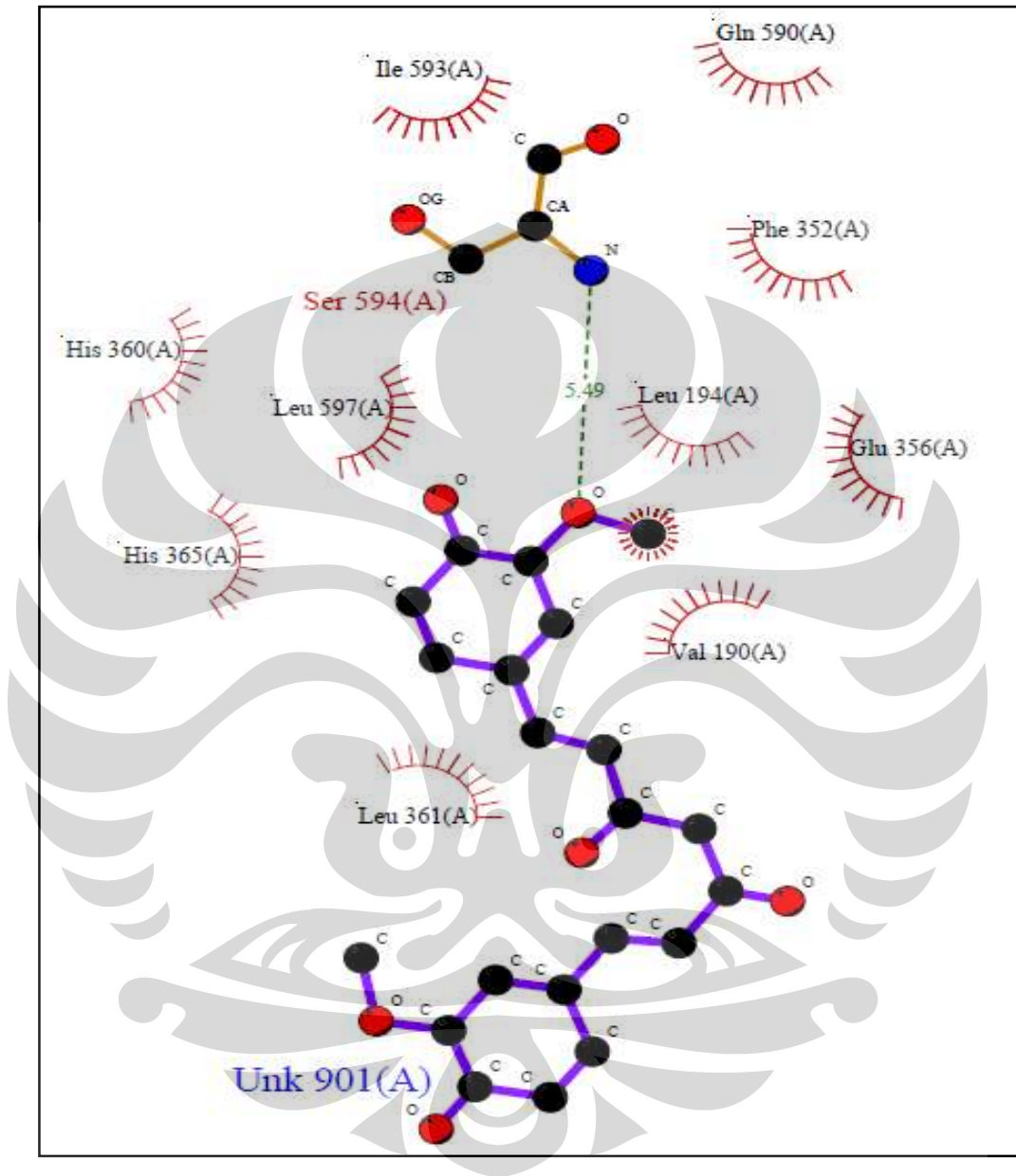
- ● Ligand bond
- ● Non-ligand bond
- ● ● Hydrogen bond and its length
- ⌒ His 53 Non-ligand residues involved in hydrophobic contact(s)
- Corresponding atoms involved in hydrophobic contact(s)

Gambar 30. Hasil analisa LigPlot yang menunjukkan interaksi baicalin dengan protein target 12-LOX.

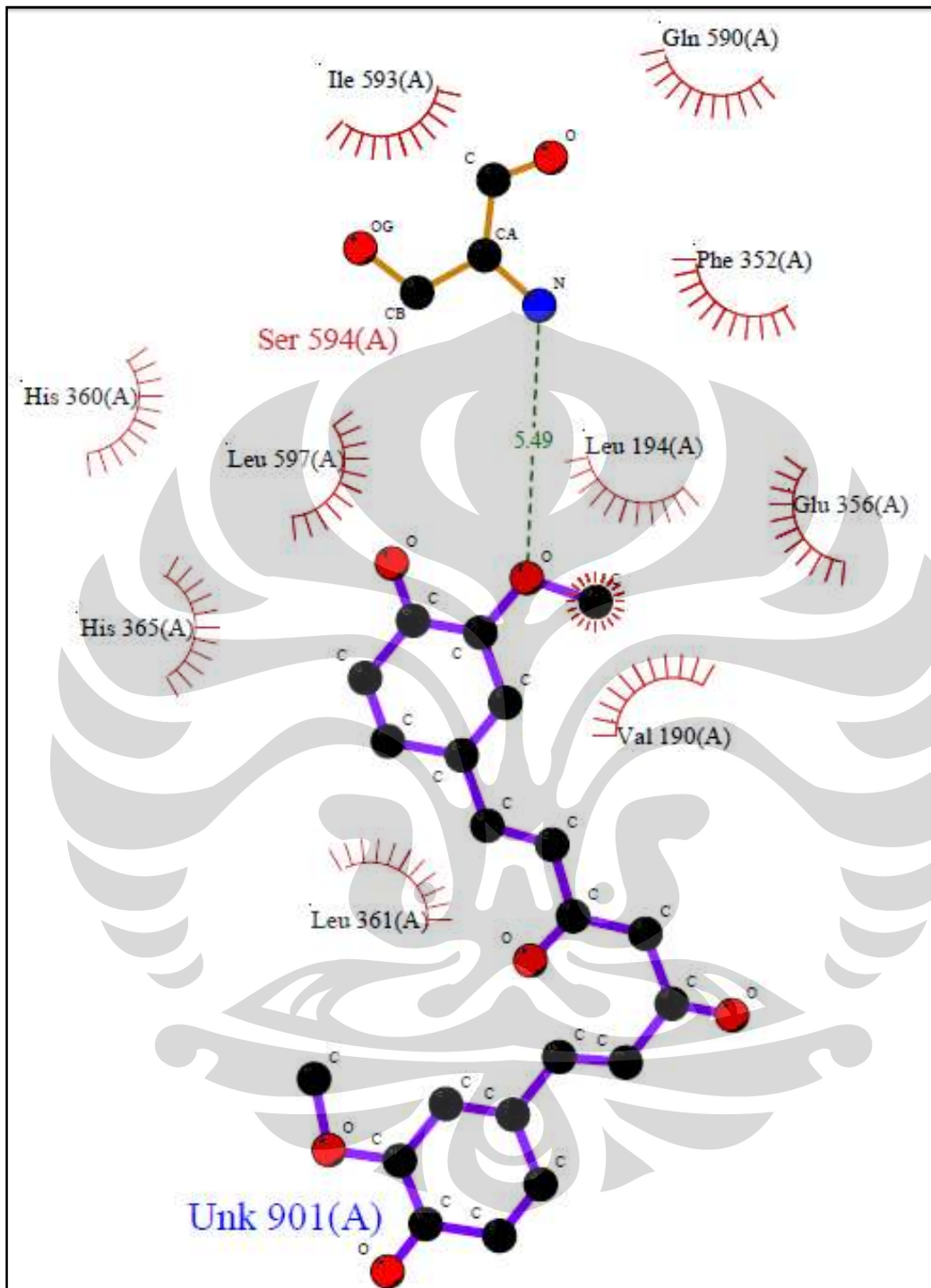


Gambar 31. Hasil analisa LigPlot yang menunjukkan interaksi demetoksikurkumin dengan protein target 12-LOX.

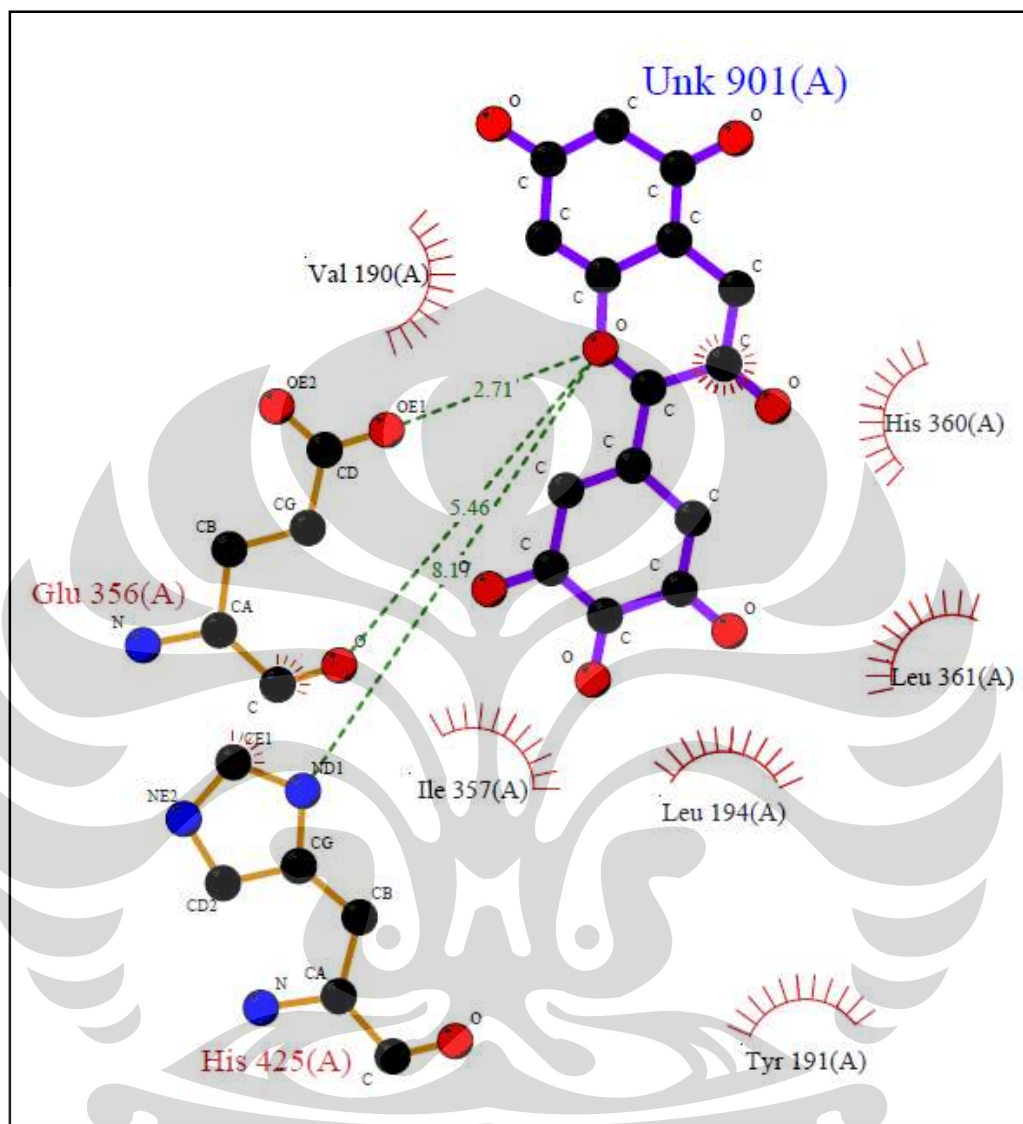




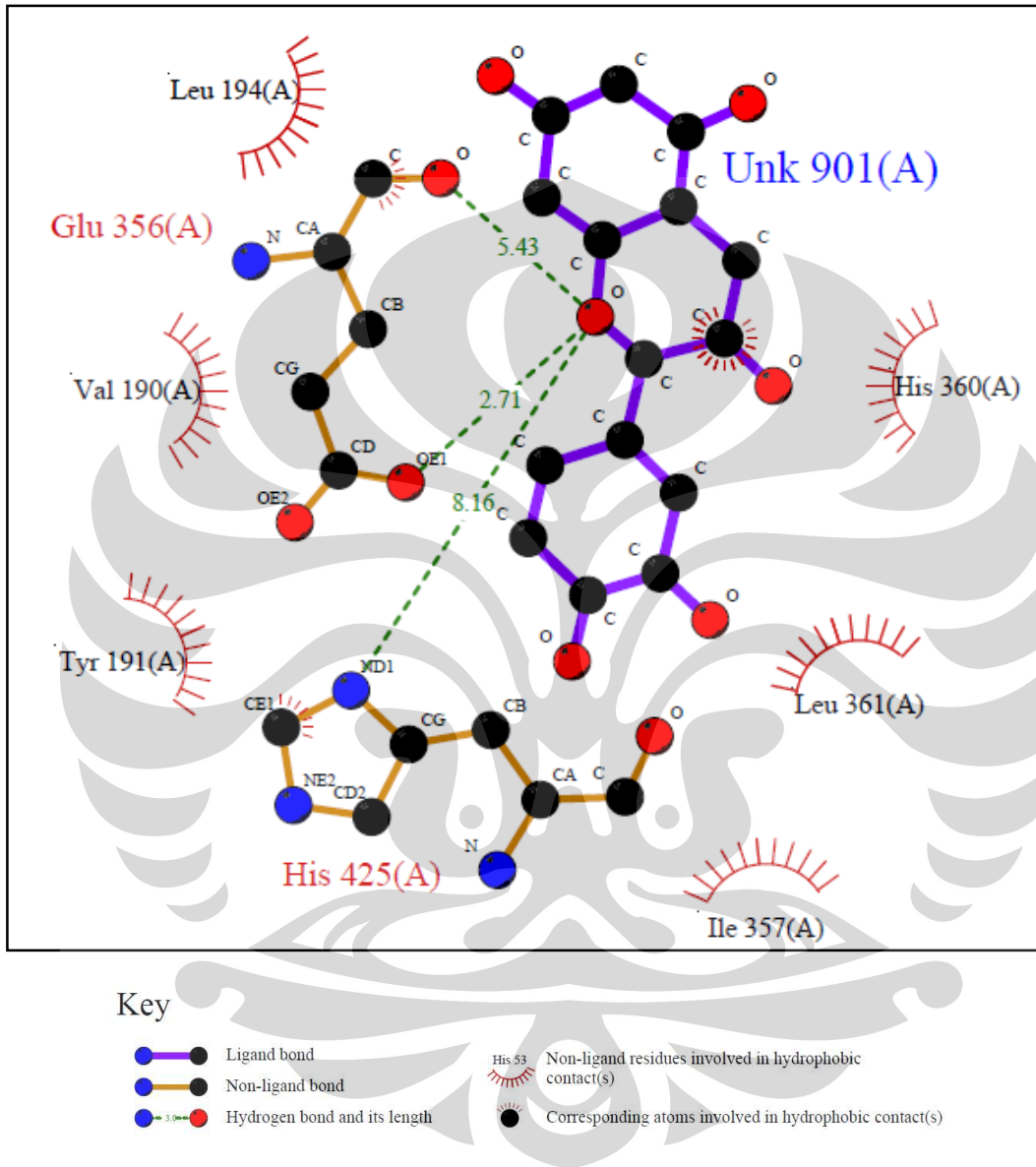
Gambar 32. Hasil analisa LigPlot yang menunjukkan interaksi bisdemetoksikurkumin dengan protein target 12-LOX.



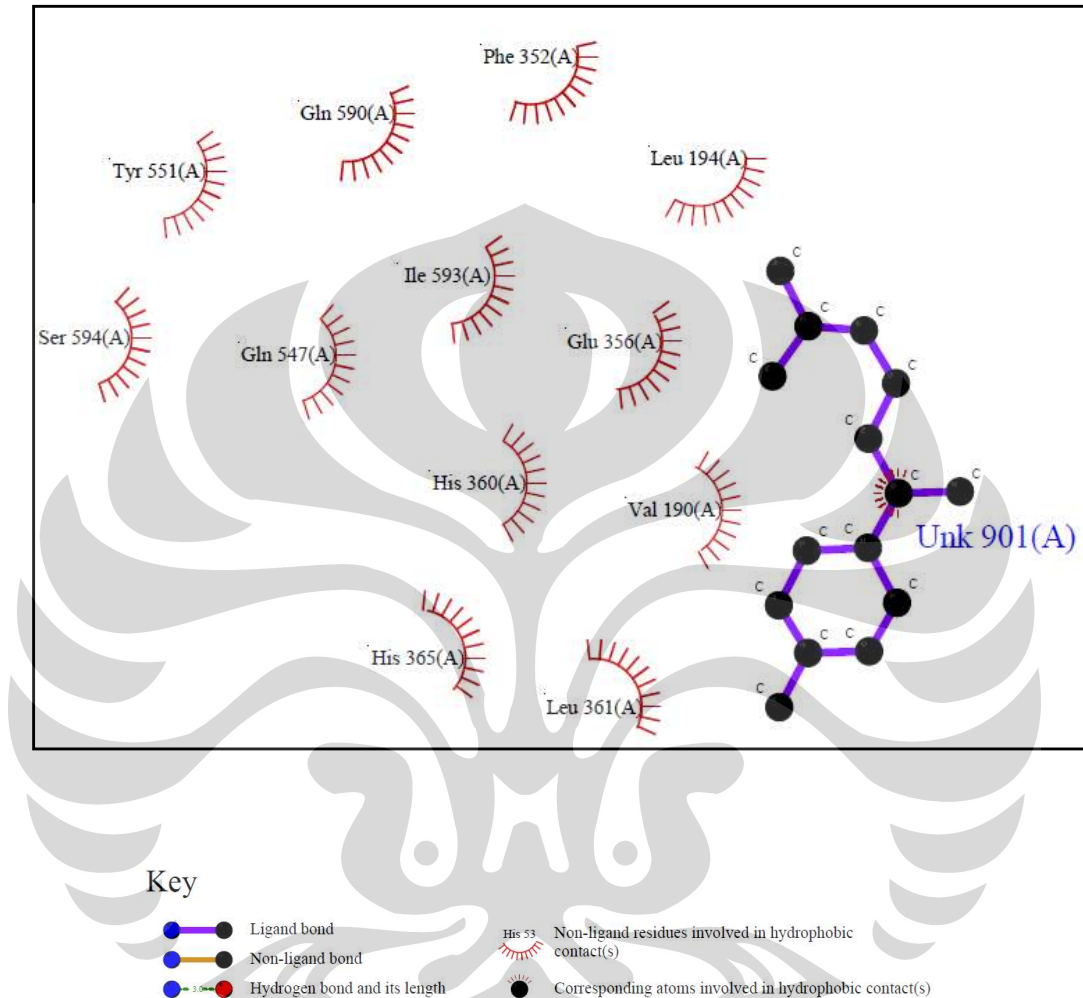
Gambar 33. Hasil analisa LigPlot yang menunjukkan interaksi kurkumin dengan protein target 12-LOX.



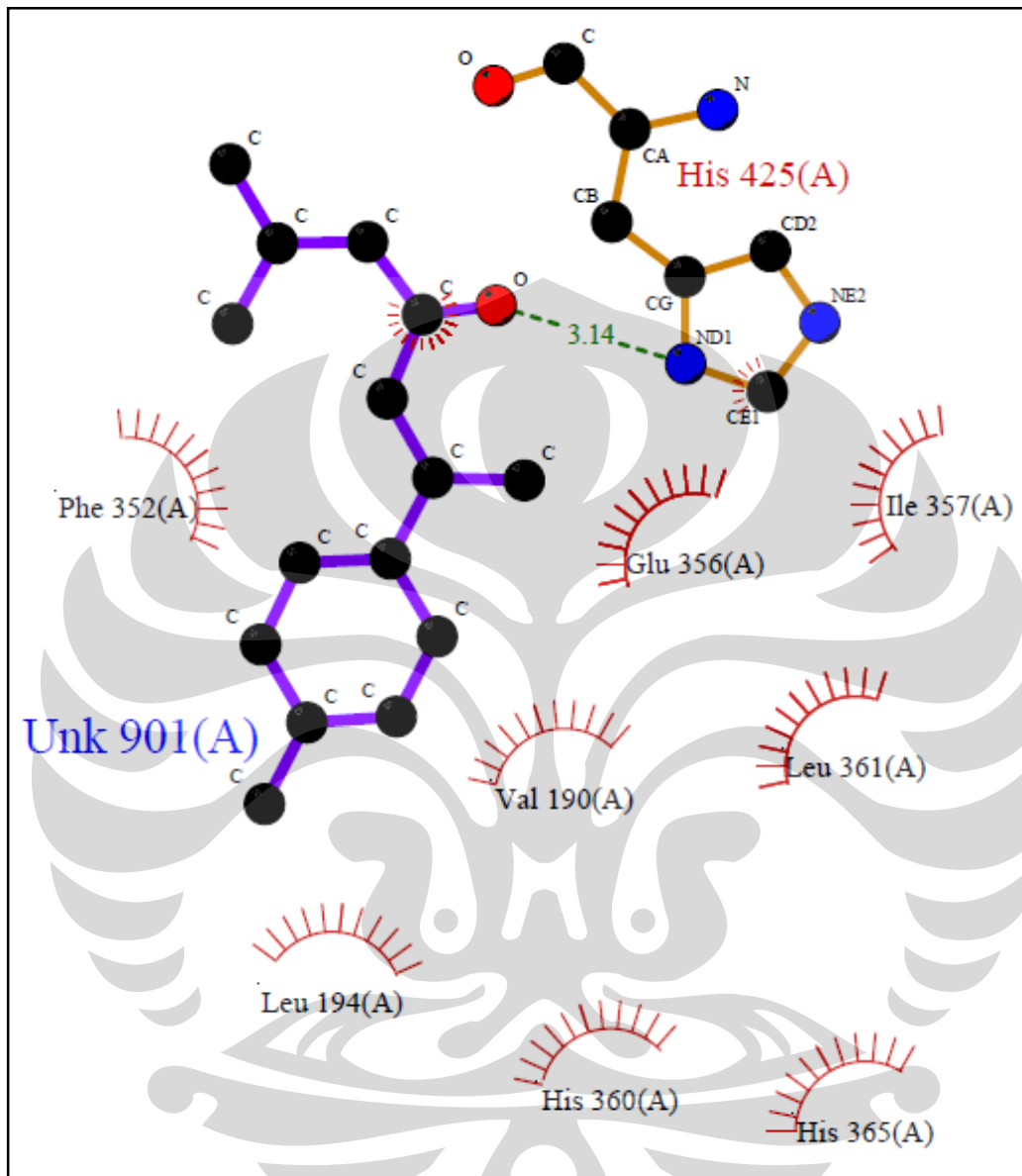
Gambar 34. Hasil analisa LigPlot yang menunjukkan interaksi epigallokatekin dengan protein target 12-LOX.



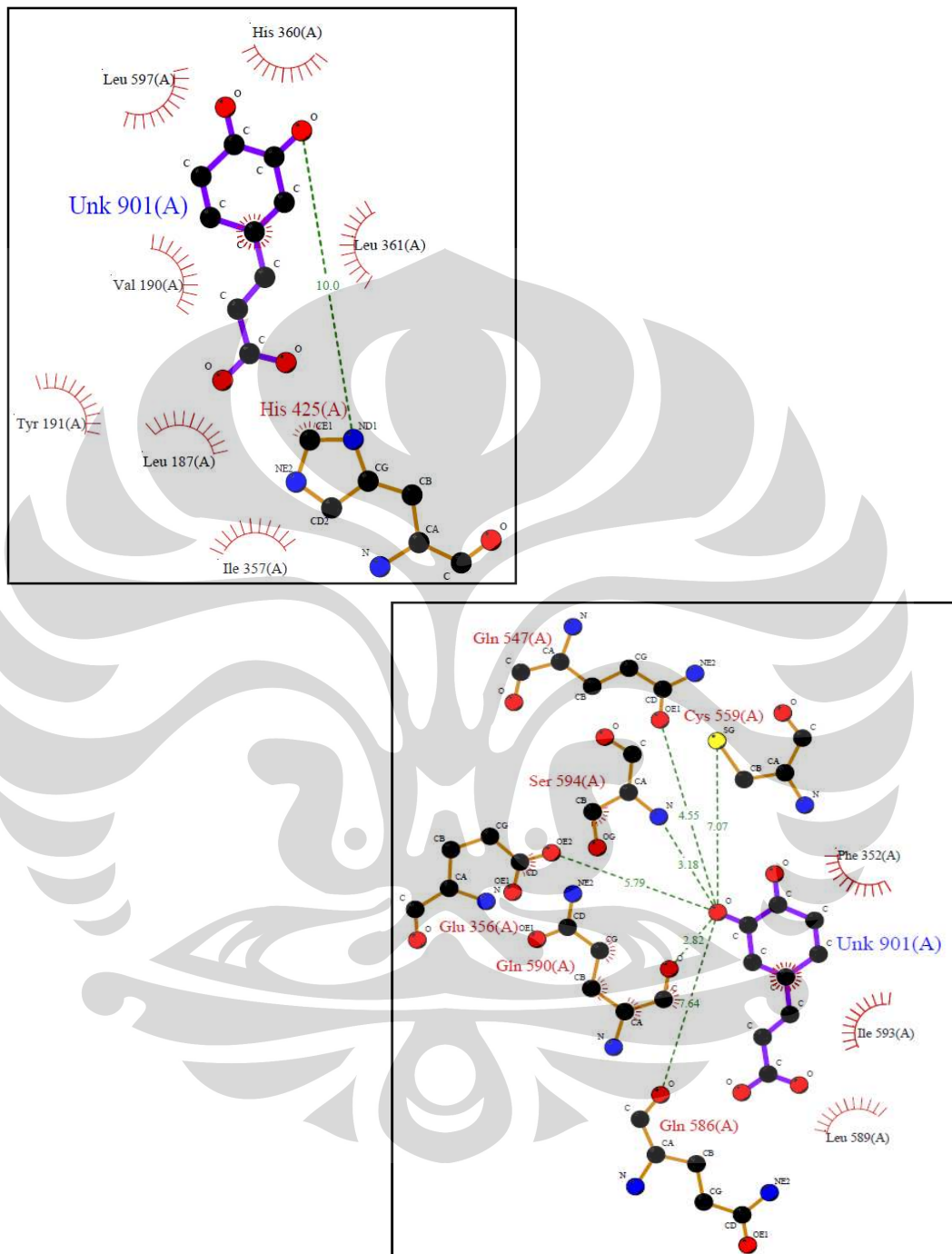
Gambar 35. Hasil analisa LigPlot yang menunjukkan interaksi catekin dengan protein target 12-LOX.



Gambar 36. Hasil analisa LigPlot yang menunjukkan interaksi zingerin dengan protein target 12-LOX.

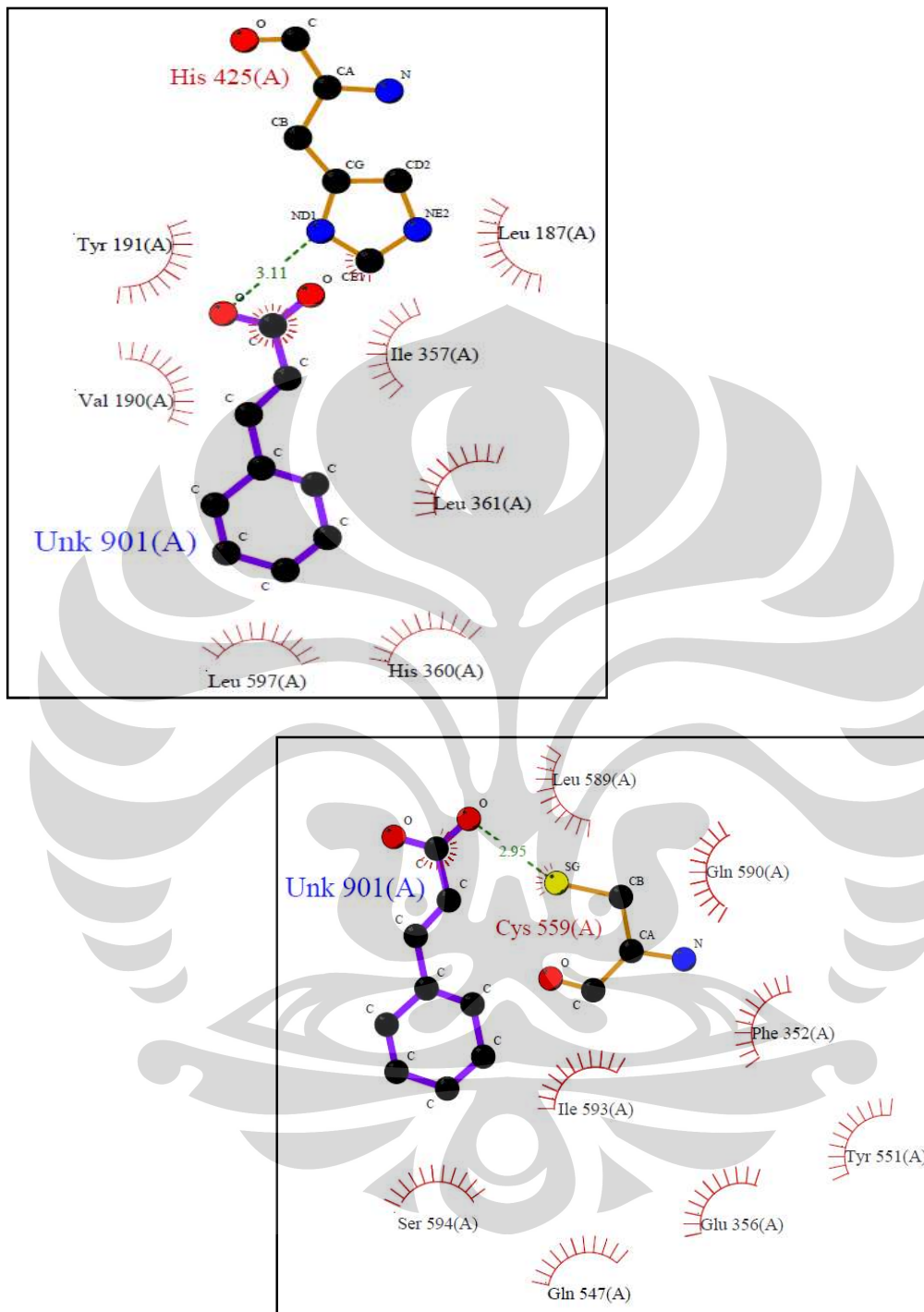


Gambar 37. Hasil analisa LigPlot yang menunjukkan interaksi turmeron dengan protein target 12-LOX.



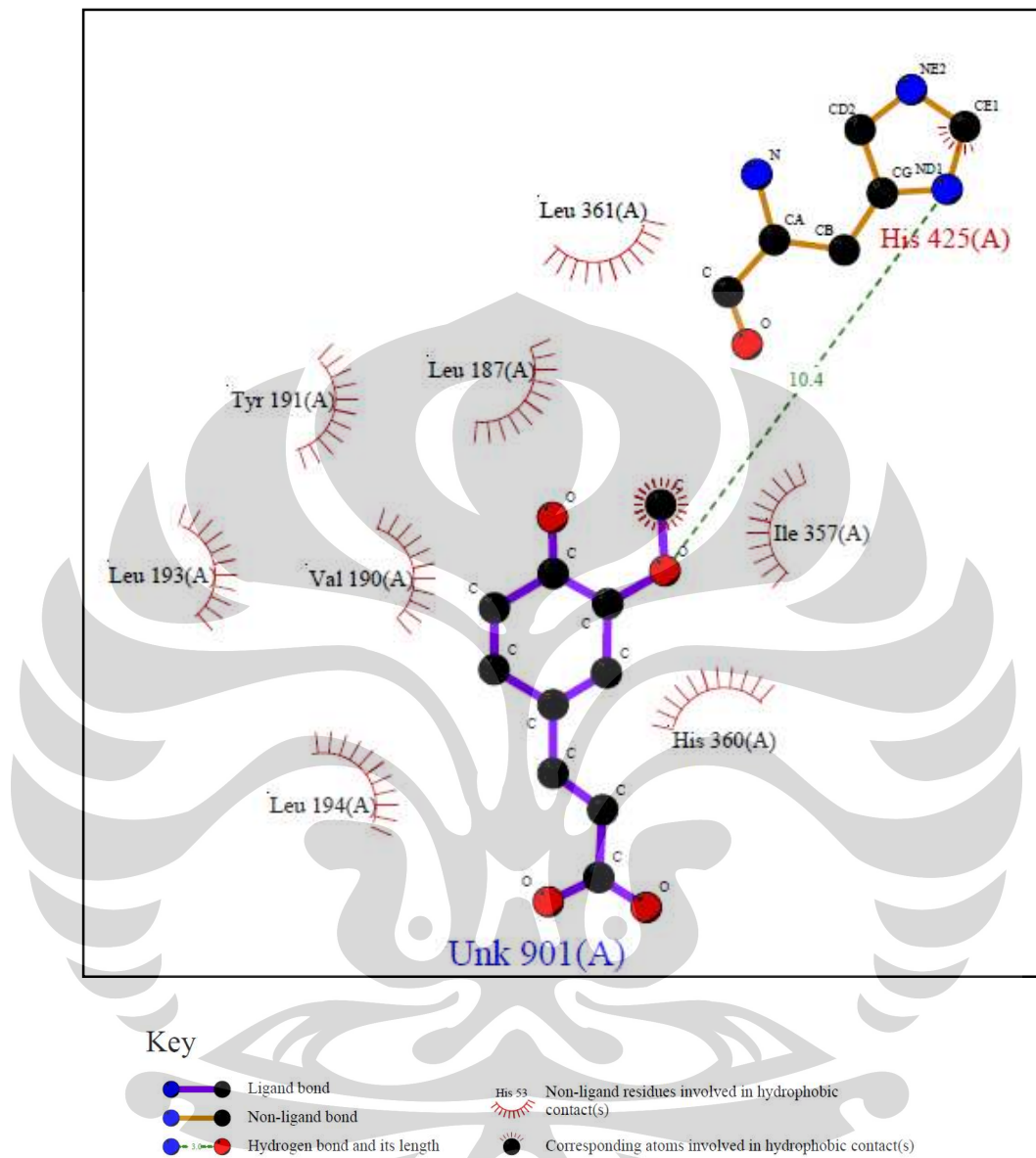
Gambar 38. Hasil analisa LigPlot yang menunjukkan interaksi asam kafeat 1 (atas) dan asam kafeat 2 (bawah) dengan protein target 12-LOX.



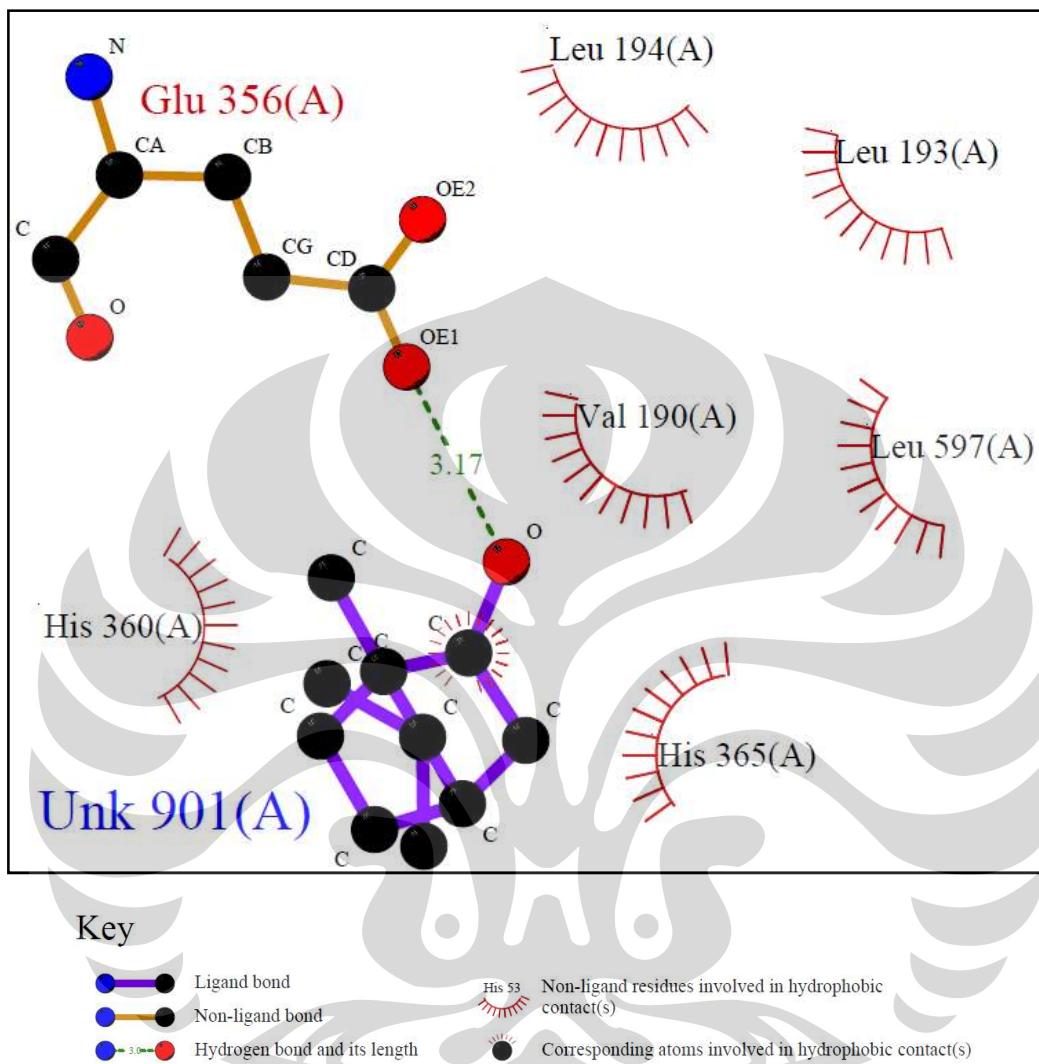


Gambar 39. Hasil analisa LigPlot yang menunjukkan interaksi asam sinamat 1 (atas) dan asam sinamat 2 (bawah) dengan protein target 12-LOX.





Gambar 40. Hasil analisa LigPlot yang menunjukkan interaksi asam ferulat dengan protein target 12-LOX.



Gambar 41. Hasil analisa LigPlot yang menunjukkan interaksi borneol dengan protein target 12-LOX.

TABEL 1

Beberapa daftar tanaman obat yang tumbuh Indonesia

NO	NAMA	KANDUNGAN	MANFAAT
1	<i>Amaranthus Spinosus</i> (Bayam Duri)	amarantin, rutin, spinasterol, hentriakontan	Antinociceptif Anti inflamasi
2	<i>Amaranthus tricolor</i> (Bayam)	amarantin, rutin, spinasterol, hentriakontan, tanin, kalium nitrat, garam fosfat, zat besi, serta Vitamin (A, C, K dan piridoksin=B6)	Antinociceptif Anti inflamasi
3	<i>Catharantus roseus</i> (Tapak Dara)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• vinkristin, vinrosidin</li> <li>• vinblastin dan vinleurososin</li> </ul>	Diabetes, Hipertensi, Leukimia, inflamasi, Bronkhitis, Demam;
4	<i>Sonchus arvensis</i> (Tempuyung)	Flavon, khalkon, flavonol	Penyakit kardiovaskular, diabetes mellitus, inflamasi,

TABEL 1

Beberapa daftar tanaman obat yang tumbuh Indonesia (lanjutan)

NO	NAMA	KANDUNGAN	MANFAAT
5	<i>Bidens pilosa</i> (Ajeran)	Methylsoslundin, centaurein dan centaureidin, aesculetin, behenic acid, beta-sitosterol, borneol, butanedioic acid, butoxylinoleates, cadinols, caffeine	Rematik, Anti Inflamasi, Selesma
6	<i>Plectranthus amboinicus</i> (Jintan)	minyak atsiri (karvon, limonen, dihidrokarvon, dihidrokarveol, karveol, asetaldehida, furool, karvakrol, pinen, felandren), simen dan terpen-terpen.	Demam, Influenza, Rematik, anti inflamasi

TABEL 1

Beberapa daftar tanaman obat yang tumbuh Indonesia (lanjutan)

NO	NAMA	KANDUNGAN	MANFAAT
7	<i>Camellia sinensis</i> (Teh)	Kafein (2-3%), theobromin, theofilin, xanthin, naringenin, dan natural fluoride. Tanin mengandung zat epigallocatechin galat	Antioksidan, anti inflamasi
8	<i>Curcuma xanthorrhiza</i> (Temulawak)	Fellandrian, tumeron, kurkumin	anti inflamasi (anti radang) dan anti hepototoksik (anti keracunan empedu). Sakit limpa, Sakit ginjal,
9	<i>Zingiber officinale</i> (Jahe)	$\alpha$ -zingiberene, $\alpha$ -santalol, zingiberon	anti inflamasi (anti radang) dan anti hepototoksik

TABEL 1

Beberapa daftar tanaman obat yang tumbuh Indonesia (lanjutan)

NO	NAMA	KANDUNGAN	MANFAAT
10	<i>Zingiber zerumbet</i> (Lempuyung Gajah)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• kurkumin</li> <li>• 3",4"-diasetilafzelin (mempunyai efek sitotoksik)</li> <li>• Minyak atsiri rimpang terdiri dari sineol, dipenten, limonen, kariofilen</li> </ul>	<p>anti inflamasi (anti radang) dan anti hepototoksik (anti keracunan empedu). Sakit limpa, Sakit ginjal,</p>

Tabel 2

Nilai energi bebas (KG) hasil penambatan molekuler senyawa aktif tanaman obat terpilih dengan 12-LOX

No.	Ligan	KG (kcal/mol)			KG rata-rata (kcal/mol)	SD KG (kcal/mol)
		1	2	3		
1	Baikalin	-8.34	-8.26	-8.26	-8.29	0.046188022
2	Demetoksikurkumin	-8.06	-8.25	-8.04	-8.12	0.115902258
3	Bisdemetoksikurkumin	-8.06	-8.05	-8.06	-8.06	0.005773503
4	Kurkumin	-7.78	-7.64	-7.73	-7.72	0.070945989
5	Epigallokatekin	-7.32	-7.32	-7.32	-7.32	0
6	Katekin	-7.26	-7.26	-7.26	-7.26	0
7	Zingiberin	-6.09	-6.14	-6.20	-6.14	0.055075705
8	Turmeron	-5.90	-5.99	-5.79	-5.89	0.100166528

Tabel 2

Nilai energi bebas (KG) hasil penambatan molekuler senyawa aktif tanaman obat terpilih dengan 12-LOX (lanjutan)

No.	Ligand	KG (kcal/mol)			KG rata-rata (kcal/mol)	SD KG (kcal/mol)
		1	2	3		
9	Borneol	-4.58	-4.58	-4.58	-4.58	0
10	Asam Kafeat	-4.23	-4.23	-4.23	-4.23	0
11	Asam Ferulat	-4.05	-4.04	-4.04	-4.04	0.005773503
12	Asam Cinamat	-3.99	-3.99	-3.99	-3.99	0



Tabel 3

Nilai konstanta inhibisi (Ki) hasil penambatan molekuler senyawa aktif tanaman obat terpilih dengan 12-LOX

No.	Ligand	Ki Dock (µm)			Ki Jurnal (µm)	Ki rata-rata (µm)	SD Ki (µm)
		1	2	3			
1	Baikalin	0.77243	0.8846	0.8846	0.14 ± 0.11(46)	0.83	0.0793162
2	Demetoksikurkumin	1.23	0.90247	1.27	1.7 - 4.3 (47)	1.13	0.2016409
3	Bisdemetoksikurkumin	1.24	1.25	1.23	1.7- 4.3	1.24	0.01
4	Kurkumin	1.97	2.51	2.17	1.7 - 4.3	2.22	0.2730079
5	Epigallokatekin	4.29	4.29	4.29	4.0 - 6.0 (48)	4.29	0
6	Katekin	4.81	4.79	4.80	-	4.80	0.01
7	Zingiberin	34.64	31.65	28.46	-	31.58	3.0905393
8	Turmeron	47.03	40.48	57.14	-	48.22	8.393154

Tabel 3

Nilai konstanta inhibisi (Ki) hasil penambatan molekuler senyawa aktif tanaman obat terpilih dengan 12-LOX  
(lanjutan)

No.	Ligand	Ki Dock (Ym)			Ki Jurnal (Ym)	Ki rata-rata (Ym)	SD Ki (Ym)
		1	2	3			
9	Borneol	437.65	437.57	437.79	-	437.67	0.1113553
10	As. Kafeat	791.91	790.32	791.89	-	791.37	0.9122682
11	As. Ferulat	1080	1090	1090	1200	1086.67	5.7735027
12	As. Cinamat	1180	1190	1190	-	1186.67	5.7735027

TABEL 6

Jumlah residu asam amino hasil penambatan molekuler dengan senyawa aktif tanaman obat terpilih

	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Val	Tyr	Tyr	His	His	His	Ile	Ile	Glu	Gln	Gln	Gln	Ser	Phe
	193	194	361	597	589	190	191	551	360	365	425	357	593	356	547	586	590	594	352
Cur	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v
Cur II	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v
Cur III	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v
AsFer	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v
AsKaf1			v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v
Askaf2				v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v
AsSin1			v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v
AsSin2				v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v

Keterangan : Cur = Kurkumin; Cur II = Kurkumin II; Cur III = Kurkumin III; AsFer = Asam Ferulat  
 AsKaf = asam kaefat 1 (merah), asam kaefat 2 (hitam); AsSin = Asam Sinamat 1 (merah), Asam sinamat 2 (hitam).

TABEL 6

Jumlah residu asam amino hasil penambatan molekuler dengan senyawa aktif tanaman obat terpilih (lanjutan)

	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Tyr	Tyr	His	His	Ile	Ile	Glu	Gln	Gln	Ser	Phe			
	193	194	361	597	589	191	551	365	425	357	593	356	547	586	590	594	352		
Bai	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v		
EGT	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v		
Bor	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v		
Cat	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v		
Tume	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v		
Zing	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v		
Jumlah	5	10	11	11	5	12	7	4	12	10	7	10	7	12	6	2	7	6	8

Keterangan : Bai = Baikalin; EGT= Epigallokatekin; Bor = Borneol; Cat = Katekin; Tume = Turmeron; Zing=Zingiberin

TABEL 7

Jumlah residu asam amino hasil penambatan molekuler dengan molekul obat lipoksigenase inhibitor

	Leu	Leu	Leu	Leu	Val	Tyr	Tyr	His	His	Ile	Ile	Glu	Gln	Gln	Ser	Phe		
	193	194	361	597	589	191	551	360	365	425	357	593	356	547	586	590	594	352
Kol	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
Zil	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
Fen										V	V	V	V	V	V	V	V	V
Pct								V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
Jumlah	2	1	3	2	1	3	0	3	3	0	1	1	4	1	1	1	1	1

Keterangan : Kol = Kolkisin

Zil = Zileuton

Fen = Fenidon

Pct = Parasetamol

Tabel 4

Nilai energi bebas( $\bar{G}$ ) hasil penambatan molekuler senyawa obat anti-inflamasi dengan 12-LOX

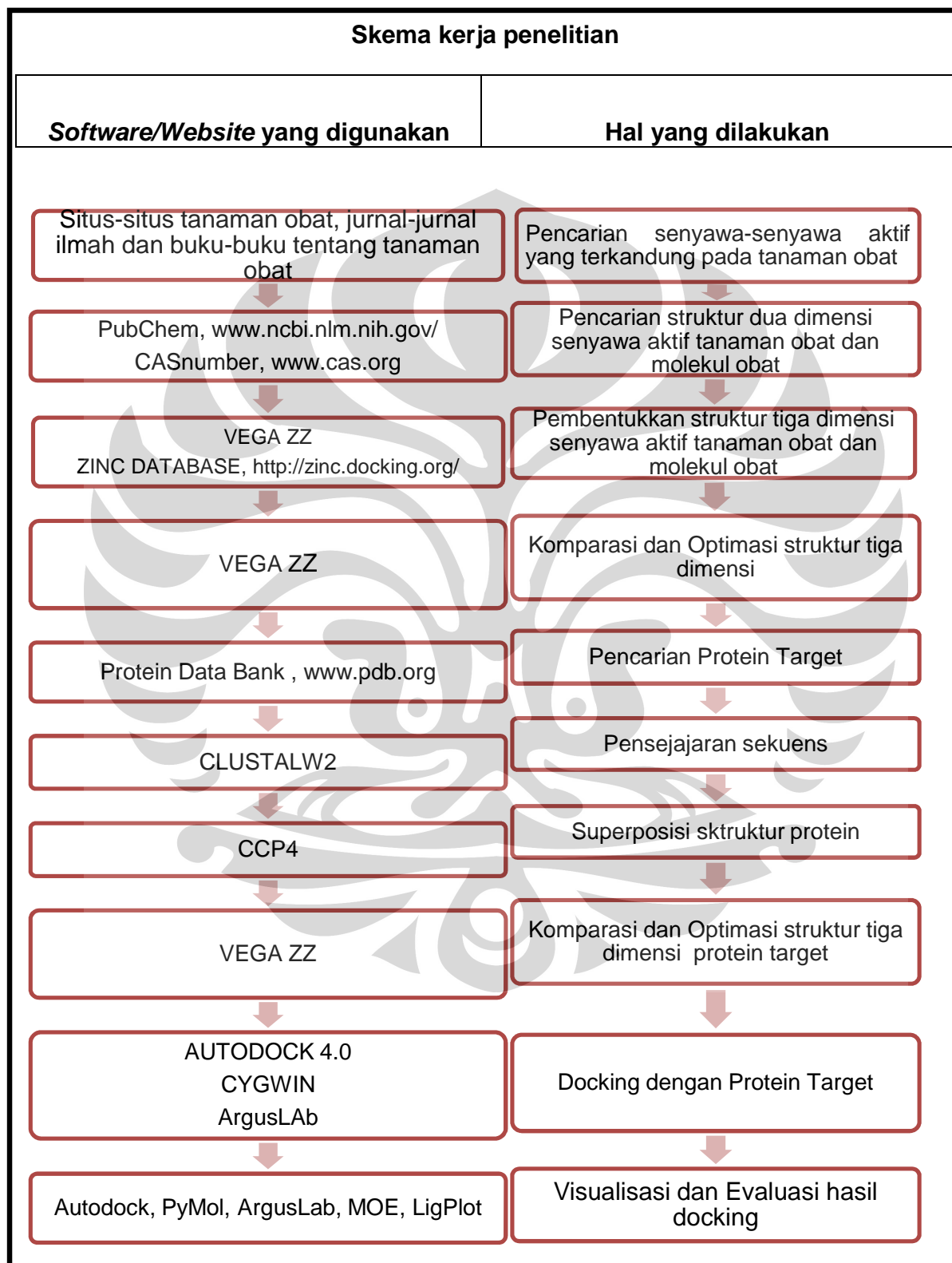
No.	Ligand	$\bar{G}$ (kcal/mol)			$\bar{G}$ rata-rata (kcal/mol)	SD $\bar{G}$ (kcal/mol)
		1	2	3		
1	Kolkisin	-6.99	-6.83	-6.97	-6.93	0.087177979
2	Zileuton	-6.05	-6.03	-6.03	-6.04	0.011547005
3	Fenidon	-4.74	-4.74	-4.74	-4.74	0
4	Parasetamol	-4.15	-4.15	-4.15	-4.15	0

Tabel 5

Nilai konstanta inhibisi (Ki) hasil penambatan molekuler senyawa obat anti-inflamasi dengan 12-LOX

No.	Ligan	Ki Dock (Km)			Ki Jurnal (Km)	Ki rata-rata (Km)	SD Ki (Km)
		1	2	3			
1	Kolkisin	7.54	9.85	7.8	-	8.40	1.265319
2	Zileuton	36.86	37.82	38.01	-	37.56	0.616468
3	Fenidon	335.35	335.26	334.53	-	335.05	0.449704
4	Parasetamol	908.42	908.42	910.13	-	908.99	0.987269

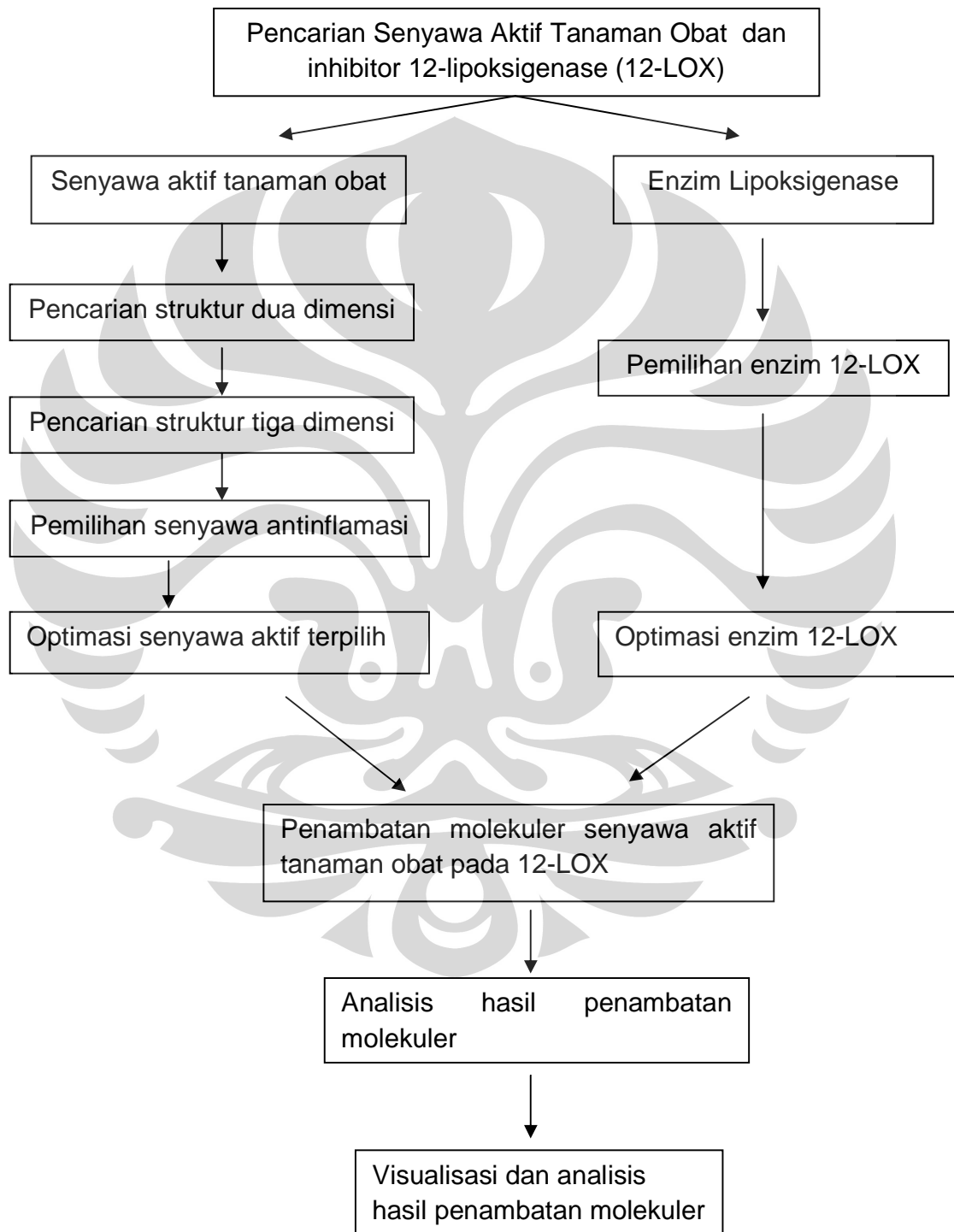
Lampiran 1





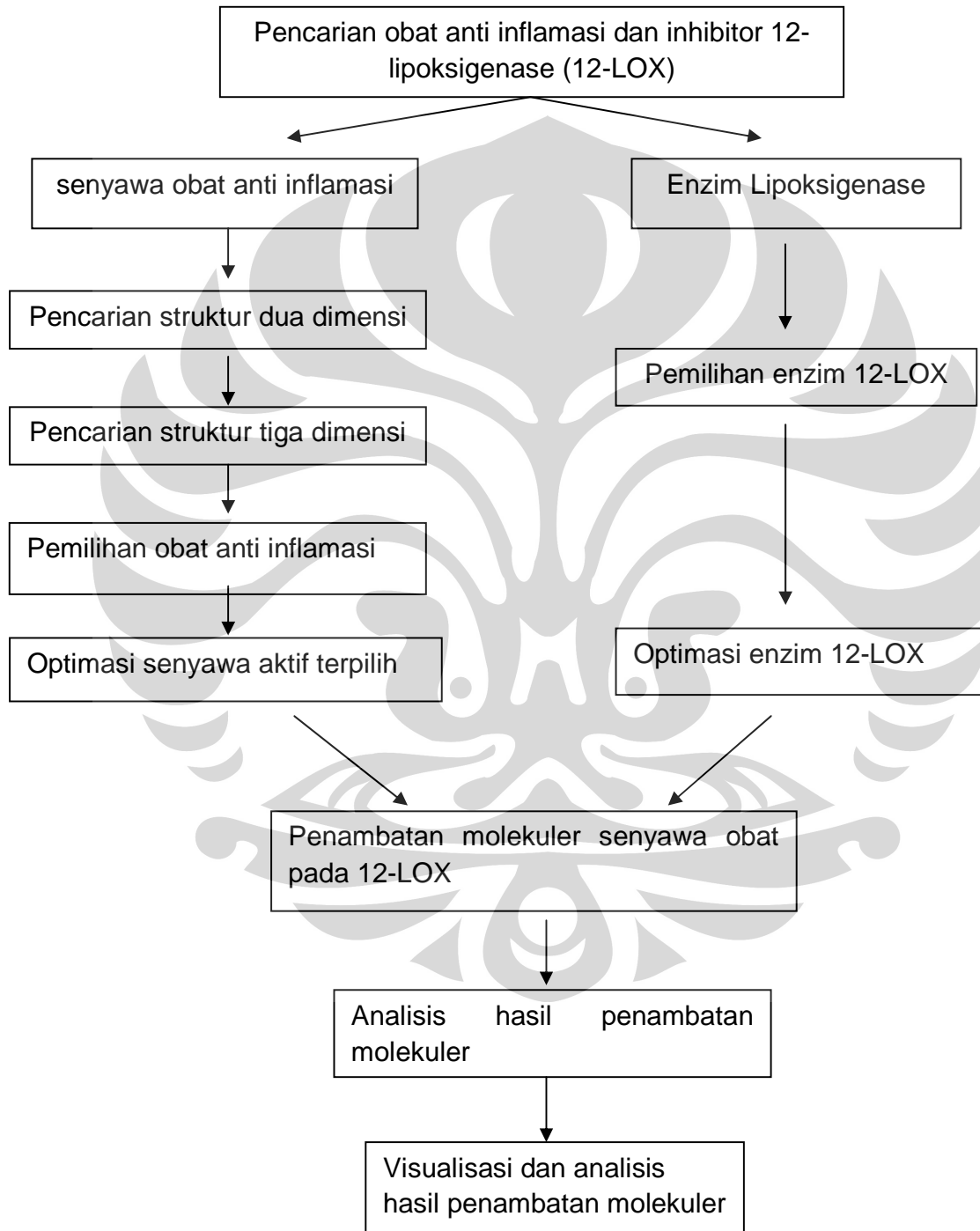
## Lampiran 2

Bagan alur *screening* aktivitas anti inflamasi senyawa aktif tanaman obat



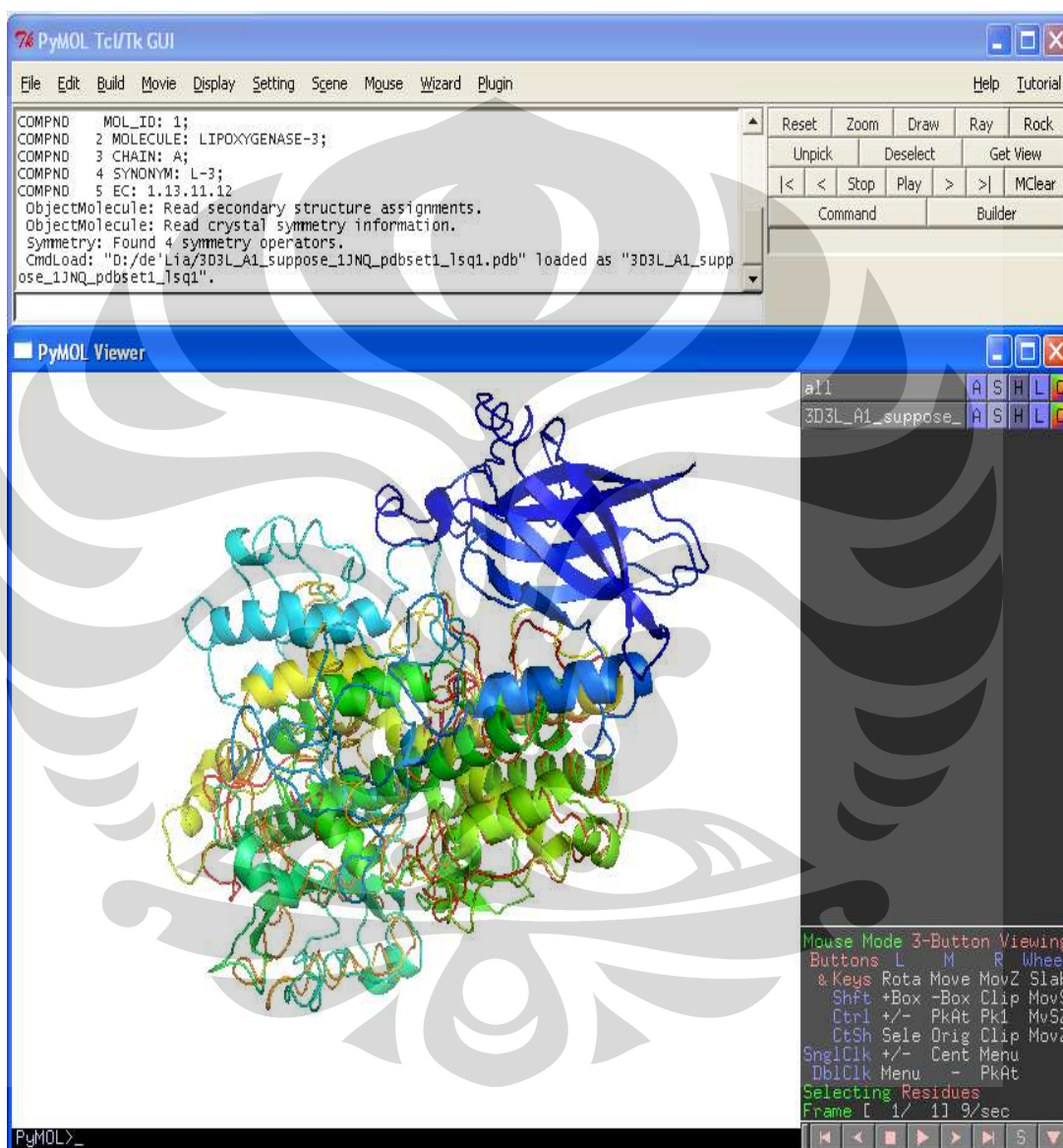
## Lampiran 3

Bagan alur penambatan molekuler senyawa aktif tanaman obat



## Lampiran 4

## Tampilan program Pymol



## Lampiran 5

Tampilan program Superpose, PROCHECK, dan Edit PDB file

Help

Job title

Superpose specified atoms/residues

Output graph of RMS difference    Output all distances to a file

combine superposed coordinates with fixed coordinates in output PDB file

Moving 3d3l Browse View

Fixed 3d3l Browse View

PDB out 3d3l Browse View

Define Matching Atoms/Residues

Fit CA atoms of residues range to of chain

to equivalent residue range

Edit list Add Range

Only fit atoms in sphere radius centred on centre of fixed molecule

Run Save or Restore Close

Help

Edit PDB File

Job title

Use pdbcur to remove hydrogen atoms

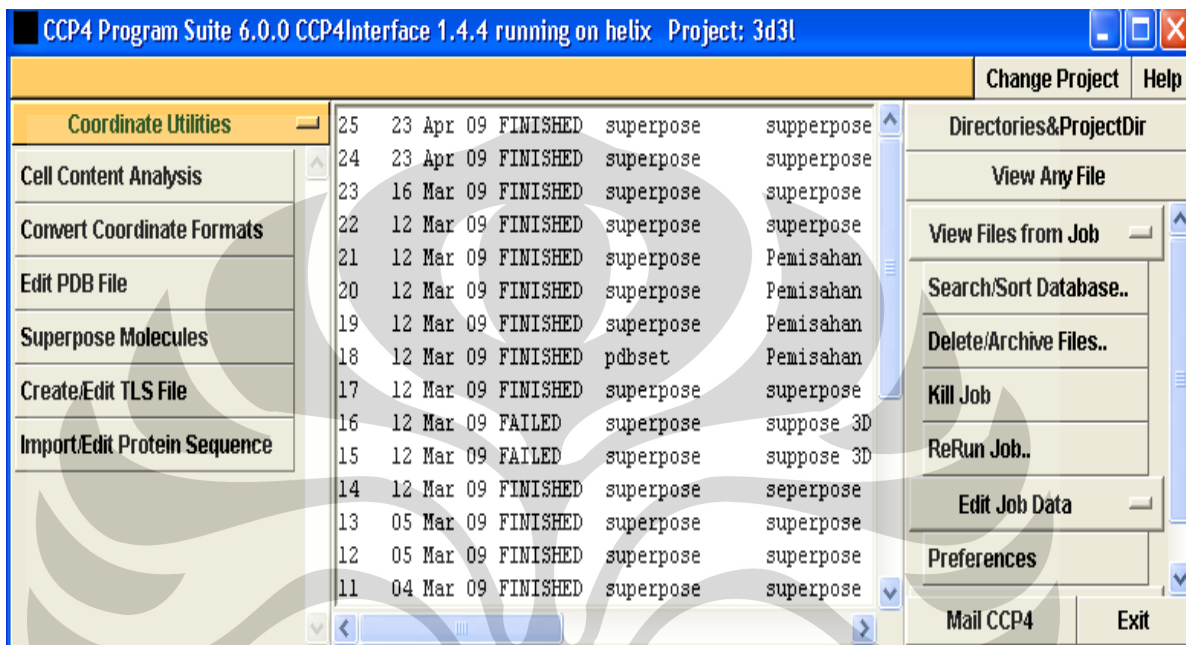
PDB in 3d3l Browse View

PDB out 3d3l Browse View

Run Save or Restore Close

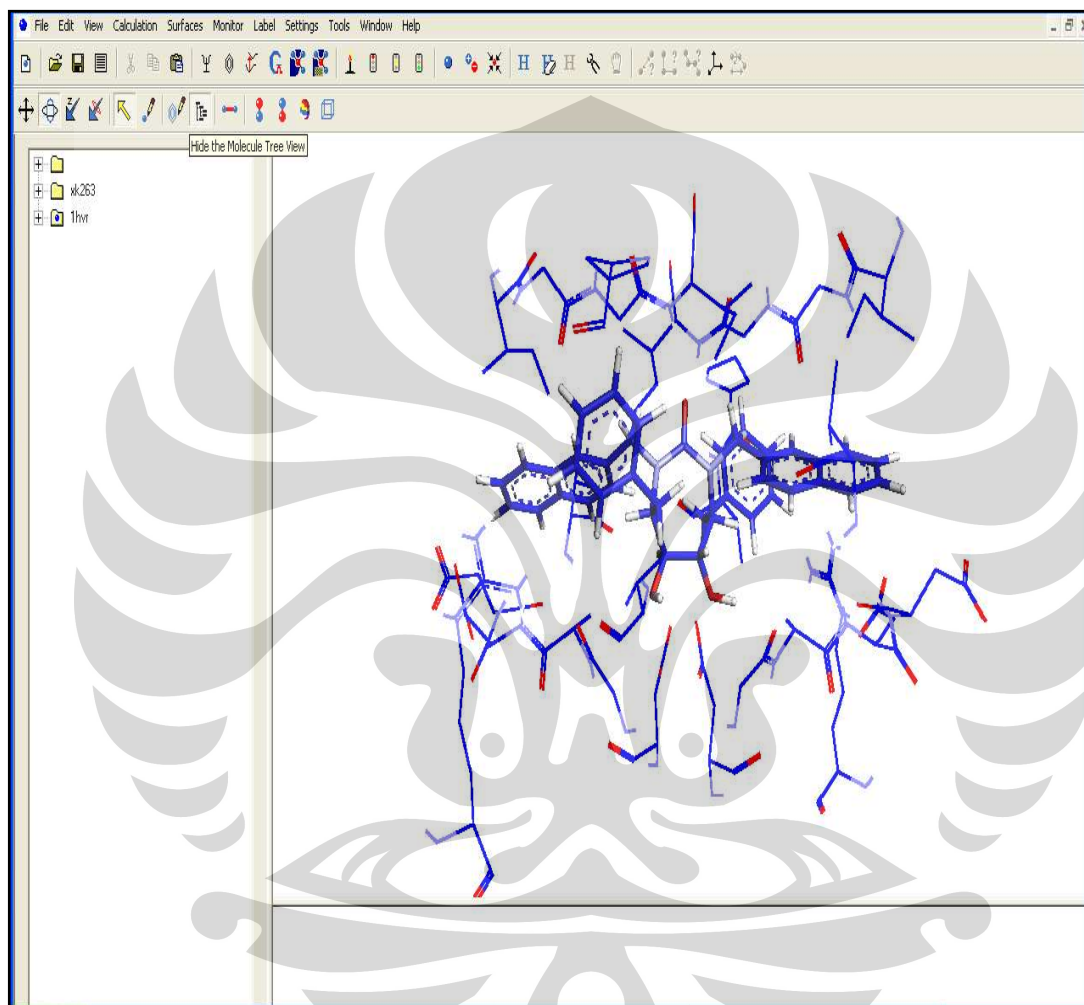
## Lampiran 5

Tampilan program Superpose, PROCHECK, dan Edit PDB file (lanjutan)



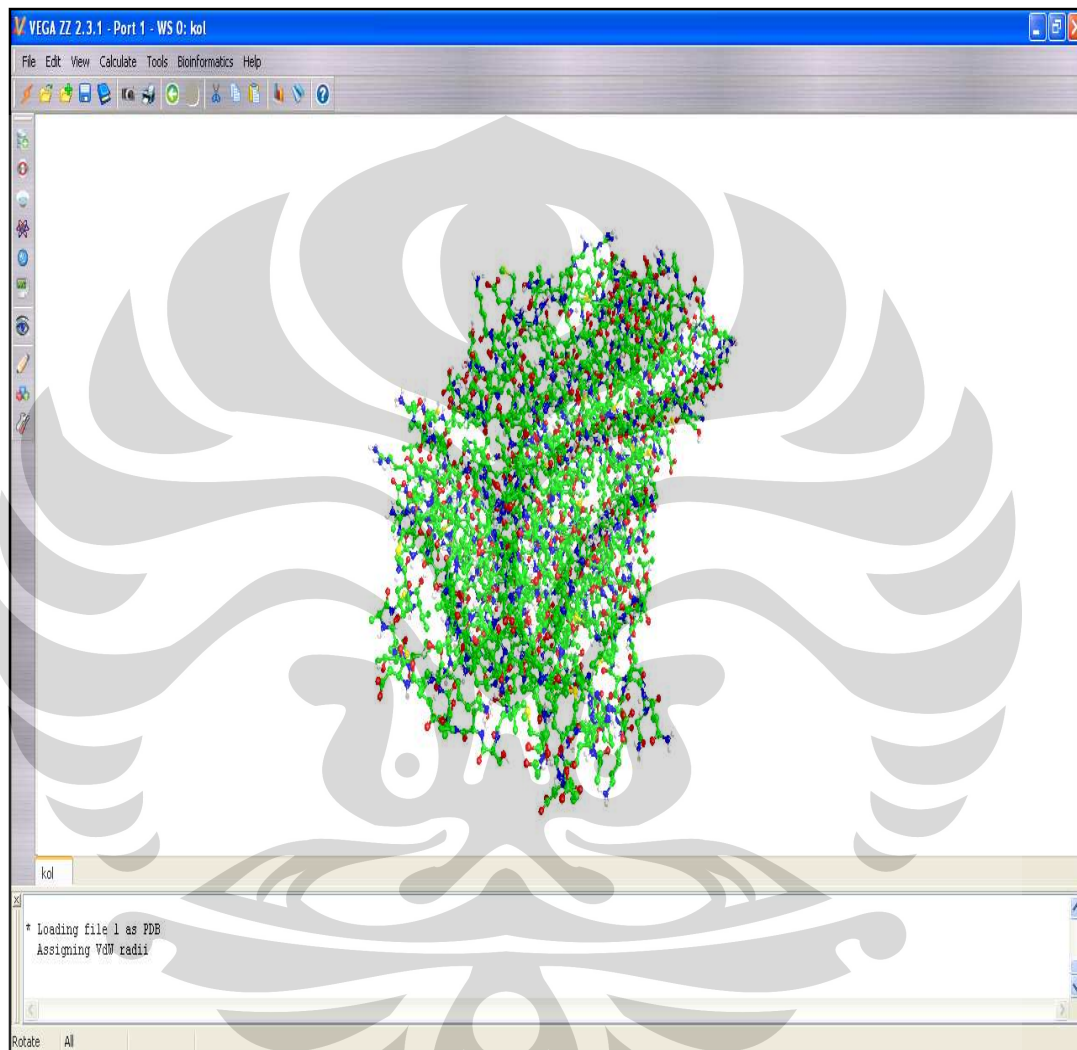
## Lampiran 6

## Tampilan program ArgusLab



## Lampiran 7

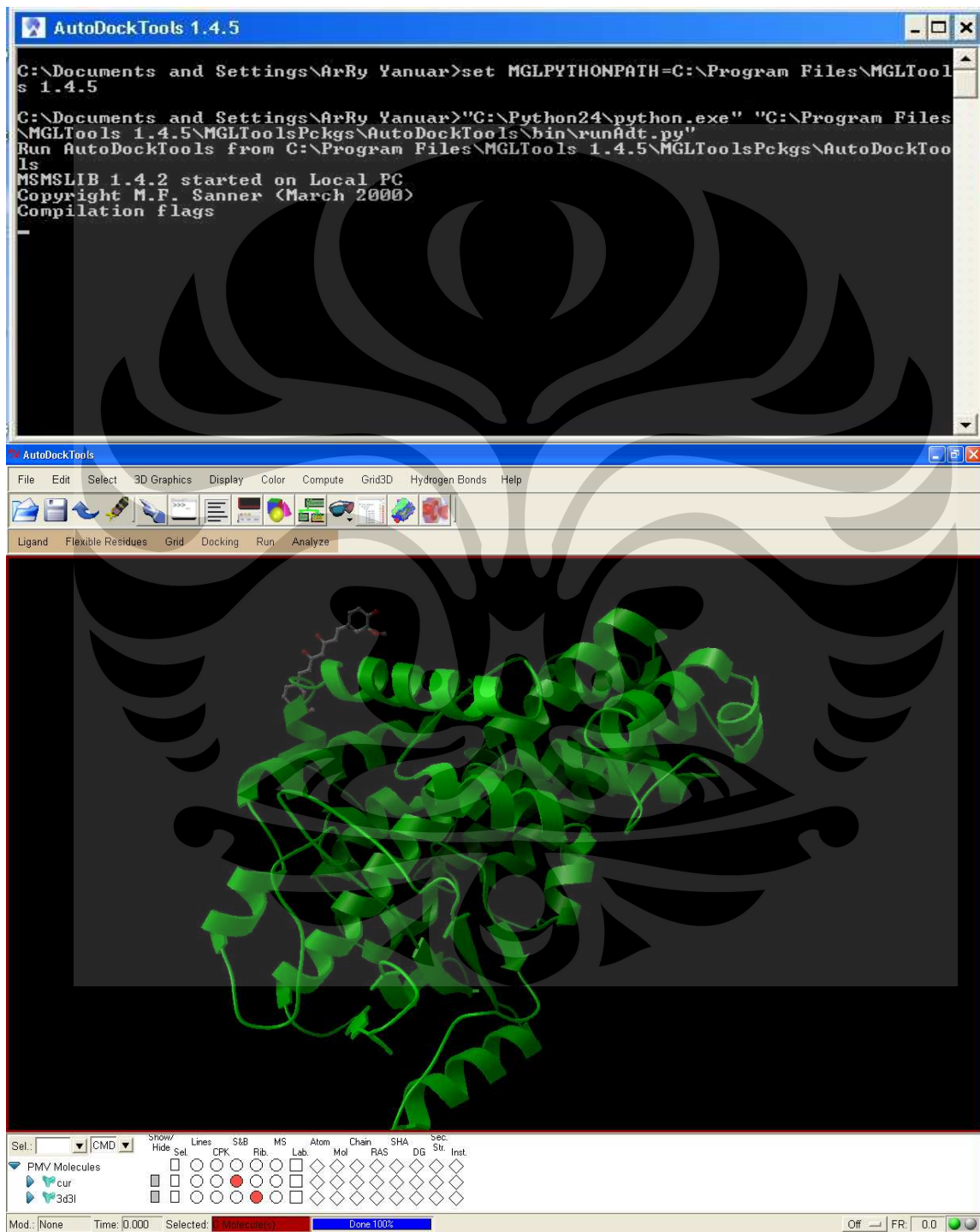
## Tampilan Program Vega ZZ





## Lampiran 8

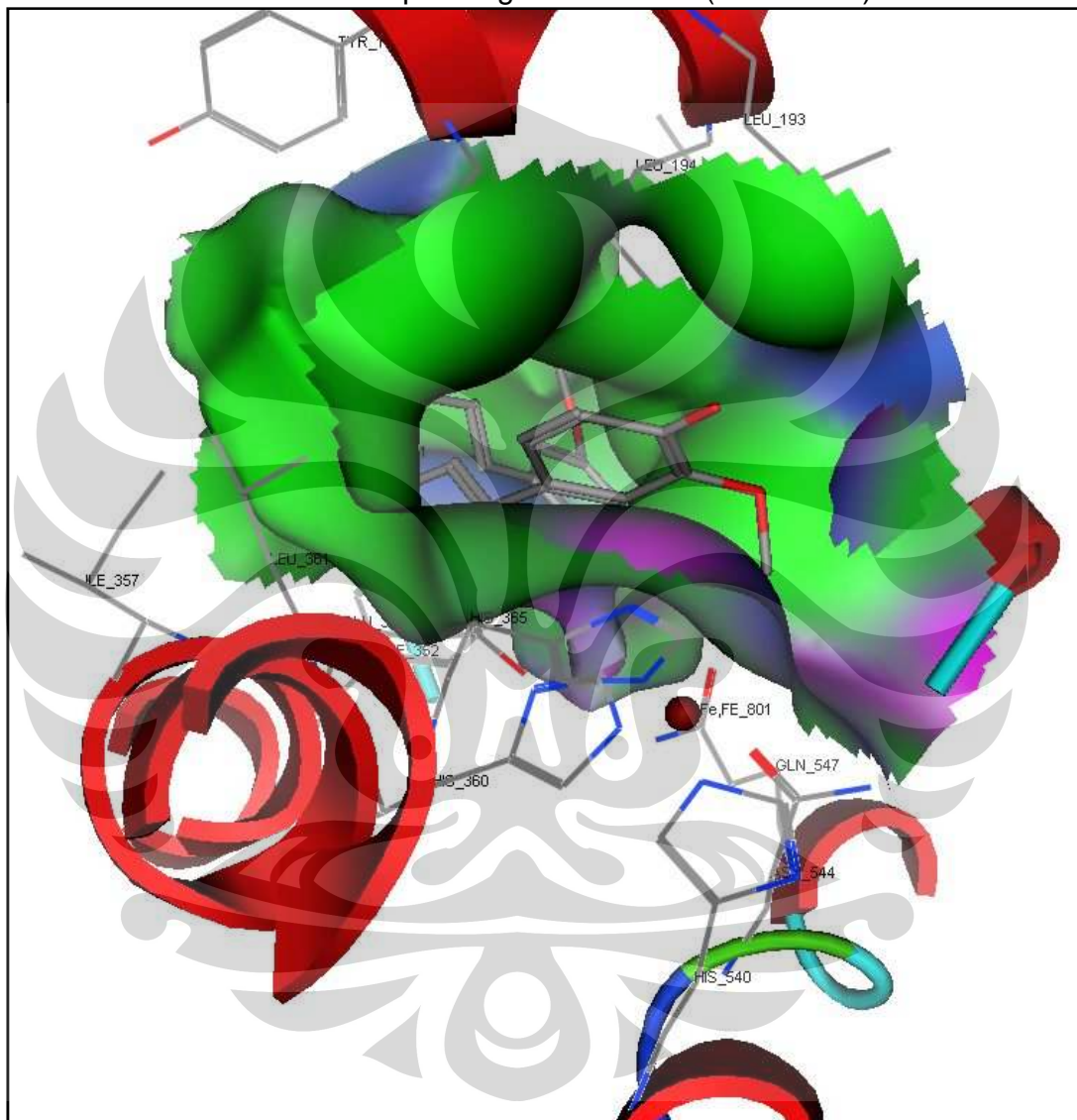
## Tampilan Program Autodock Tools 4.0





## Lampiran 9

Tampilan rongga situs aktif enzim 12-lipoksigenase dengan program  
Molecular Operating Environment (MOE 2007)



## Lampiran 10

## Tampilan program penyejajaran sekuens ClustalW2

The screenshot displays the ClustalW2 web interface. At the top, there is a navigation bar with 'EMBL-EBI' and 'EB-eye Search' logos, a search input field with 'All Databases' selected, and buttons for 'Go', 'Reset', and 'Give us feedback'. Below this is a menu with 'Databases', 'Tools', 'EBI Groups', 'Training', 'Industry', 'About Us', and 'Help'. The main content area is titled 'ClustalW2' and includes a description of the program, a 'Download Software' link, and a 'Help Index' sidebar. The configuration section contains several dropdown menus and checkboxes for various parameters:

YOUR EMAIL	ALIGNMENT TITLE	RESULTS	ALIGNMENT
<input type="text"/>	Sequence	interactive	full
KTUP (WORD SIZE)	WINDOW LENGTH	SCORE TYPE	TOPDIAG
def	def	percent	def
MATRIX	GAP OPEN	NO END GAPS	GAP EXTENSION
def	def	yes	def
	ITERATION		NUMITER
	none		1
OUTPUT	PHYLOGENETIC TREE		
OUTPUT FORMAT	TREE TYPE	CORRECT DIST.	IGNORE GAPS
aln w/numbers	aligned	none	off
			off
			NJ

At the bottom, there is a text input field for 'Enter or paste a set of sequences in any supported format:' with a 'Help' button. Below this is an 'Upload a file:' section with a 'Browse...' button and 'Run' and 'Reset' buttons.

## Lampiran 11

## Berkas Protein Data Bank (PDB) 3D3L

**RCSB PDB**  
PROTEIN DATA BANK

An Information Portal to Biological Macromolecular Structures  
As of Tuesday Jun 09, 2009 there are 58083 Structures | PDB Statistics

MyPDB Login

WHAT'S NEW | CONTACT | FEEDBACK | HELP | PRINT

PDB ID or keyword  Search  Adv. Search

Home Search Structure

3D3L  
Download Files  
PASTA Sequence  
Display Files  
Display Molecule  
Structural Reports  
External Links  
Structure Analysis  
Help  
Reset View

**Summary** | Derived Data | Sequence | Seq. Similarity | Literature | Biol. & Chem. | Methods | Geometry | Links

The 2.6 Å crystal structure of the lipoygenase domain of human arachidonate 12-lipoxygenase, 12S-type (CASP Target)  
DOI:10.2210/pdb3d3l/pdb

**3d3l**

**Primary Citation**  
Crystal structure of the lipoygenase domain of human Arachidonate 12-lipoxygenase, 12S-type. Tresaugues, L., Moche, M., Arrowsmith, C.H., Berglund, H., Busam, R.D., Collins, R., Dahlgren, L.G., Edwards, A.M., Flodin, S., Flores, A., Graslund, S., Hammarstrom, M., Herman, M.D., Johansson, A., Johansson, L., Kallas, A., Karlberg, T., Kotenyova, T., Lehtio, L., Nilsson, N.E., Nyman, T., Olesen, K., Persson, G., Sagemark, J., Schueler, H., Stensson, L., Thorsell, A.G., Van Den Berg, S., Welin, M., Weigelt, J., Wikstrom, M., Nordlund, P. To be Published

**Molecular Description**

Classification: **Oxidoreductase**  
Structure Weight: 122433.09  
Molecule: Arachidonate 12-lipoxygenase, 12S-type  
Polymer: 1 Type: polypeptide(L) Length: 541  
Chains: A, B  
EC#: 1.13.11.31  
Fragment: Lipoxygenase domain: Residues 172-663  
Mutation: I663S

**Source**

Polymer: 1 Scientific Name: **Homo sapiens** Expression System: **Escherichia coli**

**Ligand Chemical Component**

Identifier Name	Formula	Links
FE <input type="button" value="P"/>	FE (III) ION	Fe <input type="button" value="P"/> <input type="button" value="D"/> <input type="button" value="C"/>

**Derived Data**

- PFAM Classification - (2 Domains)
- GO Terms - (22 Terms)

**Biological Molecule 1**

**3-D Viewers:**

Oligomeric State: MONOMERIC

**Deposition Summary**

**Experimental Details**

Method: X-RAY DIFFRACTION  
Experimental Data:    
Resolution[Å]: 2.60  
R-Value: 0.210 (obs.)  
R-Free: 0.276  
Space Group: **P 1**  
Unit Cell:  
Length [Å] Angles [°]  
a = 59.59 α = 65.37  
b = 70.15 β = 88.01  
c = 77.87 γ = 69.82

The RCSB PDB is managed by two members of the RCSB: Rutgers and UCSD, and is funded by NSF, NIGMS, DDE, NLM, NCI, NINDS, and NIDDK.

Lampiran 12

Hasil penyejajaran sekuens lipoksigenase inhibitor menggunakan program ClustaW2

- Help
- General Help
- Formats
- Gaps
- Matrix
- References
- ClustalW2 Help
- ClustalW2 FAQ
- Jalview Help
- Scores Table
- Alignment
- Guide Tree
- Colours

**ClustalW2 Results**

Results of search	
Number of sequences	24
Alignment score	879869
Sequence format	Pearson
Sequence type	aa
JalView	<input type="button" value="Start Jalview"/>
Output file	<a href="#">clustalw2-20090304-02280642_output</a>
Alignment file	<a href="#">clustalw2-20090304-02280642.aln</a>
Guide tree file	<a href="#">clustalw2-20090304-02280642.dnd</a>
Your input file	<a href="#">clustalw2-20090304-02280642.input</a>

To save a result file right-click the file link in the above table and choose "Save Target As".  
If you cannot see the JalView button, reload the page and check your browser settings to enable Java Applets.

**Alignment**

CLUSTAL 2.0.10 multiple sequence alignment

```

2IU_K_B|PDBID|CHAIN|SEQUENCE      -MFGIFDKGQKIKGTVVLMPKNVLDFNAITSIGKGGVIDTATGILGQGV 49
2IU_K_A|PDBID|CHAIN|SEQUENCE      -MFGIFDKGQKIKGTVVLMPKNVLDFNAITSIGKGGVIDTATGILGQGV 49
1HU9_A|PDBID|CHAIN|SEQUENCE      MLGGLLHRGHKIKGTVVLMPKNVLDVNSVTSVG-----GIIGQGLD 41
1IK3_A|PDBID|CHAIN|SEQUENCE      MLGGLLHRGHKIKGTVVLMPKNVLDVNSVTSVG-----GIIGQGLD 41
1JN_Q_A|PDBID|CHAIN|SEQUENCE      MLGGLLHRGHKIKGTVVLMPKNVLDVNSVTSVG-----GIIGQGLD 41
1LNH_A|PDBID|CHAIN|SEQUENCE      MLGGLLHRGHKIKGTVVLMPKNVLDVNSVTSVG-----GIIGQGLD 41
1N8_Q_A|PDBID|CHAIN|SEQUENCE      MLGGLLHRGHKIKGTVVLMPKNVLDVNSVTSVG-----GIIGQGLD 41
1RRH_A|PDBID|CHAIN|SEQUENCE      MLGGLLHRGHKIKGTVVLMPKNVLDVNSVTSVG-----GIIGQGLD 41
1RRL_B|PDBID|CHAIN|SEQUENCE      MLGGLLHRGHKIKGTVVLMPKNVLDVNSVTSVG-----GIIGQGLD 41
1RRL_A|PDBID|CHAIN|SEQUENCE      MLGGLLHRGHKIKGTVVLMPKNVLDVNSVTSVG-----GIIGQGLD 41
2IUJ_A|PDBID|CHAIN|SEQUENCE      MFP-FGHKQKIKGTMVVMQKNVLDINSITSVD-----GIVGTGLD 40
1FG_Q_A|PDBID|CHAIN|SEQUENCE      ----MFSAGHKIKGTVVLMPKNELEVNP-----25
1FG_Q_A|PDBID|CHAIN|SEQUENCE      ----MFSAGHKIKGTVVLMPKNELEVNP-----25
1FGM_A|PDBID|CHAIN|SEQUENCE      ----MFSAGHKIKGTVVLMPKNELEVNP-----25
1Y4K_A|PDBID|CHAIN|SEQUENCE      ----MFSAGHKIKGTVVLMPKNELEVNP-----25
1FGR_A|PDBID|CHAIN|SEQUENCE      ----MFSAGHKIKGTVVLMPKNELEVNP-----25
1FGT_A|PDBID|CHAIN|SEQUENCE      ----MFSAGHKIKGTVVLMPKNELEVNP-----25
1YGE_A|PDBID|CHAIN|SEQUENCE      ----MFSAGHKIKGTVVLMPKNELEVNP-----25
1F8N_A|PDBID|CHAIN|SEQUENCE      ----MFSAGHKIKGTVVLMPKNELEVNP-----25
3BNC_A|PDBID|CHAIN|SEQUENCE      ----MFSAGHKIKGTVVLMPKNELEVNP-----25
2POM_B|PDBID|CHAIN|SEQUENCE      -----25
2POM_A|PDBID|CHAIN|SEQUENCE      -----25
3D3L_B|PDBID|CHAIN|SEQUENCE      -----25
3D3L_A|PDBID|CHAIN|SEQUENCE      -----25
                
```

Screening aktivitas..., Chatarina Aprillia Priyas Utami, FMIPA UI, 2009

Lampiran 12

Hasil penyejajaran sekuens lipoksigenase inhibitor menggunakan program ClustalW2 (lanjutan)

2IU_K_B   PDBID   CHAIN   SEQUENCE	LVGGVIDTATSFLGRNISMQLISATQTDGSGNGKVKGEVYLEKHLPTLPT	99
2IU_K_A   PDBID   CHAIN   SEQUENCE	LVGGVIDTATSFLGRNISMQLISATQTDGSGNGKVKGEVYLEKHLPTLPT	99
1HU9_A   PDBID   CHAIN   SEQUENCE	LVGSTLDTLTAFLGRSVSLQLISATKADANGKGLGKATFLEGIITSLPT	91
1IK3_A   PDBID   CHAIN   SEQUENCE	LVGSTLDTLTAFLGRSVSLQLISATKADANGKGLGKATFLEGIITSLPT	91
1JNQ_A   PDBID   CHAIN   SEQUENCE	LVGSTLDTLTAFLGRSVSLQLISATKADANGKGLGKATFLEGIITSLPT	91
1LNH_A   PDBID   CHAIN   SEQUENCE	LVGSTLDTLTAFLGRSVSLQLISATKADANGKGLGKATFLEGIITSLPT	91
1N8Q_A   PDBID   CHAIN   SEQUENCE	LVGSTLDTLTAFLGRSVSLQLISATKADANGKGLGKATFLEGIITSLPT	91
1RRH_A   PDBID   CHAIN   SEQUENCE	LVGSTLDTLTAFLGRSVSLQLISATKADANGKGLGKATFLEGIITSLPT	91
1RRL_B   PDBID   CHAIN   SEQUENCE	LVGSTLDTLTAFLGRSVSLQLISATKADANGKGLGKATFLEGIITSLPT	91
1RRL_A   PDBID   CHAIN   SEQUENCE	LVGSTLDTLTAFLGRSVSLQLISATKADANGKGLGKATFLEGIITSLPT	91
2IUJ_A   PDBID   CHAIN   SEQUENCE	FLGSALDVTV-FLASSISIQLISATKADG-GKGVKATNLRGKIT-LPT	87
1FGO_A   PDBID   CHAIN   SEQUENCE	--GSAVDNLNAFLGRSVSLQLISATKADAHGKGVKGDTFLEGINTSLPT	73
1FGQ_A   PDBID   CHAIN   SEQUENCE	--GSAVDNLNAFLGRSVSLQLISATKADAHGKGVKGDTFLEGINTSLPT	73
1FGM_A   PDBID   CHAIN   SEQUENCE	--GSAVDNLNAFLGRSVSLQLISATKADAHGKGVKGDTFLEGINTSLPT	73
1Y4K_A   PDBID   CHAIN   SEQUENCE	--GSAVDNLNAFLGRSVSLQLISATKADAHGKGVKGDTFLEGINTSLPT	73
1FGR_A   PDBID   CHAIN   SEQUENCE	--GSAVDNLNAFLGRSVSLQLISATKADAHGKGVKGDTFLEGINTSLPT	73
1FGT_A   PDBID   CHAIN   SEQUENCE	--GSAVDNLNAFLGRSVSLQLISATKADAHGKGVKGDTFLEGINTSLPT	73
1YGE_A   PDBID   CHAIN   SEQUENCE	--GSAVDNLNAFLGRSVSLQLISATKADAHGKGVKGDTFLEGINTSLPT	73
1F8N_A   PDBID   CHAIN   SEQUENCE	--GSAVDNLNAFLGRSVSLQLISATKADAHGKGVKGDTFLEGINTSLPT	73
3BNC_A   PDBID   CHAIN   SEQUENCE	--GSAVDNLNAFLGRSVSLQLISATKADAHGKGVKGDTFLEGINTSLPT	73
2POM_B   PDBID   CHAIN   SEQUENCE	-----GVYRVCVSTGASIVAGSKNKVELLWLVGQHQGEVELGS-----CLRP	40
2POM_A   PDBID   CHAIN   SEQUENCE	-----GVYRVCVSTGASIVAGSKNKVELLWLVGQHQGEVELGS-----CLRP	40
3D3L_B   PDBID   CHAIN   SEQUENCE	-----	
3D3L_A   PDBID   CHAIN   SEQUENCE	-----	

2IU_K_B   PDBID   CHAIN   SEQUENCE	ET-PNWTDDKKALEAFKRFSGSKLTGIEGKINARNSDPSLR-NRTGVPQLP	841
2IU_K_A   PDBID   CHAIN   SEQUENCE	ET-PNWTDDKKALEAFKRFSGSKLTGIEGKINARNSDPSLR-NRTGVPQLP	841
1HU9_A   PDBID   CHAIN   SEQUENCE	DN-PNWTSDTRALEAFKRFGNKLAQIENKLSERNNDEKLR-NRCGPVQMP	834
1IK3_A   PDBID   CHAIN   SEQUENCE	DN-PNWTSDTRALEAFKRFGNKLAQIENKLSERNNDEKLR-NRCGPVQMP	834
1JNQ_A   PDBID   CHAIN   SEQUENCE	DN-PNWTSDTRALEAFKRFGNKLAQIENKLSERNNDEKLR-NRCGPVQMP	834
1LNH_A   PDBID   CHAIN   SEQUENCE	DN-PNWTSDTRALEAFKRFGNKLAQIENKLSERNNDEKLR-NRCGPVQMP	834
1N8Q_A   PDBID   CHAIN   SEQUENCE	DN-PNWTSDTRALEAFKRFGNKLAQIENKLSERNNDEKLR-NRCGPVQMP	834
1RRH_A   PDBID   CHAIN   SEQUENCE	DN-PNWTSDTRALEAFKRFGNKLAQIENKLSERNNDEKLR-NRCGPVQMP	834
1RRL_B   PDBID   CHAIN   SEQUENCE	DN-PNWTSDTRALEAFKRFGNKLAQIENKLSERNNDEKLR-NRCGPVQMP	834
1RRL_A   PDBID   CHAIN   SEQUENCE	DN-PNWTSDTRALEAFKRFGNKLAQIENKLSERNNDEKLR-NRCGPVQMP	834
2IUJ_A   PDBID   CHAIN   SEQUENCE	DGGDYWTS DAGPLEAFKRFGNKLEETEKLEKNNDETLR-NRYGPAKMP	830
1FGO_A   PDBID   CHAIN   SEQUENCE	DN-PHWTSDSKALQAFQKFGNKLKEIEEKLVRNRNDPSLQGNRLGPVQLP	816
1FGQ_A   PDBID   CHAIN   SEQUENCE	DN-PHWTSDSKALQAFQKFGNKLKEIEEKLVRNRNDPSLQGNRLGPVQLP	816
1FGM_A   PDBID   CHAIN   SEQUENCE	DN-PHWTSDSKALQAFQKFGNKLKEIEEKLVRNRNDPSLQGNRLGPVQLP	816
1Y4K_A   PDBID   CHAIN   SEQUENCE	DN-PHWTSDSKALQAFQKFGNKLKEIEEKLVRNRNDPSLQGNRLGPVQLP	816
1FGR_A   PDBID   CHAIN   SEQUENCE	DN-PHWTSDSKALQAFQKFGNKLKEIEEKLVRNRNDPSLQGNRLGPVQLP	816
1FGT_A   PDBID   CHAIN   SEQUENCE	DN-PHWTSDSKALQAFQKFGNKLKEIEEKLVRNRNDPSLQGNRLGPVQLP	816
1YGE_A   PDBID   CHAIN   SEQUENCE	DN-PHWTSDSKALQAFQKFGNKLKEIEEKLVRNRNDPSLQGNRLGPVQLP	816
1F8N_A   PDBID   CHAIN   SEQUENCE	DN-PHWTSDSKALQAFQKFGNKLKEIEEKLVRNRNDPSLQGNRLGPVQLP	816
3BNC_A   PDBID   CHAIN   SEQUENCE	DN-PHWTSDSKALQAFQKFGNKLKEIEEKLVRNRNDPSLQGNRLGPVQLP	816
2POM_B   PDBID   CHAIN   SEQUENCE	QE--EYFSGPEPRAVLEKFREE LAIMDKIEVRNEKLDIPYEYLRPSIVE	657
2POM_A   PDBID   CHAIN   SEQUENCE	QE--EYFSGPEPRAVLEKFREE LAIMDKIEVRNEKLDIPYEYLRPSIVE	657
3D3L_B   PDBID   CHAIN   SEQUENCE	KE--KYFSGPKPKAVLNQFRTDLEKLEKEITARNEQLDWPYELYKPCSCIE	504
3D3L_A   PDBID   CHAIN   SEQUENCE	KE--KYFSGPKPKAVLNQFRTDLEKLEKEITARNEQLDWPYELYKPCSCIE	504

## Lampiran 13.

Perintah LINUX yang digunakan pada penelitian ini

1. *cd ..*

> menaikkan direktori satu tingkat <

2. *cd nama\_folder*

> masuk atau pindah direktori pada satu tingkat <

3. *vi nama\_file.pdbqt*

> membuka *log file* <

4. *: wq*

> menutup *log file* <

5. *autogrid4 -p grid\_file.gpf -l grid\_file.glg&*

> memroses *grid\_file* pada saat program Autogrid dijalankan <

6. *autodock4 -p dock\_file.dpf -l dock\_file.dlg&*

> memroses *dock\_file* pada saat program Autodock dijalankan <

7. *tail -f dock\_file.dlg*

> melihat proses yang sedang berlangsung <

8. *ligplot nama\_file.pdb identitas\_ligan nomor\_kode\_ligan*

> menjalankan program *ligplot* <



## Lampiran 14

## 20 Asam amino penyusun protein (50)

