



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**PENAPISAN *IN SILICO* BEBERAPA SENYAWA BAHAN ALAM TERHADAP  
AKTIVITAS PROTEASE HIV-1**

**SKRIPSI**

**AMELIA**

**0806364416**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**

**PROGRAM STUDI FARMASI**

**DEPOK**

**DESEMBER 2010**



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**PENAPISAN *IN SILICO* BEBERAPA SENYAWA BAHAN ALAM TERHADAP  
AKTIVITAS PROTEASE HIV-1**

**SKRIPSI**

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

**Sarjana Farmasi**

**AMELIA**

**0806364416**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**

**PROGRAM STUDI FARMASI**

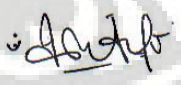
**DEPOK**

**2010**

**ii**

## HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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



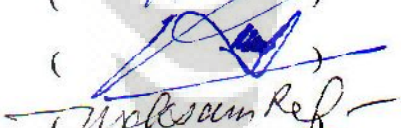
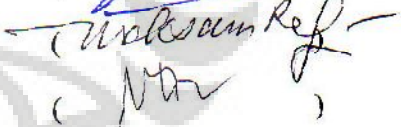

Nama : Amelia  
NPM : 0806364416  
Tanda Tangan :   
Tanggal : 8 Desember 2010

## HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :  
Nama : Amelia  
NPM : 0806364416  
Program Studi : Farmasi  
Judul Skripsi : Penapisan *in silico* Beberapa Senyawa Bahan Alam terhadap aktivitas Protease HIV-1

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

### DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dr. Arry Yanuar, M.Si (  )  
Pembimbing II : Dr. Abdul Mun'im, M.S (  )  
Penguji I : Dra Rosmaladewi (  )  
Penguji II : Dr. Maksum Radji, MS (  )  
Penguji III : Dr. Nelly D. Leswara (  )

Ditetapkan di : Depok  
Tanggal : 28 Desember 2010

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah Bapa, Tuhan Yesus Kristus yang telah melimpahkan berkat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi yang berjudul Penapisan *in silico* Beberapa Senyawa Bahan Alam terhadap Aktivitas Protease HIV-1.

Dalam kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini, antara lain:

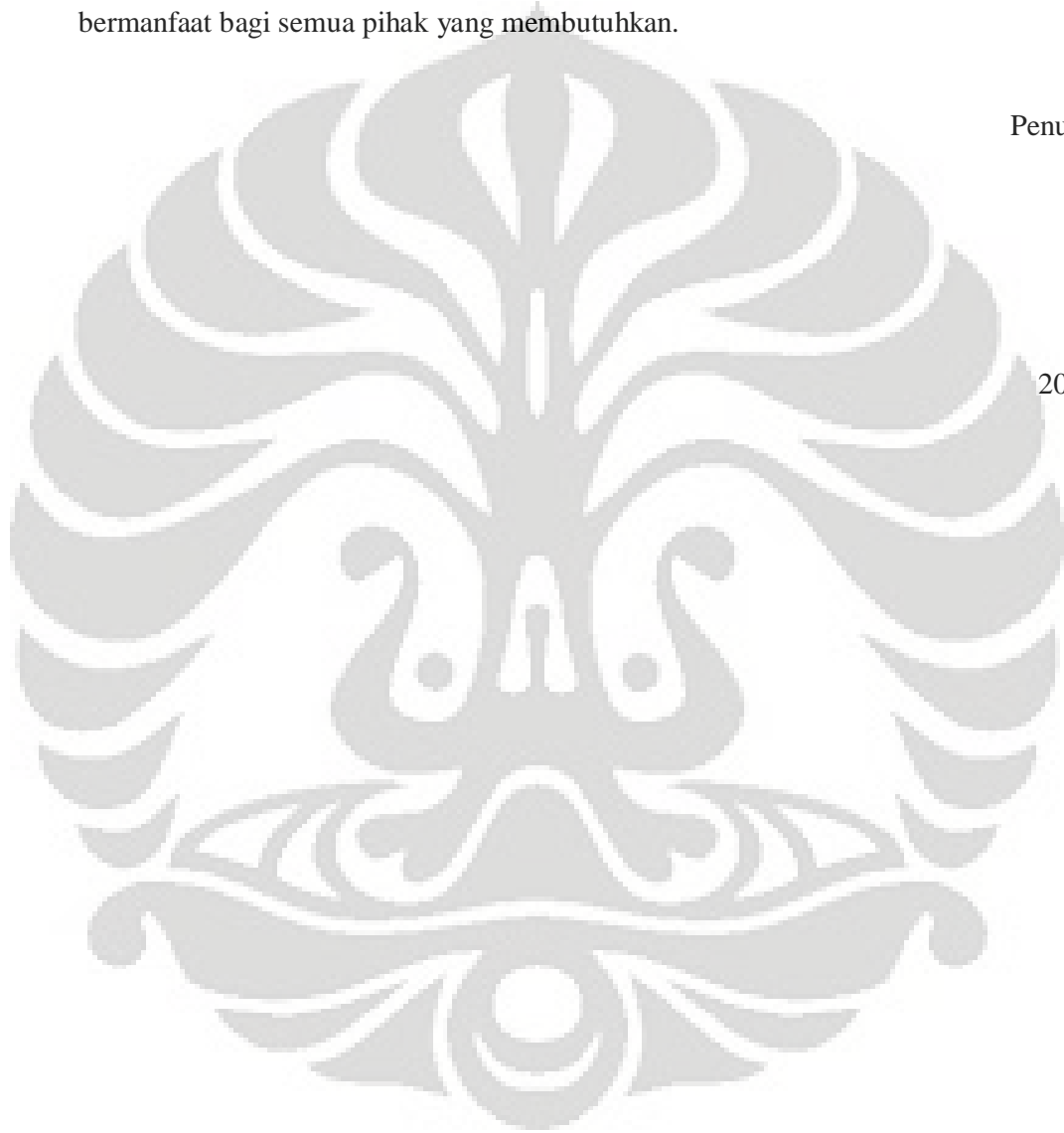
1. Ibu Prof. Dr. Yahdiana Harahap, MS, selaku Ketua Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.
2. Bapak Dr. Arry Yanuar, M.Si selaku pembimbing I yang telah memberikan banyak sekali bimbingan, bantuan, masukan kepada penulis selama masa penelitian sampai selesai masa sidang. Jutaan rasa terima kasih penulis haturkan kepada Bapak .
3. Bapak Dr. Abdul Mun'im, M.S selaku pembimbing II yang telah memberikan banyak sekali bimbingan, bantuan, serta masukan kepada penulis selama masa penelitian sampai selesai masa sidang. Jutaan rasa terima kasih penulis haturkan kepada Bapak.
4. Ibu Dr. Nelly Devita Leswara, M.S selaku Pembimbing Akademis yang telah membimbing penulis dari awal perkuliahan hingga penelitian ini.
5. Seluruh staf pengajar dan karyawan Departemen Farmasi FMIPA UI.
6. Seluruh keluarga yang selalu memberikan doa, kasih sayang, motivasi, nasehat, dan dukungan materi
7. Sahabat-sahabatku, Nori, Siska, Opung, Ima, Engga, Linda, Made, Devy, Anita, Ratna, Tika, Belli, Gaby, In, Ci ida, Ci sugi, dan Ci achi yang selalu setia mendengarkan keluh kesahku dan selalu memberikan semangat, dukungan dan doa selama masa penelitian.
8. Farida, Akma Bertha, dan Rezi Riadhi yang telah membantu penulis selama masa penelitian
9. Seluruh teman-teman Farmasi UI yang telah membantu penulis dalam berbagai terutama selama masa perkuliahan dan penelitian

10. Seluruh pihak yang telah memberi dukungan yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu. Terima kasih banyak.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun sebagai proses penyempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak yang membutuhkan.

Penulis

2010



**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI  
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

---

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

Nama : Amelia  
NPM : 0806364416  
Program Studi : Farmasi  
Departemen : Farmasi  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Jenis karya : Skripsi

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

Penapisan *in silico* Beberapa Senyawa Bahan Alam terhadap Aktivitas Protease HIV-1

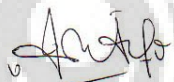
berserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta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

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok

Pada tanggal : Desember 2010

Yang menyatakan

  
(Amelia)

## ABSTRAK

Nama : Amelia  
Program Studi : Farmasi  
Judul : Penapisan *in silico* Beberapa Senyawa Bahan terhadap Aktivitas  
Protease HIV-1

Salah satu peran industri farmasi adalah untuk mengembangkan agen terapeutik yang dapat mencegah, mengurangi, atau menyembuhkan penyakit. Kunci untuk mencapai peran ini adalah melalui penemuan dari senyawa-senyawa baru dapat diandalkan untuk menjadi agen terapeutik yang baru. Metode yang saat ini sedang marak dikembangkan adalah pencarian obat dengan menggunakan *in silico screening* atau dikenal pula dengan nama *virtual screening*. Salah satu penyakit endemik yang muncul pada abad 20-an adalah AIDS (*Acquired Immunodeficiency Syndrome*) yang disebabkan oleh *Human Immunodeficiency Virus* tipe 1 (HIV-1). Virus ini cepat bermutasi sehingga menyebabkan belum adanya obat yang dapat menyembuhkan penyakit ini secara total. Salah satu target enzim yang dapat diinhibisi untuk menghambat replikasi virus adalah protease HIV-1. Pada penelitian kali ini dilakukan *virtual screening* dengan menggunakan perangkat lunak GOLD untuk mencari kandidat obat inhibitor Protease HIV-1 dengan menggunakan *database* Tanaman Obat di Indonesia. *Virtual screening* yang dilakukan adalah *structure based virtual screening*. Berdasarkan hasil dari *virtual screening* ini diperoleh 10 kandidat senyawa obat yang diharapkan dapat menjadi obat protease inhibitor. Senyawa tersebut antara lain Quercetin 7,4'-diglucoside, 4-Methylpentyl glucosinolate, Quercetin 3-rutinoside, Glucoraphenin, Glucobrassicin, Luteolin 3'-methylether7-manosyl-(1-2)alloside, Apigenin-7-O(6"-O-p-coumaroylglucoside), Cyanidin 7(3-glucosil-6-malonylglucoside)4'-glucoside, Sinalbin dan 4-Methylsulfinyl butyl glucosinolate dengan kisaran GoldScore dari 86.2803 sampai 95.6252.

Kata kunci:

*Virtual screening, in silico screening, structure based screening, inhibitor protease HIV-1, GOLD.*

xvi+82 halaman ; 36 gambar; 13 tabel; 7 lampiran

Bibliografi : 57 (1992-2010)



## ABSTRACT

Name : Amelia  
Major : Pharmacy  
Title : In Silico Screening of Some Natural Substances towards the  
Activity of HIV-1 Protease

One role of the pharmaceutical industry is to develop therapeutic agents that can prevent, reduce or cure disease. The key to achieve this role is through the discovery of new compounds that can be counted to be a new therapeutic agent. Recent method being developed is searching a new drug using *in silico* screening, or also known as virtual screening. One of the endemic disease emerged in the 20<sup>th</sup> century is AIDS (Acquired Immunodeficiency Syndrome) caused by Human Immunodeficiency Virus type 1 (HIV-1). This virus mutates rapidly causing no drug that can cure this disease completely. One of enzyme target that can be inhibited to block the replication of this virus is HIV-1 protease. Inhibition to the enzyme cause the blocking of protein cleavage in virus maturation process. In this research, virtual screening was performed using GOLD software to find drug candidates as HIV-1 protease inhibitor using the database Tanaman Obat di Indonesia (database of Medicinal Plants in Indonesia). The virtual screening performed was a structure based virtual screening. Based on the results obtained from the virtual screening there were 10 drug candidates which expected to be a protease inhibitor. These compounds were Quercetin 7,4'-diglucoside, 4-Methylpentyl glucosinolate, Quercetin 3-rutinoside, Glucoraphenin, Glucobrassicin, Luteolin 3'-methylether7-manosyl-(1-2)alloside, Apigenin-7-O(6"-O-p-coumaroylglucoside), Cyanidin 7(3-glucosil-6-malonylglucoside)4'-glucoside, Sinalbin dan 4-Methylsulfinyl butyl glucosinolate with GoldScore ranged from 86.2803 to 95.6252.

### Keywords:

*Virtual screening, in silico screening, structure based screening*, Protease HIV-1 inhibitor, GOLD.

xvi+82 pages ; 36 figures; 13 tables; 7 appendixes

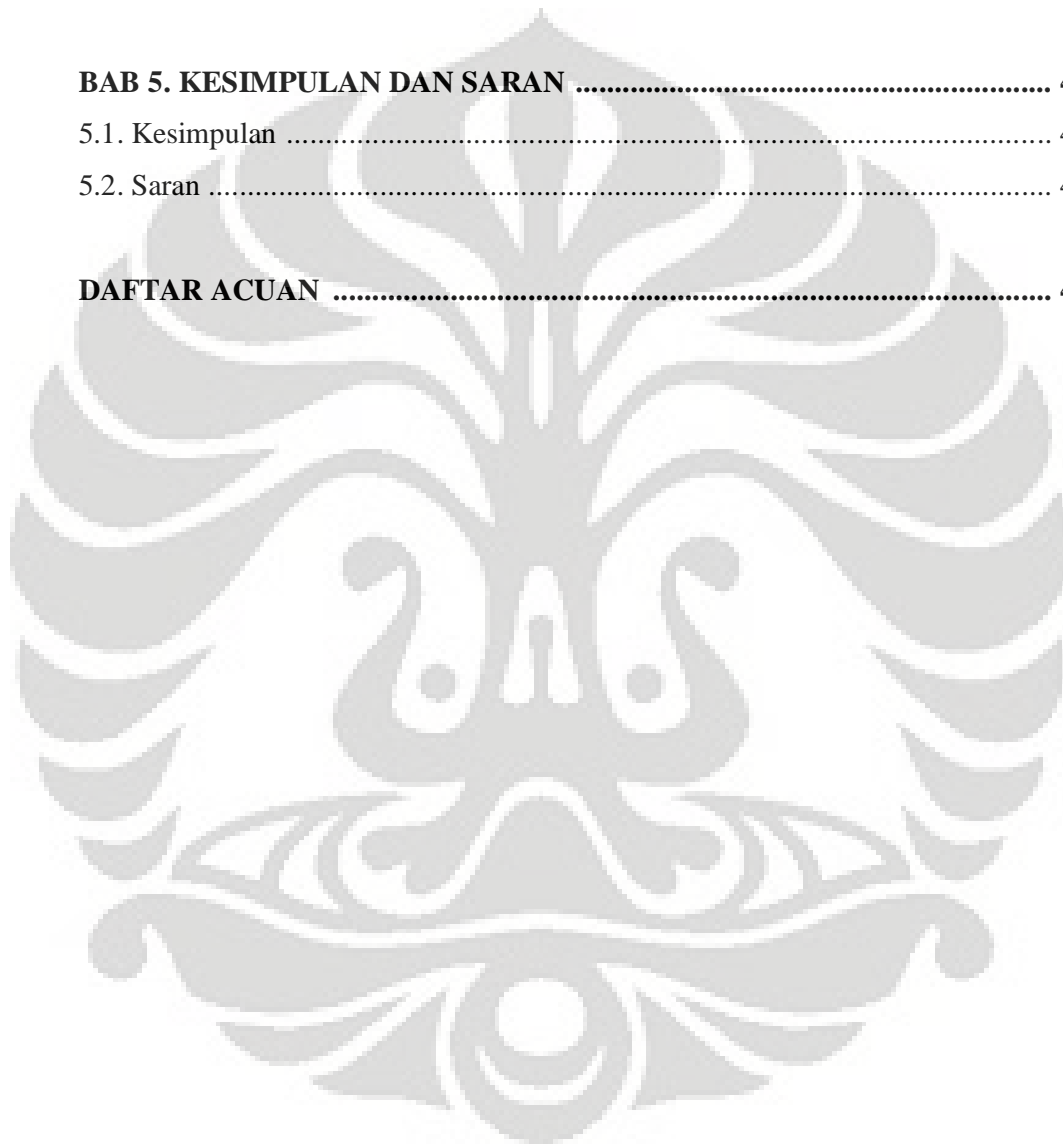
Bibliography : 57 (1992-2010)

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	<b>i</b>
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS</b> .....	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>iv</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>v</b>
<b>LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH</b> .....	<b>vii</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>viii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>ix</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>x</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xvi</b>
<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Tujuan Penelitian .....	3
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>4</b>
2.1 HIV tipe 1 .....	4
2.2 Protease HIV-1 .....	6
2.3 Inhibitor Protease HIV-1 .....	10
2.4 Bioinformatika .....	13
2.5 Penambatan Molekuler .....	14
2.6 <i>Virtual Screening</i> .....	14
2.7 <i>Database</i> Tanaman Obat di Indonesia .....	16
2.8 GOLD .....	17
2.9 Kriteria dan Parameter Penambatan .....	17
2.10 Open Babel .....	17
2.11 PyMOL .....	18
2.12 USCF Chimera .....	18
2.13 Vega ZZ .....	18

<b>BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN .....</b>	<b>20</b>
3.1. Tempat dan Waktu .....	20
3.2. Alat .....	20
3.2.1. Perangkat Keras .....	20
3.2.2. Perangkat Lunak .....	20
3.3. Bahan .....	20
3.3.1. Struktur Tiga Dimensi protease HIV-1 (makromolekul) .....	20
3.3.2. <i>Database</i> Tanaman Obat di Indonesia .....	21
3.3.3. Kontrol Positif dan Negatif dari protease HIV inhibitor.....	21
3.4. Cara Kerja .....	21
3.4.1. Penyiapan Struktur Protein .....	21
3.4.1.1. Pengunduhan Makromolekul protease HIV-1 .....	21
3.4.1.2. Pemisahan Rantai Makromolekul protease HIV-1 untuk target penambatan .....	21
3.4.1.3. Optimasi Makromolekul protease HIV-1 .....	21
3.4.2. Validasi Metode <i>Virtual Screening</i> .....	22
3.4.3. Penyiapan Struktur Ligan .....	23
3.4.4. Penambatan Molekuler <i>Database</i> Tanaman Obat di Indonesia pada protease HIV-1 .....	23
3.4.5. Kandidat Senyawa Obat .....	23
3.4.6. Analisis dan Visualisasi Interaksi Protein-Ligan .....	24
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>25</b>
4.1. Penyiapan Struktur Protein .....	25
4.1.1. Pengunduhan Makromolekul protease HIV-1 .....	25
4.1.2. Pemisahan Rantai Makromolekul Protease HIV-1 untuk target penambatan.....	25
4.1.3. Optimasi Makromolekul protease HIV-1 .....	26
4.2. Validasi Metode <i>Virtual Screening</i> .....	27
4.2.1. Pengunduhan Kontrol Positif dari Inhibitor protease HIV-1 .....	27
4.2.2. Pengunduhan Kontrol Negatif dari Inhibitor protease HIV-1 .....	28
4.2.3. Konversi file kontrol positif dan negatif dari Inhibitor protease HIV-1	29

4.2.4. Penambatan Molekuler Menggunakan GOLD .....	29
4.3. Penyiapan Struktur Ligan .....	32
4.4. Penambatan Molekuler <i>Database</i> Tanaman Obat di Indonesia pada protease HIV-1.....	33
4.5. Kandidat Senyawa Obat .....	34
4.6. Analisis dan Visualisasi Interaksi Protein-Ligan .....	36
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>42</b>
5.1. Kesimpulan .....	42
5.2. Saran .....	42
<b>DAFTAR ACUAN .....</b>	<b>43</b>



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Struktur virus HIV-1 .....	4
2.2 Sembilan protein penyusun genom HIV-1 .....	5
2.3 Siklus hidup HIV ( <i>Human Immunodeficiency Virus</i> ) .....	6
2.4 Target pemotongan gag dan gag-pol oleh protease HIV-1 .....	7
2.5 Struktur molekuler protease HIV-1.....	8
2.6 Residu asam amino pada sisi aktif protease HIV-1 .....	9
2.7 Mekanisme pemotongan substrat protease HIV-1 .....	9
2.8 Mekanisme inhibitor protease HIV-1.....	10
2.9 Tempat kerja inhibitor protease HIV-1 dengan struktur non peptida .....	12
2.10 Skema proses penemuan obat .....	15
2.11 Dua puluh jenis asam amino penyusun protein .....	48
3.1 Struktur tiga dimensi makromolekul protease HIV-1 1D4H .....	21
4.1 Struktur tiga dimensi makromolekul 1D4H sebelum optimasi (hijau) dan setelah optimasi (biru) .....	27
4.2 Struktur tiga dimensi kontrol positif inhibitor protease HIV-1 .....	28
4.3 Situs Aktif Protease HIV 1 berikatan dengan Kontrol Positif .....	30
4.4 Konformasi Ikatan Kontrol Positif dengan 1D4H .....	31
4.5 Konformasi kontrol positif terhadap protease HIV-1 .....	49
4.6 Konformasi kontrol positif terhadap protease HIV-1 .....	50
4.7 Salah satu Gambaran dari kontrol negatif yaitu Zalcitabine yang tidak memiliki ikatan hidrogen dengan protease HIV-1 .....	32
4.8 Rumus struktur dari kandidat obat hasil <i>virtual screening</i> .....	51
4.9 Rumus struktur dari kandidat obat hasil <i>virtual screening</i> .....	52
4.10 Rumus struktur dari kandidat obat hasil <i>virtual screening</i> .....	53
4.11 Interaksi Quercetin 7,4'-diglucoside ( <i>sticks</i> ) dengan beberapa residu asam amino ( <i>lines</i> ) pada protease HIV-1 .....	37
4.12 Konformasi Quercetin 7,4'-diglucoside pada solusi penambatan .....	54
4.13 Konformasi Quercetin 7,4'-diglucoside pada solusi penambatan .....	55
4.14 Konformasi Quercetin 7,4'-diglucoside pada solusi penambatan .....	56

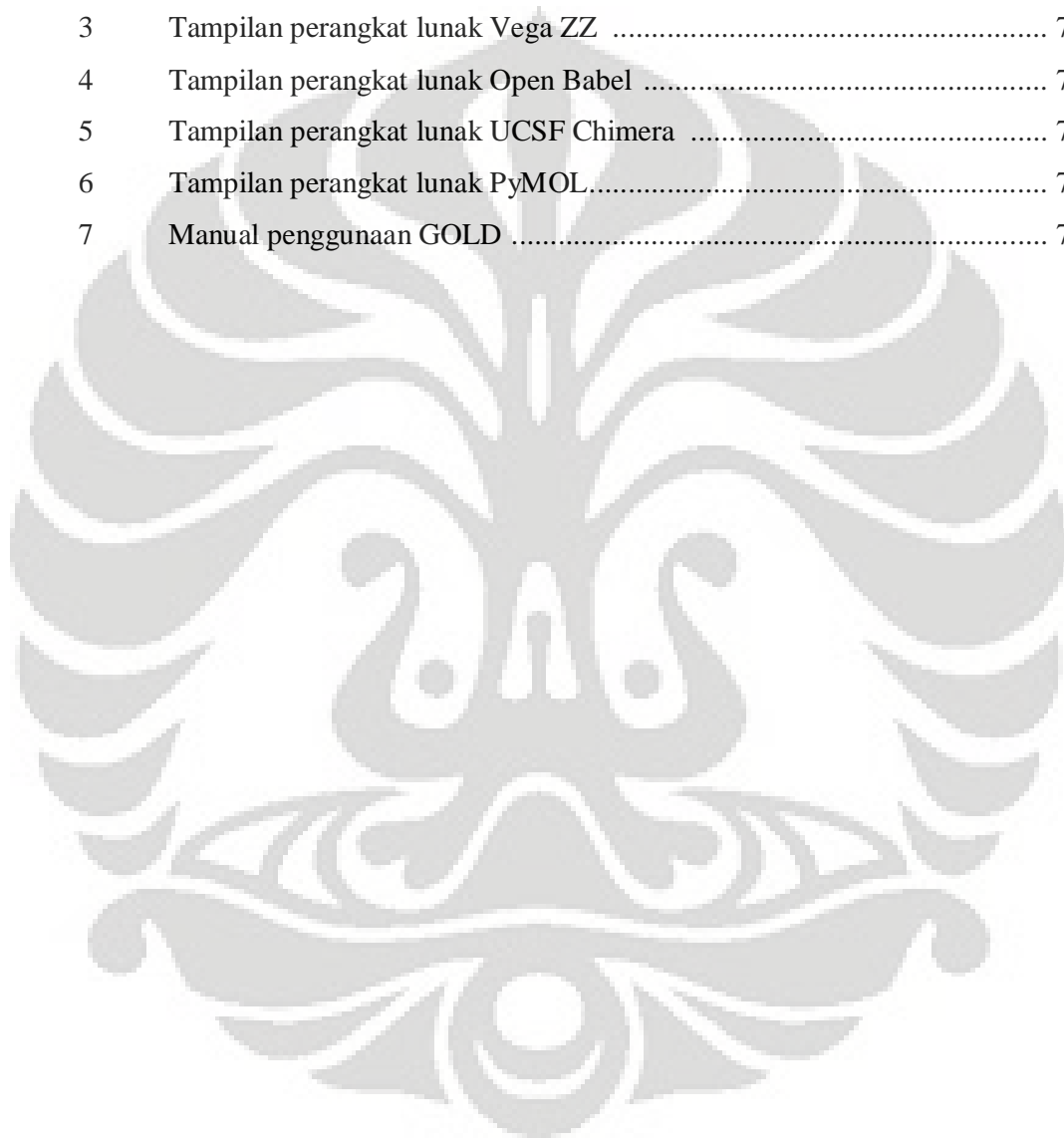
4.15	Konformasi Quercetin 7,4'-diglucoside pada solusi penambatan .....	57
4.16	Ikatan hidrogen yang terjadi antara Quercetin 7,4'-diglucoside ( <i>sticks</i> ) dengan beberapa residu asam amino ( <i>lines</i> ) pada protease HIV-1 .....	38
4.17	Perbandingan hasil penambatan Quercetin 7,4'-diglucoside (jingga) dengan Nelfinavir (kuning).....	39
4.18	Interaksi 4-Methylpentyl glucosinolate ( <i>sticks</i> ) dengan beberapa residu asam amino ( <i>lines</i> ) pada protease HIV-1 .....	39
4.19	Konformasi 4-Methylpentyl glucosinolate pada solusi penambatan .....	58
4.20	Konformasi 4-Methylpentyl glucosinolate pada solusi penambatan .....	59
4.21	Konformasi 4-Methylpentyl glucosinolate pada solusi penambatan .....	60
4.22	Konformasi 4-Methylpentyl glucosinolate pada solusi penambatan .....	61
4.23	Ikatan hidrogen yang terjadi antara 4-Methylpentyl glucosinolate ( <i>sticks</i> ) dengan beberapa residu asam amino ( <i>lines</i> ) pada protease HIV-1 .....	40
4.24	Perbandingan hasil penambatan 4-Methylpentyl glucosinolate (biru) terhadap Nelfinavir (kuning).....	41

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1 Struktur protease HIV-1 yang diunduh dari <i>Protein Data Bank</i> .....	25
4.2 Hasil penambatan molekuler pada kontrol positif inhibitor protease HIV-1 .....	29
4.3 Hasil penambatan molekuler pada kontrol negatif inhibitor protease HIV-1 .....	31
4.4 Hasil <i>Virtual Screening Database</i> 1-2 dengan menggunakan <i>Database</i> Tanaman Obat di Indonesia .....	62
4.5 Hasil <i>Virtual Screening Database</i> 3-4 dengan menggunakan <i>Database</i> Tanaman Obat di Indonesia .....	63
4.6 Hasil <i>Virtual Screening Database</i> 5-6 dengan menggunakan <i>Database</i> Tanaman Obat di Indonesia .....	64
4.7 Hasil <i>Virtual Screening Database</i> 7-8 dengan menggunakan <i>Database</i> Tanaman Obat di Indonesia .....	65
4.8 Hasil <i>Virtual Screening Database</i> 9-10 dengan menggunakan <i>Database</i> Tanaman Obat di Indonesia .....	66
4.9 Hasil <i>virtual screening</i> terhadap target protease HIV-1 .....	34
4.10 Kandidat obat berdasarkan hasil <i>virtual screening</i> .....	67
4.11 Kandidat obat hasil <i>virtual screening</i> beserta famili dan spesies tanaman asal .....	68
4.12 Ikatan hidrogen yang terjadi pada target penambatan 1D4H dengan ligan Quercetin 7,4'-diglucoside .....	69
4.13 Ikatan hidrogen yang terjadi pada target penambatan 1D4H dengan ligan 4-Methylpentyl glucosinolate .....	71

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1 Skema Kerja .....	73
2 Tampilan Situs <i>Protein Data Bank</i> .....	74
3 Tampilan perangkat lunak Vega ZZ .....	75
4 Tampilan perangkat lunak Open Babel .....	76
5 Tampilan perangkat lunak UCSF Chimera .....	77
6 Tampilan perangkat lunak PyMOL.....	78
7 Manual penggunaan GOLD .....	79





# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Salah satu peran industri farmasi dalam komunitas kesehatan adalah untuk mengembangkan agen terapeutik yang dapat mencegah, mengurangi, atau menyembuhkan penyakit. Kunci untuk mencapai peran ini adalah melalui penemuan dari senyawa-senyawa baru dapat diandalkan untuk menjadi agen terapeutik yang baru (Sweetnam, *et al.*, 1995).

Berdasarkan sejarah, penemuan obat baru diperoleh melalui sistem *screening* secara farmakologi menggunakan hewan coba, namun dengan banyaknya senyawa yang bisa mencapai ratusan bahkan ribuan, sangat tidak efisien apabila senyawa-senyawa tersebut diujikan satu per satu melalui *screening* secara farmakologi. Selain itu, dilihat dari segi biaya tentunya akan membutuhkan biaya yang cukup besar serta waktu yang cukup lama (Sweetnam, *et al.*, 1995).

Oleh karena itu dengan adanya teknologi informasi, dikembangkanlah metode *screening* untuk mencari calon obat dengan menggunakan komputer. Dengan adanya teknologi informasi ini proses *screening* dilakukan dengan metode *in silico* (simulasi komputer).

Metode *screening* dengan menggunakan sistem komputer dikenal dengan nama *in silico* atau *virtual screening*. *Virtual screening* menggunakan sistem komputer dengan performa yang tinggi untuk menganalisa *database* dari senyawa kimia untuk mengidentifikasi kandidat senyawa obat. Kandidat senyawa obat yang diperoleh dari *virtual screening* inilah yang akan dilakukan *screening* secara eksperimental (Holtje, *et al.*, 2008).

Pada penelitian kali ini akan dilakukan *virtual screening* untuk mencari kandidat obat HIV-AIDS dengan menggunakan *database* Tanaman Obat di Indonesia. AIDS (*Acquired Immunodeficiency Syndrome*) merupakan penyakit epidemik yang muncul pada abad 20-an. Setelah diteliti, penyakit ini disebabkan oleh *Human Immunodeficiency Virus* tipe 1 (HIV-1), yang merupakan anggota dari famili retrovirus. Pada awal kemunculan penyakit ini di awal tahun 1980-an, tidak ada obat yang tersedia yang berguna bagi pengobatan AIDS yang mengharuskan

penciptaan obat baru. Enzim-enzim retrovirus seperti *reverse transcriptase*, integrase, dan protease adalah target nyata dalam pencarian obat anti-HIV-1 (Wlodawer & Vondrasek, 1998).

HIV-1 sendiri merupakan virus “peniru yang buruk” yang berarti virus ini membuat kesalahan setiap kali bereplikasi. Hal inilah yang menyebabkan virus ini diestimasi menghasilkan satu milyar mutan dalam setiap individu penderita per harinya sehingga dapat disimpulkan bahwa virus ini adalah target yang bergerak cepat. Oleh karena itu, berbagai penelitian mengenai inhibitor HIV-1 sangat penting bagi perkembangan pengobatan AIDS (Fight AIDS @ Home: The AIDS Crisis, 2005).

Obat AIDS pertama yang ditemukan adalah inhibitor *reverse transcriptase* (Wlodawer & Vondrasek, 1998). Kemudian pada tahun 1995 inhibitor protease HIV-1 diperkenalkan karena tingkat mutasi yang tinggi dari *reverse transcriptase*. Penggunaan inhibitor protease bersama dengan inhibitor *reverse transcriptase* menghasilkan kombinasi HAART (*Highly Active Antiretroviral Therapy*) yang terbukti cukup efektif dalam menurunkan *viral load* secara drastis (Tjay & Rahardja, 2007).

Protease HIV-1 yang termasuk dalam protease aspartat, berperan dalam proses pemotongan protein pada saat pematangan virus. Enzim ini bekerja dengan memotong protein rantai panjang pada sisi *gag* dan *gag-pol* (Adamson, Salzwedel, & Freed, 2009). Inhibitor protease HIV-1 menghambat proses tersebut sehingga menyebabkan virion-virion baru tidak terbentuk (Wood, 1998).

Protease HIV-1 dipilih sebagai target ideal untuk *virtual screening* dikarenakan sudah banyaknya informasi struktural dari protease HIV-1 (terdapat lebih dari 200 struktur kristal dari protease HIV dalam PDB), sehingga protein ini sudah dipelajari dengan cukup baik. Selain itu, protease HIV ini merupakan fokus utama untuk *structure based drug design*. (Torbet, *et al.*, 2010).

Pencarian inhibitor protease HIV-1 secara *virtual screening* dipilih karena mempunyai keuntungan tersendiri dibanding metode lain. Satu diantaranya adalah waktu penelitian yang lebih sedikit sehingga dapat mempercepat proses penemuan obat serta biaya yang relatif lebih murah (Huang & Zou, 2007).

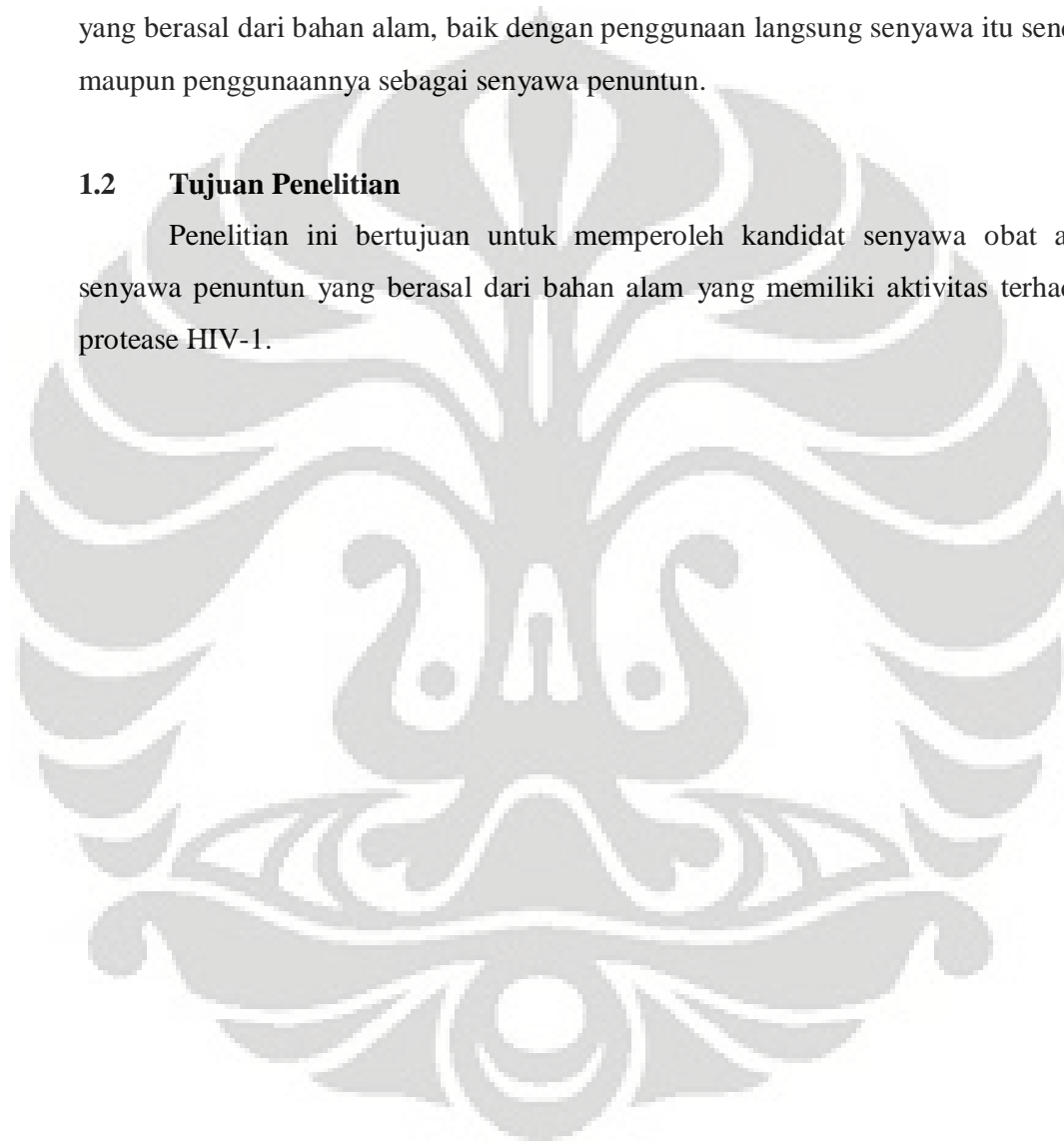
*Virtual screening* yang dilakukan pada penelitian ini adalah *structure based virtual screening*. *Structure based virtual screening* ini dipilih karena struktur tiga

dimensi dari protein target, yaitu Protease HIV-1 tersedia (diunduh dari bank data protein). Dengan metode ini maka akan dilakukan penambatan molekuler untuk melakukan *screening* berdasarkan reseptor (Hou & Xu, 2004). Ligan-ligan yang berasal dari *database* Tanaman Obat Indonesia ditambatkan pada protease HIV-1 dengan menggunakan perangkat lunak GOLD.

Penelitian ini diharapkan dapat memperoleh kandidat obat inhibitor protease yang berasal dari bahan alam, baik dengan penggunaan langsung senyawa itu sendiri maupun penggunaannya sebagai senyawa penuntun.

## 1.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh kandidat senyawa obat atau senyawa penuntun yang berasal dari bahan alam yang memiliki aktivitas terhadap protease HIV-1.

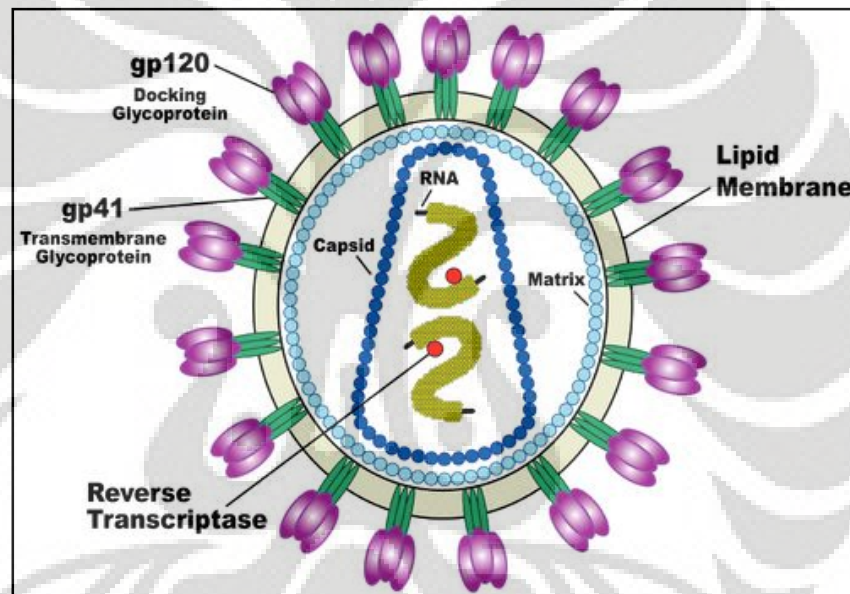


## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 HIV tipe 1

HIV (*Human Immunodeficiency Virus*) tipe 1 adalah anggota dari genus lentivirus sitopatik bagian dari famili retrovirus, yang menjadi penyebab utama AIDS (*Acquired Immunodeficiency Syndrome*) di dunia. AIDS pertama kali muncul pada tahun 1981 pada seorang pria homoseksual di California. AIDS merupakan kumpulan kondisi klinis tertentu yang merupakan hasil akhir dari infeksi HIV (Price & Wilson, 2006).

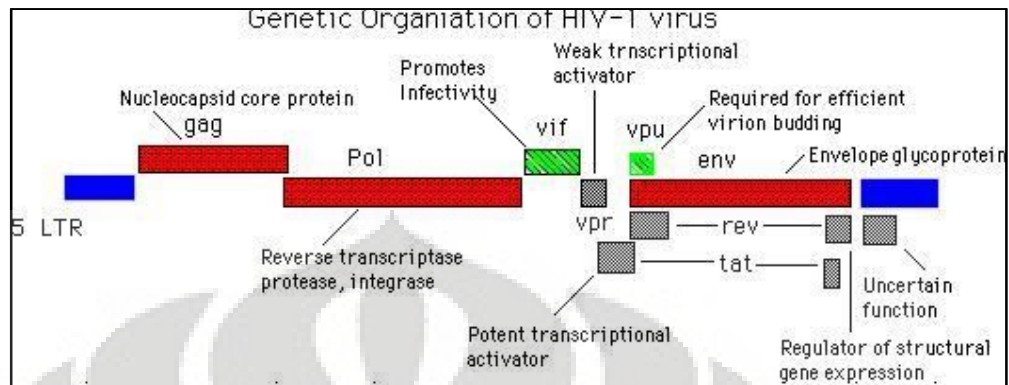


[Sumber: HIV Fact]

Gambar 2.1. Struktur virus HIV-1

Genom HIV-1 mengkode sembilan protein yang essential untuk setiap aspek siklus hidup virus. Semua retrovirus mengandung protein gag (kode untuk struktur internal protein dan kapsid), pol (kode untuk 3 enzim yang penting untuk replikasi), env (kode untuk protein permukaan gp 120 dan gp 41 yang memperantarai pengikatan dengan CD4+). Protein lain yang terdapat dalam HIV adalah tat (transaktivator protein), rev (regulator ekspresi gen struktural), vif (meningkatkan infektivitas virus), nef (fungsinya belum jelas, tampaknya diperlukan untuk

pathogenesis in vivo), vpr (virus protein R), dan vpu (virus protein U) (*hiv fact*, 2001).



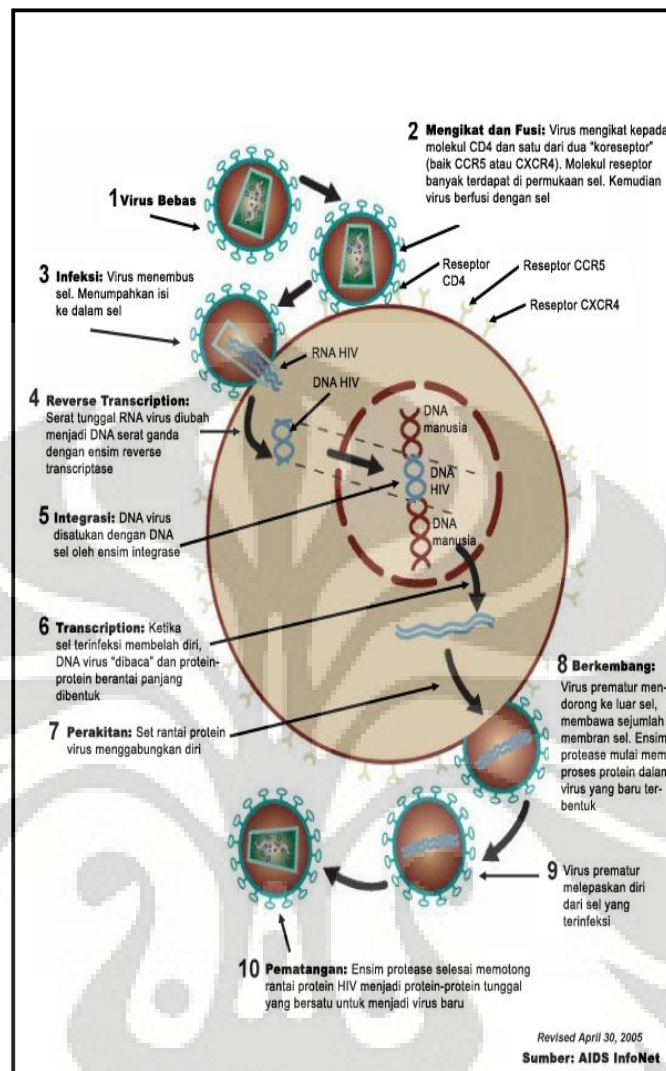
[Sumber: HIV Fact]

Gambar 2.2 Sembilan protein penyusun genom HIV-1

HIV bersifat politrofik, dan dapat menginfeksi beragam sel manusia diantaranya sel limfosit T, monosit, natural killer, sel epitel, sel endotel, makrofag dan berbagai jaringan tubuh dari manusia (Price & Wilson, 2006). Virus tersebut masuk ke sel inang melalui ikatan yang dibentuk oleh selubung glikoprotein gp 120 yang dimilikinya dengan reseptor CD4. Tahap ini kemudian memungkinkan interaksi gp 120 dengan koreseptor CCR5 atau CXCR4 dan merubah konformasinya. Setelah perubahan konformasi ini, peleburan antara virus dan sel inang pun terjadi untuk kemudian virus melepas intinya ke dalam sel inang (Danielson & Hope, 2009).

Setelah inti dikeluarkan dari selubung, terjadi proses transkripsi dari RNA ke DNA oleh *reverse transcriptase*. Selanjutnya, DNA diinkorporasikan ke dalam DNA inang dengan bantuan integrase. Di dalam DNA inang, DNA virus ikut bereplikasi kemudian terjadi translasi dan terbentuk protein-protein panjang. Tahap berikutnya, protein menuju keluar sel inang untuk kemudian mendapatkan selubung. Kemudian terjadi proses pertunasan dimana terbentuk virion-virion baru. Protein panjang yang terdapat di dalam virion tersebut kemudian dipotong oleh bantuan enzim pemotong yakni protease. Setelah pemotongan tersebut, barulah virus menjadi matang untuk kemudian menginfeksi sel-sel lain (Tjay & Raharja, 2007)





[Sumber AIDS InfoNet]

Gambar 2.3 Siklus hidup HIV (*Human Immunodeficiency Virus*)

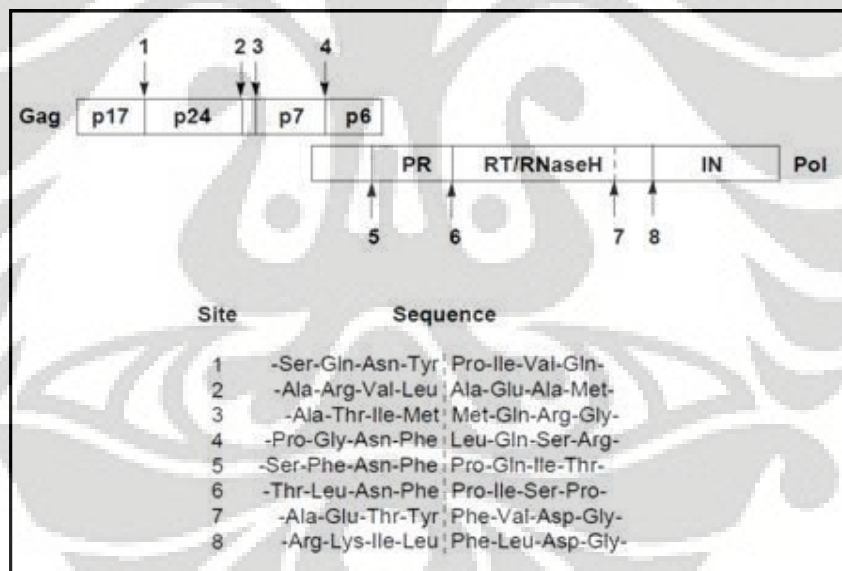
## 2.2 Protease HIV-1

Protease HIV-1 adalah salah satu enzim yang terdapat dalam virus HIV-1 yang berfungsi untuk memotong protein rantai panjang pada proses pematangan virus. Enzim ini merupakan homodimer, terdiri dari dua rantai poliprotein identik terhubung secara nonkovalen yang terdiri dari 99 asam amino (Patick & Potts, 1998; Tiana, *et al.*, 2005).

Sebelum protease dapat memotong poliprotein dari virus HIV ini, *flap* dari protease harus terbuka, sehingga poliprotein dapat memasuki sisi aktif dari enzim, dan selanjutnya *flap* pun harus tertutup agar pemecahan protein dapat terjadi. (Scott & Schiffer, 2000). Sisi aktif dari enzim ini terletak diantara dimer yang mengandung

residu katalitik aspartat di mana masing-masing residu mengandung subunit-subunit untuk membentuk dua motif Asp25-Thr26-Gly27 (Ashraf & Wong, 2003). Segitiga sisi aktif ini terletak dalam suatu putaran yang strukturnya distabilkan dengan suatu jaringan ikatan hidrogen (Wlodawer & Vondrasek, 1998). Sisi aktif enzim ini mengandung sisi-sisi dimana inhibitor dapat terikat dengan erat (Patick & Potts, 1998).

Enzim ini memotong rantai protein panjang pada sisi *gag* dan *gag-pol* yang memang harus dipotong agar virus menjadi matang. Pemotongan dari poliprotein menghasilkan tiga protein besar (p24, p17, dan p7) yang berkontribusi dalam struktur virion dan pembungkusan RNA, sementara tiga protein yang lebih kecil (p6, p2, dan p1) fungsinya masih belum pasti. Meskipun mamalia mempunyai protease aspartil, tidak ada yang dapat memotong poliprotein *gag*. Dua dari sisi pemotongan oleh HIV-1 protease adalah ikatan fenilalanin-prolin atau tirosin-prolin, yang merupakan sisi yang tidak terdapat pada target protease mamalia (Wood, 1998).

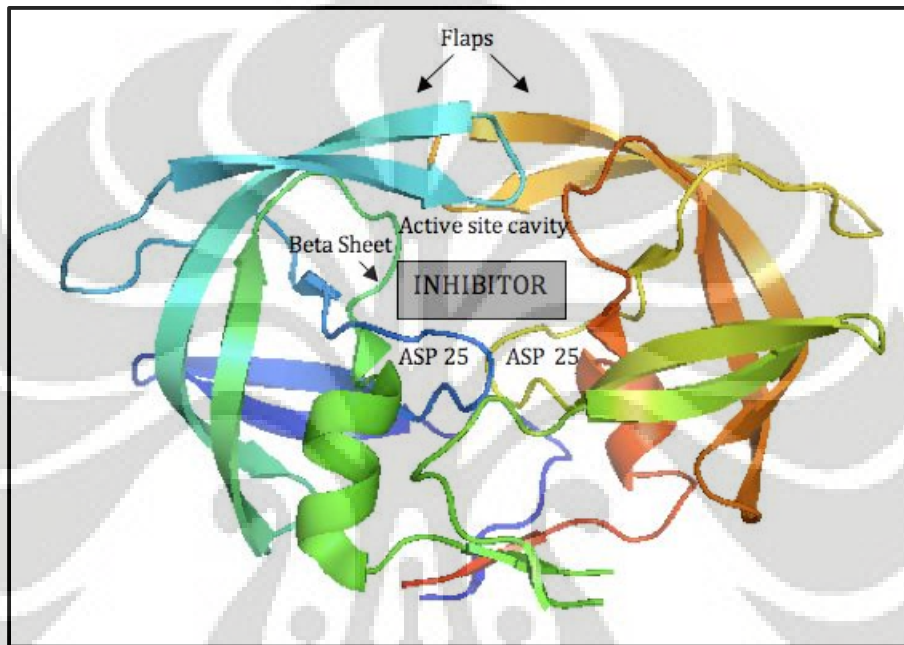


[Sumber: Alterman, 2001]

Gambar 2.4 Target pemotongan *gag* dan *gag-pol* oleh protease HIV-1

Protease HIV-1 sendiri adalah hasil pengkodean dari gen *pol*. Enzim ini adalah anggota dari famili protease asam aspartat seperti enzim pepsin. Beberapa tahun terakhir ini banyak dilakukan studi tentang kristalografi yang bertujuan untuk mengkarakterisasi struktur Protease HIV-1 serta kompleks Protease HIV inhibitor

dalam level atom. Terobosan baru pembuatan desain struktural HIV protease terjadi pada awal tahun 1989. Protease HIV dimodelkan menggunakan cetakan protease aspartat pada eukariot yang sebelumnya telah diketahui. Model tersebut juga dibuat dalam versi struktur 3-dimensi (3D) (Wlodawer & Vondrasek, 1998). Dalam studi yang dilakukan oleh beberapa laboratorium diperoleh hasil bahwa molekul enzim tersebut adalah homodimer dan sisi aktifnya menyerupai sisi aktif pada protease yang mirip pepsin (Ashraf & Wong, 2003).

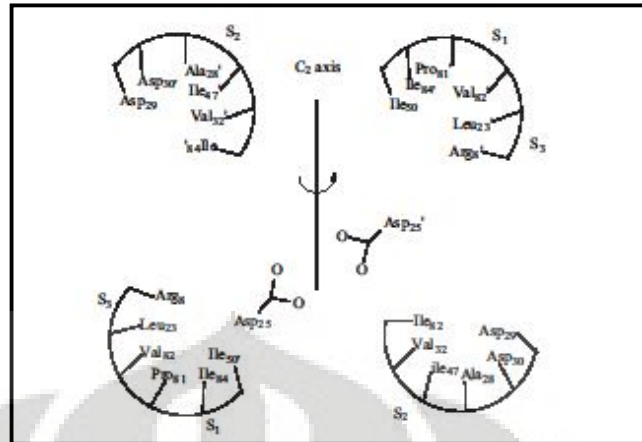


[Sumber: Sriphanlop, 2009]

Gambar 2.5 Struktur molekul protease HIV-1

Pada sisi-sisi pengikatan dengan substrat, protease HIV-1 mempunyai kantung-kantung yang dinamai sebagai S1, S2, S3 serta S1', S2', dan S3' yang masing-masing pasang mempunyai residu sama. Pada sisi S1 mengandung residu Val 82, Ile 50, Leu 23, dan Pro 81 berhadapan dengan S1, S1' mengandung residu Val 182, Ile 150, Leu 123, dan Pro 181. S2 mengandung residu Ala 28, Asp 29, Asp 30 Ile 47, Thr31, Leu76, dan Val 32 dan S2' mengandung Ala 128, Asp 129, Asp 130, Ile 147, Thr 131, Leu 176, dan Val 132. Sedangkan S3 dan S3' masing-masing mengandung Trp 6, Gln 7, Arg 8, Pro 9 dan Trp 106, Gln 107, Arg 108, Pro 109. Sisi S1, S1' dan S2, S2' adalah sisi yang hidrofobik kecuali Asp 29, Asp 30, Asp 129, dan Asp130 (Ashraf & Wong, 2003; Pechik, *et al.*, 1989).

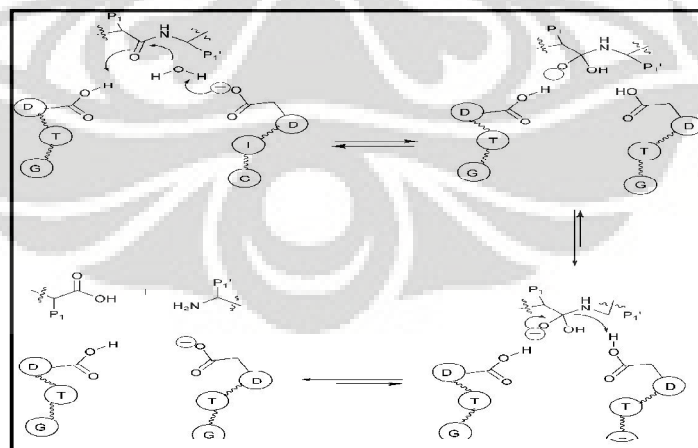




[Sumber: Kurup, *et al.*, 2003]

Gambar 2.6 Residu asam amino pada sisi aktif protease HIV-1

Mekanisme pemotongan substrat pada protease HIV-1 merupakan mekanisme asam-basa pada umumnya. Seperti pada Gambar 2.7, kedua sisi aktif memiliki peran penting dalam mengaktivasi molekul air. Residu Asp terdekat memiliki muatan negatif menyebabkan molekul air teraktivasi. Aktivasi ini bertujuan untuk membuat molekul air bertindak sebagai nukleofilik sehingga menyerang karbon gugus karbonil pada ikatan yang akan dipotong. Penyerangan ini menghasilkan suatu senyawa intermediet tetrahedral oksianion. Selanjutnya terjadi protonasi atom N amida yang mengakibatkan *rearrangement*. Proses ini kemudian menghasilkan produk yang telah mengalami hidrolisis dan substrat berhasil dipotong (Ashraf & Wong, 2003).



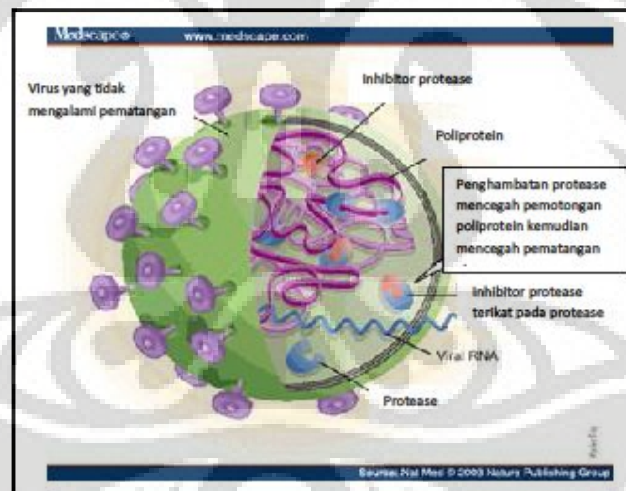
[Sumber: Asraf & Wong, 2002]

Gambar 2.7 Mekanisme pemotongan substrat protease HIV-1

Beberapa tahun terakhir ini, banyak dilakukan studi tentang kristalografi yang bertujuan untuk mengkarakterisasi struktur protease HIV-1 serta kompleks protease HIV/inhibitor dalam level atom. Terobosan baru pembuatan desain struktural protease HIV terjadi pada awal tahun 1989. Protease HIV-1 dimodelkan menggunakan cetakan protease aspartat pada eukariot yang sebelumnya telah diketahui. Model tersebut juga dibuat dalam versi struktur 3-dimensi (3D) (Wlodawer & Vondrasek, 1998). Lebih dari 140 struktur protease HIV-1, baik yang telah bermutasi maupun yang terikat dengan ligan telah dipublikasikan (Ashraf & Wong, 2003).

### 2.3 Inhibitor Protease HIV-1

Obat-obat inhibitor protease bekerja pada fase akhir dari multiplikasi virus dan efeknya terhadap HIV lebih kuat daripada penghambat *reverse* transcriptase. Berbeda dengan penghambat *reverse* transcriptase, inhibitor protease mampu menghentikan replikasi dari sel-sel yang sudah terinfeksi. (Tjay & Rahardja, 2007)



[Sumber: *Figure for: twenty years of therapy for HIV-1 infection*]

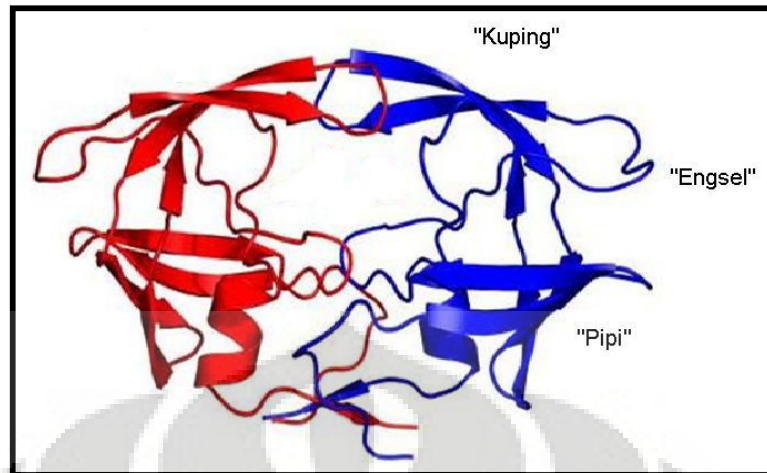
Gambar 2.8 Mekanisme inhibitor protease HIV-1

Inhibitor protease menghambat enzim protease yang memecah poliprotein besar yang terbentuk oleh DNA-viral menjadi protein-protein kecil yang digunakan untuk pembangunan virus baru yaitu mencegah proses pemotongan prekursor poliprotein *gag* dan *gag-pol* (Wood, 1998). Dengan demikian perkembangan virus baru dapat digagalkan seluruhnya.

Inhibitor protease HIV-1 memiliki beberapa mekanisme, diantaranya adalah sebagai analog senyawa transisi (*intermediate*), penghambat dimerisasi, serta penghambat penutup atau *flap*. Residu katalitik atau pemotongan pada protease HIV-1 terdapat pada tiga sisi aktif yakni Asp25, Thr26, dan Gly27. Pada proses pemotongan, substrat berikatan dengan sisi aktif dan penutup sebagai penahan ikatan. Ikatan dengan penutup ini dibantu dengan adanya molekul air yang menyebabkan terjadinya ikatan hidrogen. Protease HIV-1 memiliki mekanisme pemotongan yang bertahap, salah satu tahapnya menghasilkan senyawa *intermediate* tetrahedral. Sebagai analog senyawa transisi, inhibitor protease HIV-1 menyerupai senyawa *intermediate* tersebut sehingga pemotongan tidak berlangsung sempurna (Wlodawer & Vondrasek, 1998).

Sedangkan sebagai penghambat dimerisasi, inhibitor protease HIV-1 menghambat penggabungan monomer yang menyebabkan enzim menjadi tidak aktif (Alterman, 2001). Target penghambatan dimerisasi berada pada terminal-N dan C atau pertemuan dimer. Pada pertemuan dimer ini, terdapat residu-residu yang berperan besar dalam mengikat subunit lainnya. Residu tersebut diantaranya adalah residu 1-4 dan 96-99. Dalam proses dimerisasi, lebih dari 75% energi disumbangkan oleh area ini. Untuk menargetkan pengikatan inhibitor di daerah ini, biasanya digunakan struktur yang berbasis peptida (Breccia, *et al.*, 2003).

Penelitian oleh Chen, Wan, dan Loh (1996), Judd, *et al.* (2001), Kovalesky, *et al.* (2006), Perryman, Lin, dan McCammon (2006), serta Dash & Rao (2010), menunjukkan bahwa inhibitor protease HIV-1 yang berupa struktur non-peptida dapat bekerja secara nonkompetitif. Sisi pengikatan yang terjadi berada di bagian luar dekat dengan penutup yang disebut “kuping”-“engsel”-“pipi” (Gambar 2.9). Residu-residu yang terdapat pada sisi tersebut diantaranya residu 11-58. Pengikatan pada daerah sekitar penutup menyebabkan fleksibilitas penutup terganggu sehingga penutup tidak dapat membuka atau menutup. Perubahan fleksibilitas ini menyebabkan penutup tidak dapat berikatan dengan substrat alami sehingga tidak terjadi pemotongan (Judd, *et al.*, 2001; Dash & Rao, 2010; Kovalesky, *et al.*, 2006).



[Sumber: Perryman, Lin, dan McCammon (2006)]

Gambar 2.9 Tempat kerja inhibitor protease HIV-1 dengan struktur non peptida

Protease yang terdapat pada HIV-1 dapat memotong sekuen Tyr-Pro atau Phe-Pro yang tidak dapat dilakukan oleh protease lain. Karena ikatan amida dari residu prolin ini tidak dapat dipotong oleh protease mamalia, maka desain dari inhibitor protease HIV-1 diharapkan mempunyai selektifitas tinggi terhadap enzim ini. Terdapat sepuluh inhibitor yang telah diakui oleh FDA, dan inhibitor protease HIV-1 yang pertama ditemukan adalah saquinavir. Inhibitor-inhibitor lain adalah ritonavir, lopinavir, indinavir, nelfinavir, amprenavir, atazanavir, fosamprenavir, tipranavir, dan darunavir (Currently approved drugs for HIV: a comparative chart, 2008).

Inhibitor dengan struktur dasar peptida mempunyai kekurangan, diantaranya profil farmakokinetik yang kurang seperti bioavailabilitas yang rendah dan ekskresi yang cepat. Selain itu, sintesis dari struktur-struktur ini rumit dan mahal (Harvey, *et al.*, 1997). Inhibitor peptida juga tidak dapat diberikan bersamaan dengan sebagian obat karena adanya interaksi obat (Judd, *et al.*, 2001). Penelitian sekarang ini pun terarah pada struktur inhibitor non-peptida yang diharapkan bisa meminimalisir kekurangan-kekurangan tersebut (Skulnick, *et al.*, 1997).

Salah satu inhibitor non peptida yang marak dikembangkan adalah inhibitor yang berasal dari bahan alam. Hal ini dilakukan karena terjadinya resistensi obat dan efek samping dari obat-obat yang beredar di pasaran. Beberapa bahan alam yang digunakan adalah ribosom-inaktivasi protein, triterpen, alkaloid, flavonoid, dan

polifenol yang telah menjanjikan memiliki efek aktivitas anti HIV. (Nance, Siwak & Shearer, 2009).

Beberapa tanaman yang telah diteliti dan memiliki efek anti protease HIV-1 antara lain teh hijau (catechin, epigallocatechin gallate) (Nance, Siwak, & Shearer, MD., 2009), *Garcinia sp* (mangostin) (Magadula, & Tewtrakul, Supinya, 2009), *Allium cepa* (quercetin) (Goren, *et al.*, 2002), *Alnus firma* (quercetin, catechin, dan epicatechin) (Beob Yu, *et al.*, 2007), *C. militaris* (Adenosine, dan 6,7,2',4',5-pentamethoxyflavone) (Jiang, *et al.*, 2010).

## 2.4 Bioinformatika

Bioinformatika adalah suatu disiplin ilmu yang melibatkan ilmu biologi, ilmu komputer, statistika dan teknologi informasi di dalamnya (Dimmock, Easton, & Leppard, 2007). Contoh topik utama bidang ini meliputi basis data untuk mengelola informasi biologis, penyejajaran sekuen (*sequence alignment*), prediksi struktur untuk meramalkan bentuk struktur protein maupun struktur sekunder RNA, analisis filogenetik, dan analisis ekspresi gen (Wink, 2006). Ilmu bioinformatika ini didukung pula dengan perkembangan internet. Internet dibutuhkan untuk mempermudah akses basis data bioinformatika yang bermacam macam (Tsai, 2002).

Salah satu topik dalam bioinformatika adalah penemuan obat. Sebelum teknologi informasi digunakan dalam proses penemuan obat, pencarian senyawa yang cocok (*screening*) untuk menjadi calon obat harus dilakukan secara manual satu per satu di laboratorium. Hal ini menjadi mahal dan tidak efisien karena jumlah senyawa yang akan menjadi obat mencapai ratusan bahkan ribuan. Dengan adanya teknologi informasi yang membantu proses *screening* dari calon senyawa obat ini, maka telah berhasil mengurangi biaya riset dan waktu dalam penemuan obat. Walaupun penelitian di laboratorium tetap dilakukan untuk verifikasi, jumlah senyawa yang diuji tidak terlalu banyak karena komputer telah memberikan kandidat beberapa senyawa yang memiliki kriteria paling baik (Gareth, 2003).

Ada beberapa metode pemodelan komputer yang digunakan dalam proses penemuan obat diantaranya *molecular mechanic*, *molecular dynamic*, *quantum mechanic*, dan *molecular docking*. *Molecular mechanic* merupakan metode dalam menganalisa energi pada sebuah atom yang diasumsikan diam sehingga mengurangi waktu komputansi dan lebih mudah digunakan. *Molecular dynamic* menggunakan pendekatan sebaliknya, metode ini memungkinkan penghitungan energi dengan

Universitas Indonesia



asumsi atom dalam keadaan bergerak dinamis. *Quantum mechanic* menggunakan pendekatan fisika kuantum dalam menghitung energi. Sementara *penambatan molekuler (molecular docking)* merupakan metode yang menerapkan simulasi grafis tiga dimensi yang mengamati interaksi antara ligan dan reseptor (Gareth, 2003).

## 2.5 Penambatan Molekuler

Penambatan molekuler telah memegang peranan penting dalam kesuksesan dalam desain obat secara struktural dan telah digunakan secara luas dalam bidang industri dan akademis (Irwin, *et al.*, 2009). Pengembangan obat dengan komputasi penambatan molekuler diharapkan dapat menghemat biaya dan waktu pencarian obat (Huang & Zou, 2007).

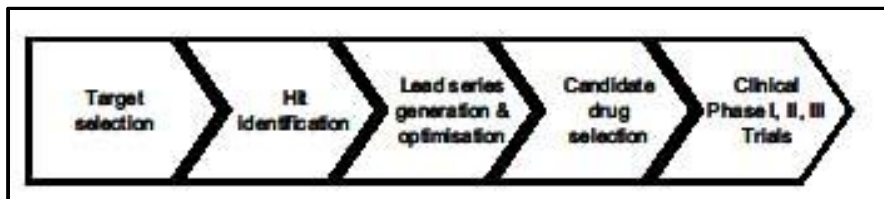
Teknologi *molecular docking* atau penambatan molekuler diaplikasikan pada beberapa tingkat dari proses pengembangan obat untuk tiga tujuan utama, yaitu: memprediksi model ikatan dari ligan yang diketahui aktif; pencarian ligan baru menggunakan *virtual screening*; dan memprediksi afinitas ikatan dari beberapa seri senyawa aktif (Leach, Shoicet, & Peishoff, 2006).

Dengan adanya dua molekul, sebagai reseptor dan sebagai ligan, penambatan molekuler merupakan usaha untuk memprediksi model pengikatan dengan cara mengevaluasi nilai energi dari konformasi ikatan berbeda menggunakan fungsi nilai tertentu (Huang & Zou, 2007). Proses penambatan molekuler menyangkut prediksi konformasi ligan dan orientasi (penentuan posisi) dengan sisi penambatan yang ditargetkan. Aspek teoritis mengenai penambatan molekuler dengan memprediksikan posisi suatu ligan [I] pada suatu makromolekul protein [E] di bawah kondisi ekuilibrium (*conformational search*). Dari dua variable tersebut, akan dikalkulasikan (*scoring function*) nilai dari kompleks  $[E+I] = [EI]$  yang dikenal sebagai energi bebas ikatan ( $\Delta G$ ). Energi bebas ikatan berkaitan dengan afinitas ligan terhadap protein (Kitchen, Decornez, Furr, & Bajorath, 2004). Perubahan energi ini dipengaruhi oleh perubahan entalpi ( $\Delta H$ ) dan perubahan entropi ( $\Delta S$ ). Energi bebas ikatan digambarkan melalui persamaan Gibbs:  $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$

## 2.6 Virtual screening

Riset dan proses pengembangan obat merupakan hal yang biasa dilakukan pada industri Farmasi untuk menemukan obat baru (Gambar 2.9). Tujuan awal dari proses penemuan obat adalah untuk memperoleh kandidat senyawa obat.

Selanjutnya, kandidat obat ini kemudian dikembangkan dan dievaluasi di klinik (Jacobsson, 2008).



[Sumber: Alvarez & Shoichet, 2005]

Gambar 2.10 Skema proses penemuan obat

Penemuan obat baru di klinik diperoleh melalui sistem *screening* secara farmakologi menggunakan hewan coba, namun dengan banyaknya senyawa yang bisa mencapai ratusan bahkan ribuan, sangat tidak efisien apabila senyawa-senyawa tersebut diujikan satu per satu melalui *screening* secara farmakologi. Selain itu, dilihat dari segi biaya tentunya akan membutuhkan biaya yang cukup besar serta waktu yang cukup lama (Sweetnam, *et al.*, 1995).

Oleh karena itu dengan adanya teknologi informasi, dikembangkanlah metode *screening* untuk mencari calon obat dengan menggunakan sumber daya komputer. Dengan adanya teknologi informasi ini proses *screening* dilakukan dengan metode *in silico* (simulasi komputer).

Metode *screening* dengan menggunakan sistem komputer dikenal dengan nama *in silico* atau *virtual screening*. *Virtual screening* menggunakan sistem komputer dengan performa yang tinggi untuk menganalisa *database* dari senyawa kimia untuk mengidentifikasi kandidat senyawa obat. Kandidat senyawa obat yang diperoleh dari *virtual screening* inilah yang akan dilakukan *screening* secara eksperimental (Holtje, *et al.*, 2008).

Metode yang digunakan pada *virtual screening* tergantung pada informasi yang didapat sebagai *input* dan tipe dari hasil yang dibutuhkan sebagai *output*. Contoh: jika struktur tiga dimensi dari protein target dapat diperoleh, maka penambatan molekuler dapat digunakan untuk melakukan *screening* berdasarkan reseptor, atau dikenal pula dengan nama *structure based virtual screening*. Namun bila struktur tiga dimensi dari reseptor tidak ada, maka digunakan model *pharmacophore* dari ligan bioaktif disebut pula *ligand based virtual screening*. (Hou & Xu, 2004)

*Structure based virtual screening* merupakan prediksi ikatan pada protein target dengan menggunakan metode komputasi, dengan menggunakan struktur 3 dimensi target yang telah diketahui. Tujuan utama dari *structure based virtual screening* adalah untuk memprediksi pose ikatan dari molekul kecil (ligan) dengan menggunakan penambatan molekuler (*docking*) dan selanjutnya memprediksi energi bebas dari molekul tersebut (*scoring*) (Alvarez& Shoichet, 2005).

Beberapa metode tersedia untuk *structure based virtual screening* ini diantaranya adalah perangkat lunak yang digunakan untuk penambatan molekuler seperti GLIDE, GOLD, ICM, AutoDock, dan FLEXX.

*Ligand based virtual screening* dilakukan apabila struktur tiga dimensi dari protein target tidak ada ataupun apabila diharuskan untuk mencari kesimpulan hubungan struktur aktivitas. *Ligand based virtual screening* ini menggunakan model farmakofor untuk menemukan kandidat obat. Martin (Abbot) merupakan peneliti pertama yang mengembangkan perangkat lunak untuk melakukan *ligand based virtual screening* ini. Perangkat lunak tersebut dikenal dengan nama Aladdin yang dikembangkan pada akhir 1980 dan awal 1990. Saat ini, terdapat beberapa perangkat lunak lain yang digunakan untuk model *virtual screening* ini diantaranya MACCS-3D dan ROCS. Kedua perangkat lunak ini bekerja melalui dua tahap, dimana tahap pertama ia memeriksa apakah senyawa tersebut memiliki gugus fungsional yang diperlukan oleh farmakofor, selanjutnya ia memeriksa konformasi spasial dari senyawa tersebut.

## **2.7 Database Tanaman Obat di Indonesia**

*Database* Tanaman Obat di Indonesia merupakan *database* struktur tiga dimensi senyawa kimia dari tanaman obat di Indonesia dibuat berdasarkan Materia Medika Indonesia yang terdiri dari 222 *species* dengan *input* struktur tiga dimensi sebanyak 1453 senyawa. Selain berisi struktur tiga dimensi senyawa kimia dari tanaman obat, *database* ini juga memuat nama latin, sinonim, famili, nama daerah, dan tempat penyebarannya, serta struktur dua dimensi senyawa kimia dari tanaman obat tersebut



## 2.8 GOLD

GOLD (*Genetic Optimization for Ligand Docking*) adalah perangkat lunak untuk menghitung model penambatan dari molekul-molekul kecil pada sisi pengikatan aktif. GOLD menggunakan metode pencarian GA (*genetic algorithm*). Algoritma genetika ini telah dioptimasi untuk aplikasi *virtual screening*. GOLD tersedia dalam GOLD *suite*, sebuah paket perangkat lunak untuk visualisasi dan manipulasi struktur untuk menambatkan ligan-protein, untuk proses sesudahnya, serta visualisasi hasil penambatan (GOLD-Protein Ligand Docking, 2010).

GOLD menawarkan beberapa pilihan dalam penilaiannya yakni GoldScore, ChemScore, dan penilaian kombinasi pemilihan pengguna. GoldScore dan ChemScore keduanya sama-sama dapat dipercaya, namun dapat memberikan hasil yang berbeda tergantung dari penggunaannya. GoldScore adalah fungsi penilaian original yang ditawarkan oleh GOLD yang telah dioptimasi untuk memprediksi posisi ligan. Sedangkan ChemScore adalah fungsi penilaian lain yang tersedia dari GOLD. ChemScore mempunyai kekurangan yakni kurang akurat dalam memprediksi afinitas ikatan (GOLD Support-Scientific FAQs, 2010).

Produk ini adalah hasil kolaborasi dari University of Sheffield, GlaxoSmithKline plc., dan CCDC (*Cambridge Crystallographic Data Centre*). GOLD sangat dianjurkan oleh komunitas *molecular modeling* karena keakuratan dan kepercayaan hasilnya (GOLD-Protein Ligand Docking, 2010).

## 2.9 Kriteria dan Parameter Penambatan

Hasil yang ditunjukkan oleh GOLD berupa GoldScore yang tersusun dari nilai tertinggi hingga terendah. GoldScore lebih menunjukkan konformasi ligan terbaik dibanding afinitas ikatan. GoldScore berbanding terbalik dengan energy afinitas yang berarti makin negatif  $\Delta G$ , makin tinggi nilai GoldScore. Konformasi terbaik ditunjukkan dengan nilai GoldScore yang paling tinggi (Huey & Morris, 2007; Trott, 2009; Nervall, *et al.*, 2007).

## 2.10 Open Babel

Open Babel merupakan salah satu perangkat lunak yang dibuat untuk menkonversi format file yang digunakan pada *molecular modeling* and kimia komputasi. Open Babel ini mampu mengkonversi lebih dari 110 file format. Open

Babel dapat diunduh secara gratis pada <http://sourceforge.net/projects/openbabel> (Babel, 2010).

### 2.11 PyMOL

PyMOL merupakan salah satu perangkat lunak visualisasi yang digunakan untuk memahami suatu struktur dan dapat menghasilkan gambar tiga dimensi yang berkualitas dari suatu molekul kecil maupun makromolekul seperti protein. Visualisasi sangatlah penting untuk lebih memahami dan mendalami struktur suatu molekul dan PyMOL merupakan salah satu perangkat lunak visualisasi yang mampu menyajikan tampilan struktur dalam beberapa warna. Beberapa tahun terakhir ini, sistem grafik molekuler PyMOL telah berkembang menjadi penampil molekuler yang kuat dengan adanya kekurangan dari tampilan 3D sehingga dapat digunakan untuk beberapa perangkat lunak dan aplikasi. Melalui pengaturan tampilan yang bermacam-macam serta penggunaan bahasa *Python* dalam level yang kuat untuk objek, menjadikan perangkat lunak ini menjadi mudah untuk dipergunakan secara luas tanpa mengubah kode-kode utama. Perangkat lunak ini dikomersilkan oleh DeLano Scientific LLC (Delano, 2004).

### 2.11 UCSF Chimera (*University of California at San Fransisco Chimera*)

UCSF (*University of California at San Fransisco*) Chimera adalah suatu perangkat lunak yang dikembangkan secara luas untuk visualisasi interaktif dan analisis struktur molekuler dan data terkait, termasuk pemetaan densitas, pengaturan supramolekuler, penataan sekuens, trajektori, dan penggabungan konformasi. Gambar dan animasi dengan kualitas tinggi dapat dihasilkan oleh perangkat lunak ini. Chimera termasuk dokumentasi yang lengkap dan beberapa tutorial, dapat diunduh bebas biaya untuk kepentingan akademis, pemerintahan, nirlaba, ataupun penggunaan pribadi. Chimera dikembangkan oleh *Resource for Biocomputing, Visualization, and Informatics* (Pettersen, *et al.*, 2004).

### 2.12 Vega ZZ

Vega ZZ adalah suatu proyek kimia komputasi yang dikembangkan untuk menciptakan suatu software untuk *molecular modeling* dengan antarmuka grafik 3 dimensi. Vega ZZ pertama kali digunakan untuk menghubungkan perangkat lunak

sejenis dan mempermudah proses pembelajaran dari penambatan molekuler (Pedretti, Mazzolari, & Vistoli, 2004). Vega ZZ dilengkapi dengan fitur-fitur seperti tampilan grafis untuk pengguna, perangkat lunak untuk mengedit, dan perangkat lunak untuk melakukan kalkulasi terhadap molekul. Saat ini, Vega ZZ dapat digunakan untuk menyelesaikan permasalahan kimia komputasi baik untuk desain obat, optimasi ligan, *homology modelling* dari suatu protein, serta kalkulasi penggambaran QSAR (*Quantitative Structural Analysis Relationship*) molekuler.



## **BAB 3**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1 Tempat dan Waktu**

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Komputer Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia selama bulan Agustus hingga November 2010.

#### **3.2 Alat**

##### **3.2.1 Perangkat Keras**

Perangkat keras berupa komputer dengan spesifikasi RAM (*Random Access Memory*) minimal satu *gigabyte*, *Quad Core processor* (Intel® Core™, Amerika), *Graphic Card* NVIDIA Ge Force GT 9400 (Amerika), dan system operasi Microsoft Windows XP SP 3 (Microsoft, Amerika). Kelengkapan komputer yakni monitor (AOC, China), CPU (*Central Processing Unit*) Asus (Amerika), *mouse* (Simbadda, Indonesia; Logitech, China) dan *keyboard* (Simbadda, Indonesia; Microsoft, Amerika). Komputer terhubung dengan koneksi internet dan UPS (*Uninterrupted Power Supply*).

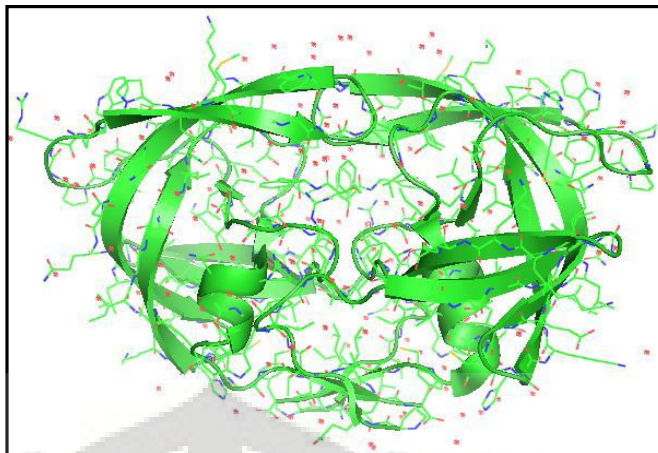
##### **3.2.2 Perangkat Lunak**

Perangkat lunak berupa Open Babel (The Blueobelisk Group, America), PyMOL (DeLano Scientific LLC, Italia), UCSF Chimera (Resource for Biocomputing, Visualization, and Informatic, University of California San Fransisco, Amerika), GOLD (The Cambridge Crystallographic Data Centre, Inggris), dan VegaZZ (The Drug Design Laboratory, University of Milan, Italia).

#### **3.3 Bahan**

##### **3.3.1 Struktur Tiga Dimensi Protease HIV-1 (Makromolekul)**

Struktur tiga dimensi protease HIV-1 yang diunduh dari Bank Data Protein (Berman, et al., 2000) dengan identitas 1D4H yang berupa homodimer protease HIV-1.



[Sumber: Berman, *et al.*, 2000 (PDB ID: 1D4H)]

Gambar 3.1 Struktur tiga dimensi makromolekul protease HIV-1 1D4H

3.3.2 *Database* Tanaman Obat di Indonesia (Bertha, Akma. 2010)

3.3.3 Kontrol Positif dan Negatif dari protease HIV inhibitor

### 3.4 Cara Kerja

Skema cara kerja terdapat pada Lampiran 1.

3.4.1 Penyiapan Struktur Protein

3.4.1.1 Pengunduhan Makromolekul Protease HIV-1

Pengunduhan makromolekul dari Protein Data Bank dengan situs <http://www.rcsb.org.pdb>. Identitas molekul yang diinginkan yakni 1D4H yang terikat dengan inhibitor BEH. Data makromolekul disimpan dengan bentuk .pdb

3.4.1.2 Pemisahan Rantai Makromolekul Protease HIV-1 untuk target penambatan

Makromolekul dipisahkan dari pelarut dan ligan atau residu non standar. Pemisahan makromolekul dari molekul yang tidak diperlukan, dilakukan dengan menggunakan program UCSF Chimera. Hasil pemisahan tersebut akan digunakan untuk penambatan. Hasil pemisahan disimpan dalam bentuk .pdb

3.4.1.3 Optimasi Makromolekul Protease HIV-1

Optimasi struktur tiga dimensi makromolekul dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak Vega ZZ. Optimasi tersebut meliputi: penghapusan molekul air, penambahan atom hidrogen, perbaikan muatan dengan menambahkan muatan parsial *Gasteiger charge*, pemberian *force field* AutoDock, dan penerapan minimisasi. Minimisasi makromolekul dilakukan dengan dua cara, yaitu dengan

metode *steepest descent* sebanyak 100 kali dan dengan metode *conjugate gradients* sebanyak 1000 kali (Setiawan, 2009). Untuk perangkat lunak GOLD, hasil optimasi disimpan dalam bentuk .pdb.

### 3.4.2 Validasi Metode *Virtual Screening*

Validasi metode *virtual screening* dilakukan dengan tahapan sebagai berikut:

1. Pengunduhan Kontrol Positif dari Inhibitor protease HIV-1  
Kontrol positif dari protease HIV Inhibitor diunduh dari pubchem (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>).
2. Pengunduhan Kontrol Negatif Inhibitor protease HIV-1  
Kontrol negatif dari protease HIV Inhibitor diunduh dari pubchem (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>).
3. Konversi file kontrol positif dan negatif dari Inhibitor protease HIV-1 dari format .sdf menjadi .mol dengan menggunakan perangkat lunak Open Babel.
  - a. Buka program Open Babel
  - b. Masukkan *input format* file yang akan dikonversi → .sdf
  - c. *Input file* → masukkan file yang akan dikonversi
  - d. Pilih *output format* yang diinginkan → .mol
  - e. *Output file* → Pilih tempat penyimpanan file hasil konversi dan isi file name diakhiri dengan format file yang diinginkan (.mol)
  - f. *Convert*
4. Penambatan molekuler dari kontrol positif dan negatif dengan menggunakan perangkat lunak GOLD, dengan koordinat ruang penambatan yang sama dengan ruang penambatan untuk *virtual screening* menggunakan *database* Tanaman Obat Indonesia.



### 3.4.3 Penyiapan Struktur Ligan

Ligan yang digunakan diperoleh dari *database* Tanaman Obat di Indonesia, dalam bentuk tiga dimensi dengan format *.mol*. Sumber data yang dijadikan acuan adalah *Materia Medica* jilid I sampai jilid ke VI.

### 3.4.4 Penambatan Molekuler *Database* Tanaman Obat di Indonesia pada protease HIV-1

Untuk penambatan molekuler dengan perangkat lunak GOLD dilakukan dengan tahapan sebagai berikut :

Penjalanan perangkat lunak GOLD dengan model *wizard*.

- a. *Select Protein* → 1D4H vega ZZ → LOAD
- b. *Protein Setup* → *add Hydrogen*
- c. *Define Binding Site* → penentuan koordinat ruang penambatan. Ruang penambatan yang digunakan memakai koordinat x: 13.676, y: 25.524, z: 2.832 dan *select all atoms within 10 Å*.
- d. *Configuration Template* → GoldScore P450 CSD
- e. *Add Ligand* → Memasukkan ligan yang berasal dari *database* Tanaman Obat Indonesia. *Database* ini berisi 1453 ligan dalam format *.mol*. Selanjutnya, *number of solution* dipilih sebanyak 10 dan *GA Runs* 10.
- f. *Choose Fitness Function* → GoldScore
- g. *GA Search Option* → Terdapat 3 variasi kecepatan pada penambatan molekuler menggunakan Gold, yaitu *fast ( least accurate)* , *medium* dan *slow ( most accurate)* .
- h. *Run GOLD* → Pilihan penyimpanan hasil penambatan akan muncul saat tampilan akhir *wizard* yang akan dibuat dalam satu *folder*. Hasil penambatan berupa berkas *.conf* atau *configuration gold file* dan bentuk konformasi pengikatan ligan berupa *.mol*.

### 3.4.5. Kandidat Senyawa Obat

Berdasarkan hasil penambatan molekuler dibuat peringkat 10 besar senyawa dengan GoldScore tertinggi dan solusi terbaik

### 3.4.6 Analisis dan Visualisasi Interaksi Protein-Ligan

Peringkat kandidat senyawa obat divisualisasi menggunakan *software* PyMOL dan GOLD. Hasil penambatan GOLD disimpan dalam bentuk .conf dan .mol yang dapat dibuka menggunakan GOLD dan PyMOL. Dalam GOLD dilihat nilai GoldScore (menggambarkan konformasi terbaik) sedangkan dalam PyMOL diolah untuk divisualisasi.





## BAB 4

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Penyiapan Struktur Protein

##### 4.1.1 Pengunduhan Makromolekul Protease HIV-1

Tahap awal dalam penelitian ini adalah pengunduhan makromolekul protease HIV-1 sebagai target penambatan. Dari pencarian melalui Bank Data Protein dihasilkan satu makromolekul protease HIV-1 yang diunduh strukturnya dengan format .pdb. Struktur dengan identitas 1D4H yang memiliki dua subunit protease HIV-1 (homodimer) dengan ligan bernama BEH yang merupakan hasil dari difraksi sinar X. Kondisi dan kualitas dari struktur protease HIV-1 yang diunduh tercantum pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Struktur protease HIV-1 yang diunduh dari *Protein Data Bank*

No.	Identitas	Jumlah Sub Unit	Ligan yang Terikat	Jenis Enzim	Resolusi (Å)
1	1DAH	2	Inhibitor BEH	Hidrolase	1,81

Struktur protease HIV-1 yang tersedia dalam Bank Data Protein berupa struktur makromolekul yang terikat dengan ligan. Struktur-struktur tersebut terdiri dari berbagai kondisi berupa struktur asli, hasil mutasi maupun modifikasi. Dalam penelitian ini, struktur protease HIV-1 yang digunakan adalah homodimer asli. Hal ini untuk melihat variasi pengikatan serta prediksi mekanisme dari penambatan ligan. Pemilihan struktur dengan identitas 1D4H didasarkan atas strukturnya yang utuh belum mengalami mutasi dan modifikasi.

##### 4.1.2 Pemisahan Rantai Makromolekul Protease HIV-1 untuk target penambatan

Dari pengunduhan makromolekul protease HIV-1 dari Bank Data Protein didapatkan struktur makromolekul yang terikat dengan ligan, pelarut, serta residu non-standar lain. Struktur ini kemudian dipisahkan dari residu-residu non-standar tersebut. Pemisahan makromolekul dengan perangkat lunak UCSF Chimera

menghasilkan struktur protease HIV-1 yang utuh dan siap melalui tahap selanjutnya. Struktur ini disimpan dalam bentuk .pdb.

Pada pengunduhan melalui situs Bank Data Protein, makromolekul berada dalam bentuk terikat dengan ligan dan banyak terdapat molekul pelarut air atau residu non-standard lain. Bentuk ini merupakan sisa hasil pengkristalan sebelumnya. Residu-residu non-standard ini harus dihilangkan agar tidak mengganggu proses penambatan. Ligan yang terikat pada sisi aktif dapat menghalangi ligan lain untuk berikatan. Sedangkan adanya molekul H<sub>2</sub>O yang tersebar pada sekeliling makromolekul dapat mengganggu ikatan proses penambatan berupa kemungkinan terikatnya ligan dengan molekul air melalui ikatan hidrogen.

Perangkat lunak UCSF Chimera berfungsi memotong residu non-standard dengan tidak mengubah susunan atom-atom lain. Pada makromolekul yang diunduh, hanya terdapat residu non-standard berupa ligan dan molekul air. Makromolekul 1D4H dengan hasil murni subunit A dan B.

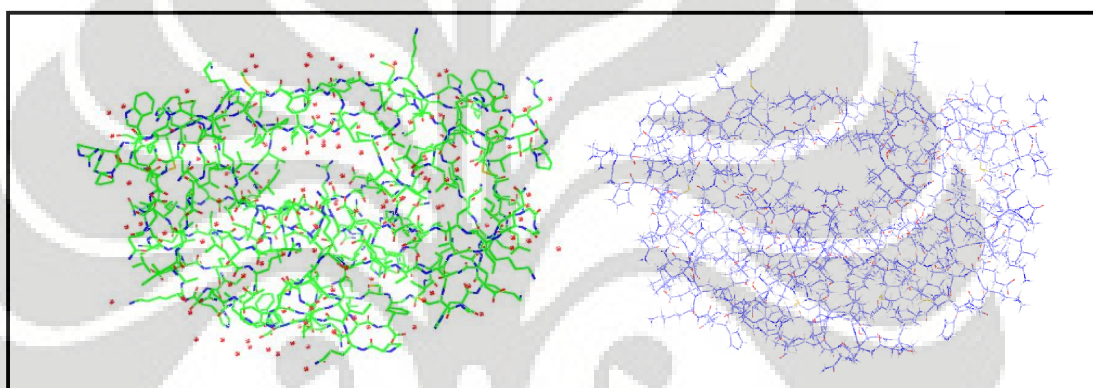
#### 4.1.3 Optimasi Makromolekul Protease HIV-1

Pada tahap optimasi struktur, dilakukan kembali penghilangan molekul air dan penambahan hidrogen pada masing-masing residu. Struktur dengan hidrogen yang hilang menjadi terikat kembali. Pada tahap perbaikan muatan, ditambahkan *force field* AutoDock dan muatan *Gasteiger*. Selanjutnya dilakukan proses optimasi minimisasi. Minimisasi yang dilakukan adalah dengan metode *steepest descent* sebanyak 100 kali dan *conjugate gradients* sebanyak 1000 kali. Dari hasil minimisasi, terlihat adanya pergeseran-pergeseran posisi struktur. Hasil minimisasi oleh Vega ZZ disimpan dalam bentuk .pdb

Optimasi makromolekul hasil kristalisasi dari PDB perlu dilakukan untuk persiapan penambatan agar sesuai dengan kondisi yang diperlukan oleh perangkat lunak penambatan. Pada optimasi struktur, penghilangan molekul air yang terdeteksi saat pengkristalan diperlukan agar tidak mempengaruhi interaksi penambatan. Sedangkan penambahan atom hidrogen perlu dilakukan karena keberadaan atom hidrogen dapat mempengaruhi interaksi penambatan misalnya melalui terbentuknya ikatan hidrogen. Pada optimasi perbaikan muatan, proses yang dilakukan adalah penambahan *force field* AutoDock serta muatan *Gasteiger*. Penambahan *force field* serta muatan perlu dilakukan sebagai kebutuhan perangkat lunak penambatan dalam

penilaian hasil akhir. Hal ini didasarkan atas perhitungan skor GOLD yang berdasarkan *force field*.

Tahap optimasi selanjutnya adalah minimisasi energi yang bertujuan untuk mencari energi optimum terkecil di mana struktur berada dalam konformasi yang paling stabil untuk digunakan dalam penambatan. Minimisasi protein yang sering digunakan adalah dengan metode *steepest descent* dilanjutkan dengan *conjugate gradients*. Optimasi ini dilakukan berdasarkan minimisasi makromolekul pada umumnya (Tiikkainen, 2010). Setelah mengalami minimisasi, struktur makromolekul mengalami pergeseran konformasi dari konformasi sebelumnya



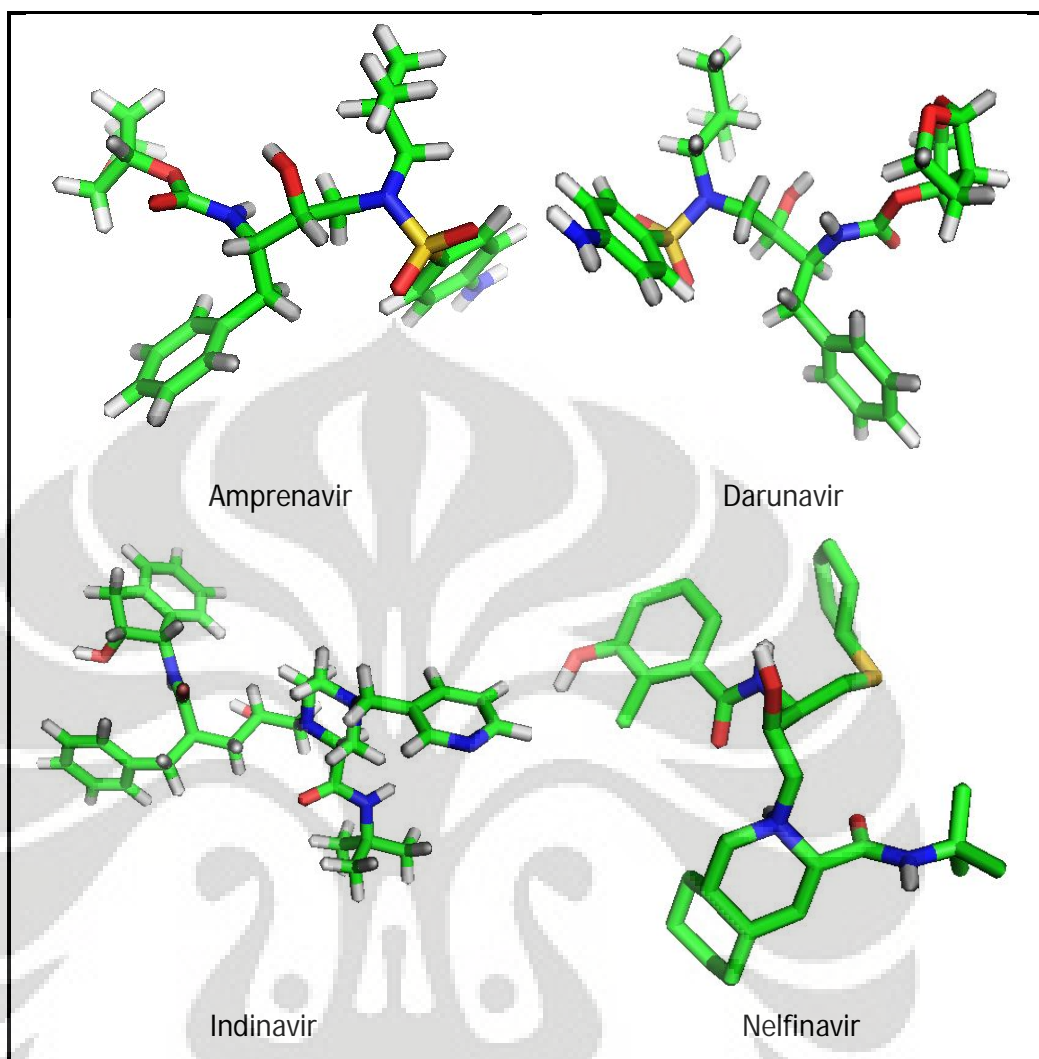
[Sumber: Olahan penulis dengan Vega ZZ dan PyMOL]

Gambar 4.1 Struktur tiga dimensi makromolekul 1D4H sebelum optimasi (hijau) dan setelah optimasi (biru)

## 4.2 Validasi Metode *Virtual screening*

### 4.2.1 Pengunduhan Kontrol Positif dari Inhibitor Protease HIV-1

Kontrol positif dari Protease HIV Inhibitor diunduh dari *Pubchem* (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>). Dari *website* ini diperoleh 4 senyawa protease inhibitor dengan struktur 3 dimensi. Kontrol positif yang diperoleh yaitu amprenavir, indinavir, nelfinavir dan darunavir (Gambar 4.2). Data kontrol positif kemudian disimpan dalam bentuk .sdf.



[Sumber: Pubchem]

Gambar 4.2 Struktur tiga dimensi kontrol positif inhibitor protease HIV-1

#### 4.2.2 Pengunduhan Kontrol Negatif dari Inhibitor Protease HIV-1

Kontrol negatif dari protease HIV Inhibitor dipilih dari golongan *Reverse Transcriptase Inhibitor*. *Reverse Transcriptase Inhibitor* dipilih karena diyakini bahwa senyawa dari RTI walaupun sama-sama merupakan obat anti HIV, RTI ini tidak memiliki ikatan terhadap Protease HIV, sehingga dapat mencerminkan kontrol negatif dari Protease HIV Inhibitor. Untuk kontrol negatif digunakan 5 ligand, yaitu didanosine, foscarnet, nevirapine, zalcitabine, dan zidovudine. Data kontrol negatif kemudian disimpan dalam bentuk .scf.

#### 4.2.3 Konversi file kontrol positif dan negatif dari Inhibitor protease HIV-1

Untuk melakukan penambatan molekuler format file hasil unduhan dari pubchem harus diubah formatnya, dari format file .sdf menjadi .mol. Untuk melakukan konversi format file ini digunakan program Open Babel ( Lampiran 4). Open Babel sendiri merupakan software yang dapat diunduh secara gratis di internet. Open Babel ini biasa digunakan untuk mengkonversi format file kimia maupun *molecular modeling* secara mudah dan cepat.

#### 4.2.4 Penambatan Molekuler Menggunakan GOLD

Penambatan molekuler terhadap kontrol positif dan kontrol negatif dilakukan dengan menggunakan software GOLD. Koordinat ruang penambatan yang digunakan ini akan digunakan pula pada penambatan molekuler saat *virtual screening*. Koordinat yang diperoleh untuk ruang penambatan yakni koordinat (X,Y,Z) 13.676; 25.524; 2.832.

Untuk memvalidasi metode *virtual screening* yang akan digunakan, maka dilakukan penjalanan penambatan molekuler dengan menggunakan tiga variasi kecepatan *GA Search Option*, yaitu *fast*, *medium*, dan *slow*. Masing-masing kecepatan *GA Search Option* ini dilakukan penambatan molekuler sebanyak lima kali. Berdasarkan hasil penambatan molekuler pada kontrol positif dari Inhibitor Protease HIV-1 diperoleh hasil yang tercantum pada Tabel 4.2

Berdasarkan hasil validasi metode ini, maka dapat dilihat bahwa dengan *GA Search Option* kecepatan *slow* yang memberikan hasil yang paling baik sehingga untuk penambatan molekuler pada *virtual screening* akan dilakukan dengan *GA Search Option* kecepatan *slow* dengan koefisien variasi sebesar 1,71-3,10 %.

Tabel 4.2 Hasil penambatan molekuler pada kontrol positif inhibitor protease HIV-1

Fast	GoldScore					Rata2 GoldScore	SD	KV (%)
Darunavir	62.8859	49.5721	47.5013	40.5032	59.9341	52.0788	9.21	17.69
Nelfinavir	60.4344	63.3514	59.6824	63.1498	66.0306	62.5261	2.54	4.06
Indinavir	57.9526	40.6032	68.3586	57.5298	41.5712	51.203	11.88	23.21
Amprenavir	50.0786	63.4303	64.9237	63.5762	49.371	58.2759	7.83	13.43



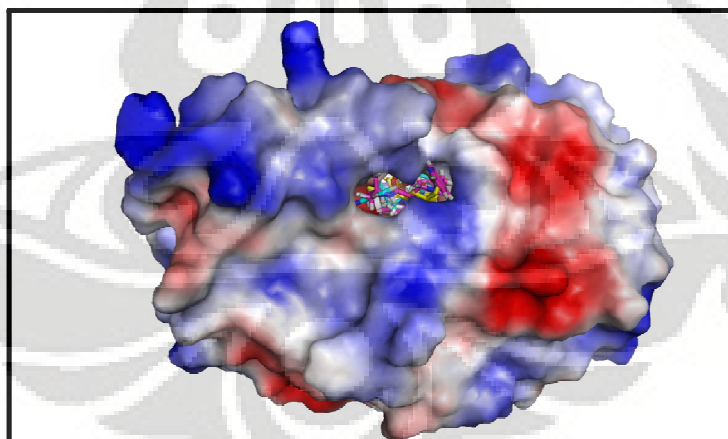
Tabel 4.2 Hasil penambatan molekuler pada kontrol positif inhibitor protease HIV-1 (Lanjutan)

Medium	GoldScore					Rata2 GoldScore	SD	KV (%)
Darunavir	50.0786	63.153	71.8881	66.8564	58.9766	64.5161	8.27	12.80
Nelfinavir	65.0575	61.8961	66.2601	60.3323	65.5574	63.8206	2.56	4.02
Indinavir	67.0744	56.8025	79.5594	73.2819	73.4953	70.0427	8.62	12.30
Amprenavir	69.0722	66.9138	63.833	66.2394	60.9513	65.4019	3.11	4.75

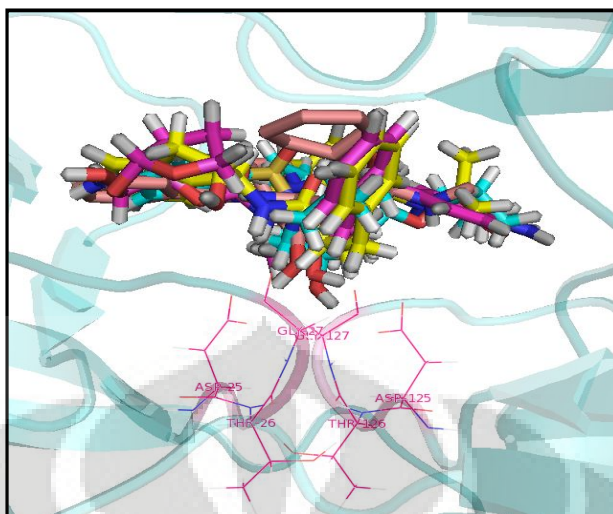
Slow	GoldScore					Rata2 GoldScore	SD	KV (%)
Darunavir	73.4927	72.6872	70.7171	73.7182	71.7902	72.481	1.24	1.71
Nelfinavir	69.6477	70.9245	71.8925	69.5064	74.0697	71.2081	1.87	2.63
Indinavir	72.1408	73.585	70.8783	76.9992	73.1709	73.3548	2.28	3.1
Amprenavir	63.0834	64.8918	67.4743	62.399	64.1033	64.3903	1.96	3.04

Pada hasil penambatan molekuler kontrol positif terlihat bahwa kontrol positif mengikat Protease HIV-1 tepat masuk ke dalam situs aktif dari Protease HIV-1 itu sendiri. Hal ini ditunjukkan oleh Gambar 4.2. Selain itu, konformasi ikatan pada Protease HIV-1 oleh keempat kontrol positif pun hampir serupa. Dimana kontrol positif mengisi tempat situs aktif dari Protease HIV-1. Hal ini ditunjukkan pada Gambar 4.3



[Sumber: Olahan penulis dengan PyMOL]

Gambar 4.3 Situs Aktif Protease HIV 1 berikatan dengan kontrol positif



[Sumber: Olahan penulis dengan PyMOL]

Gambar 4.4 Konformasi Ikatan Kontrol Positif dengan 1D4H

Pada Gambar 4.3 menunjukkan kontrol positif berikatan pada residu katalitik dari Protease HIV-1 yaitu Asp 25, Thr 26, Gly 27, Asp 125, Thr 126 dan Gly 127 yang merupakan situs aktif dari Protease HIV-1. Gambar 4.5 dan 4.6 menunjukkan gambaran dari konformasi ikatan hidrogen pada kontrol positif terhadap 1D4H

Pada penambatan molekuler dengan menggunakan kontrol negatif, dilakukan dengan GA Search Option dengan tiga kecepatan, yaitu *fast*, *slow*, *medium*. Tiap kecepatan dilakukan masing-masing lima kali. Hasil dari penambatan molekuler pada kontrol negatif tercantum pada Tabel 4.3. Berdasarkan hasil penambatan molekuler pada kontrol negatif, dapat terlihat terdapat perbedaan yang cukup signifikan pada GoldScore kontrol positif dan negatif dari inhibitor Protease HIV-1. Dimana GoldScore tertinggi pada kontrol negatif berada pada kisaran angka 40, sedangkan pada kontrol positif berada pada kisaran angka 70.

Tabel 4.3 Hasil penambatan molekuler pada kontrol negatif inhibitor protease HIV-1

FAST	GoldScore					Rata2	SD	KV
						GoldScore		(%)
Nevirapine	38.2198	39.1771	35.3706	38.0006	40.1073	38.175	1.77	4.66
Didanosine	38.5694	39.0377	38.7414	40.1335	39.6749	39.2313	0.65	1.65
Zidovudine	40.119	38.9836	38.3783	39.4394	39.8351	39.351	0.7	1.78
Zalcitabine	35.7256	36.7683	34.8439	33.7716	34.6191	35.1457	1.14	3.25
Foscarnet	30.0271	31.066	31.322	30.615	30.2966	31.805	0.67	2.13



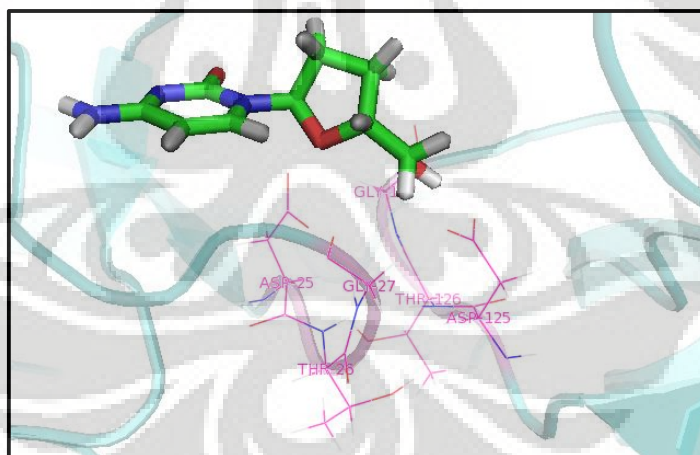
Tabel 4.3 Hasil penambatan molekuler pada kontrol negatif inhibitor protease HIV-1  
(Lanjutan)

MEDIUM	GoldScore					Rata2	SD	KV
						GoldScore		(%)
Nevirapine	40.8503	42.2204	41.8694	41.6934	41.4336	41.6134	0.51	1.23
Didanosine	41.8729	41.133	41.905	41.6767	40.1073	41.3389	0.75	1.82
Zidovudine	40.3815	40.7647	40.5697	40.6301	41.2355	40.7163	0.32	0.78
Zalcitabine	37.8441	35.8811	34.0122	35.8645	36.1912	35.9586	1.36	3.78
Foscarnet	31.6288	31.5642	31.4449	31.3151	30.9505	31.3807	0.26	0.86

SLOW	GoldScore					Rata2	SD	KV
						GoldScore		(%)
Nevirapine	42.354	42.1649	42.1032	41.8673	41.6045	42.0187	0.28	0.69
Didanosine	41.3514	41.7846	41.4884	41.8974	41.8835	41.681	0.24	0.59
Zidovudine	41.4028	41.2575	41.1169	41.5541	41.3145	41.3345	0.16	0.39
Zalcitabine	36.4253	36.5918	36.1285	36.4619	35.7269	36.2668	0.35	0.95
Foscarnet	31.4181	31.4048	31.5872	31.6408	31.4717	31.5045	0.09	0.3

Pada hasil penambatan molekuler, kontrol negatif tidak memiliki ikatan hidrogen terhadap residu yang berada pada sisi aktif dari Protease HIV-1. Hal ini terlihat pada Gambar 4.7



[Sumber: Hasil Penambatan Molekuler Kontrol Negatif menggunakan Gold]

Gambar 4.7 Salah satu Gambaran dari kontrol negatif yaitu Zalcitabine, yang tidak memiliki ikatan hidrogen dengan Protease HIV-1

### 4.3 Penyiapan Struktur Ligan

Ligan yang digunakan diperoleh dari *database* Tanaman Obat di Indonesia, dalam bentuk tiga dimensi dengan format .mol. Sumber data yang dijadikan acuan

adalah *Materia Medica* jilid I sampai jilid ke VI. *Database* ini merupakan hasil dari penelitian sebelumnya (Bertha, Akma., 2010).

Ligan yang berada pada *database* ini merupakan senyawa kimia yang terkandung dalam tanaman obat yang di Indonesia. Struktur dua dimensi senyawa kimia ini diperoleh dari basis data KNApSack dengan format file .gif, dan basis data *Pubchem* dengan format file .sdf. Selanjutnya format file .gif dari KNApSack diubah menjadi format file .mol menggunakan program Symyx Draw, sedangkan format file .sdf dari *PubChem* dibuka dengan program PyMOL untuk selanjutnya disimpan dalam format file .mol. Tahap selanjutnya dilakukan protonasi dan konversi ligan dari dua dimensi menjadi tiga dimensi dengan program VegaZZ.

#### 4.4 Penambatan Molekuler *Database* Tanaman Obat di Indonesia pada Protease HIV-1

Penambatan molekuler untuk *virtual screening* dilakukan dengan menggunakan GOLD. GOLD sendiri merupakan software yang efisien dalam waktu untuk melakukan *virtual screening*. Alur proses program GOLD untuk *virtual screening* terdapat pada Lampiran 7. GOLD menggunakan pendekatan *genetic algorithm* dan menggunakan penilaian dengan pendekatan berdasarkan *force field*.

Koordinat ruang penambatan pada GOLD digunakan koordinat yang sama dengan koordinat untuk memvalidasi metode sebelumnya yaitu koordinat (X,Y,Z) 13.676; 25.524; 2.832, serta dengan menggunakan radius 10 Å untuk menandai daerah situs pengikatan. Penggunaan radius pada GOLD dikarenakan program ini membatasi daerah situs pengikatan dengan model sferis atau bulat.

Pada *virtual screening* ini, penambatan molekuler untuk *database* dilakukan terhadap 1453 ligan *GA Runs* dan *number of solution* yang digunakan masing-masing 10. *Scoring function* yang digunakan adalah GoldScore dan *GA Search Option* yang digunakan adalah *slow (most accurate)*. Pemilihan *GA Search Option slow* diperoleh dari hasil validasi metode *virtual screening* yang dilakukan, dimana *GA Search Option slow* memberikan hasil yang paling baik.

Luaran dari proses penambatan dengan program GOLD dihasilkan berupa berkas .conf (*configuration gold file*) dan .mol (bentuk konformasi pengikatan ligan). Proses penambatan berlangsung dengan waktu sekitar 12-36 jam.

GOLD hanya menunjukkan hasil peringkat penambatan berdasarkan skor (GoldScore) serta konformasi-konformasi ikatan. Pemilihan GoldScore dilakukan berdasarkan penilaiannya yang lebih banyak digunakan dibanding ChemScore. Hasil penambatan dari GOLD ini dikenal dengan nama GoldScore. Besar GoldScore ini yang akan menentukan peringkat dari kandidat senyawa obat. GoldScore merupakan fungsi nilai dari perangkat lunak GOLD dalam menentukan peringkat posisi terbaik.

Hasil penambatan molekuler terhadap Protease HIV-1 dengan menggunakan *database* Tanaman Obat di Indonesia dapat dilihat pada Tabel 4.4-4.8.

#### 4.5 Kandidat Senyawa Obat

Hasil *virtual screening* terhadap target Protease HIV-1 dengan menggunakan database tanaman obat di Indonesia tercantum pada Tabel 1. *Virtual screening* dilakukan sebanyak 10 kali. Hasil dalam Tabel 4.9 merupakan peringkat 10 besar ligan dengan GoldScore tertinggi serta kemunculan dalam percobaan terbanyak. Sedangkan rumus struktur dari peringkat 10 besar senyawa ligan hasil *virtual screening* terdapat pada Gambar 4.8-4.10.

Tabel 4.9 Hasil *virtual screening* terhadap target Protease HIV-1

Peringkat	Ligan	n	Rata2 GoldScore	SD	KV (%)
1	Quercetin 7,4'-diglucoside	10	95.6252	2.08	2.18
2	4-Methylpentyl glucosinolate	10	94.2624	2.13	2.26
3	Glucoraphenin	9	89.5779	1.54	1.72
4	Glucobrassicin	9	88.6426	2.38	2.68
5	Luteolin 3'-methylether	8	90.0540	1.28	1.42
6	Quercetin 3-rutinoside	7	90.0162	3.72	4.14
7	Cyanidin 7(3-glucosil-6-malonylglucoside)4'-glucoside	7	91.9319	5.42	5.90

Tabel 4.9 Hasil *virtual screening* terhadap target Protease HIV-1  
(Lanjutan)

Peringkat	Ligan	n	Rata2 GoldScore	SD	KV (%)
8	Apigenin-7-O (6"-O-p-coumaroylglucoside)	6	87.0560	3.31	3.80
9	Sinalbin	6	86.2803	2.93	3.39
10	4-Methylsulfinyl butyl glucosinolate	5	91.5081	3.47	3.79

\*) total percobaan sebanyak 10 kali  
n= kemunculan dalam percobaan

Berdasar hasil *virtual screening* dengan total 10 kali percobaan, terdapat 2 senyawa yang selalu muncul pada tiap percobaan dan selalu sebagai peringkat 1 dan 2 dengan GoldScore tertinggi, yaitu Quercetin 7,4'-diglucoside dan 4-Methylpentyl glucosinolate. Namun pada hasil *virtual screening* terdapat 4 senyawa dari peringkat 10 besar tiap-tiap percobaan yang harus dikeluarkan dari kandidat senyawa obat, senyawa tersebut antara lain: Gambirinin A3, Epigallocatechin 3,5-di-O-gallate, Epicatechin 3,5-di-O-gallate dan Isochlorogenic acid. Hal ini dikarenakan solusi ligan pada hasil penambatan molekuler tersebut terdapat ikatan yang hilang. Hal ini disebabkan karena GOLD tidak mampu mendefinisikan solusi senyawa tersebut dengan baik sehingga terjadi error (tingkat keberhasilan Gold untuk penambatan molekuler sebesar 71%) (Jones, *et al.*, 1997).

Quercetin 7,4'-diglucoside merupakan senyawa flavonoid yang berasal dari famili Liliaceae dengan spesies tanaman asal yaitu, *Allium cepa*, *Allium ascalonicum*, *Allium parrum cepa*, dan *Allium esculentum*. Senyawa flavonoid beberapa dekade terakhir memang telah banyak diteliti aktivitas antivirusnya, dan difokuskan pada HIV.

Penemuan dan pengembangan flavonoid sebagai anti HIV telah berkembang selama dua dekade terakhir. Kebanyakan studi berfokus pada aktivitas flavonoid sebagai inhibitor reverse transcriptase atau DNA polymerase namun terdapat pula aktivitas antiintegrase dan antiprotease yang ditemukan (Lakhanpal & Rai, 2007). Secara *in vitro*, flavonoid dapat menurunkan serangan proteolitik dari protein seperti

elastase, trypsin, alphachymotrypsin, protease HIV-1 sehingga flavonoid ini mampu menghambat replikasi dari virus. (Schramm & German, 1998).

Pemilihan flavonoid sebagai anti protease HIV didasarkan pada pemikiran bahwa posisi substituen gugus hidroksi dapat dijadikan sebagai donor maupun akseptor ikatan hidrogen untuk berikatan dengan rantai samping asam amino yang berada pada situs aktif dari enzim protease. Dalam penelitian Brinkworth, Stoermer, & Fairlie, (1992), quercetin yang memiliki gugus hidroksi pada posisi 3, 5, 7, 3', 4' memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar 36  $\mu M$  terhadap protease HIV pada pH 6,5 dan mereka pun melaporkan bahwa substitusi -OH pada posisi 7 dan 8 meningkatkan potensi inhibitor. Flavonoid dapat dijadikan inhibitor yang potensial karena adanya substituen 2 fenil yang kemungkinan dapat mengisi tempat ikatan P1 ataupun P1' yang mengikat situs aktif Asp 25 dan Asp 125.

Penelitian lain yang dilakukan Beob Yu, *et al.*, (2007), dimana ia mengisolasi flavonoid yang berasal dari *Alnus firma* menyebutkan bahwa kemampuan inhibisi dari quercetin sebesar  $>100 IC_{50}$  ( $\mu M$ ). Penelitian lain yang dilakukan oleh Goren, *et al.*, 2002, telah mematenkan adanya aktivitas anti virus pada *Allium cepa*. Namun, dalam patennya ini tidak disebutkan secara spesifik senyawa apa dalam tanaman ini yang mempunyai efek anti HIV serta mekanisme jelas dari aktivitas anti virus senyawa dalam tanaman ini. Dalam patennya ia mengemukakan bahwa *Allium cepa* mampu menurunkan paling sedikit satu gejala dari pasien HIV positif atau pasien AIDS, dimana pasien HIV positif atau pasien AIDS ini tidak diberikan obat antiretroviral ataupun protease inhibitor lain (Goren, *et al.*, 2002).

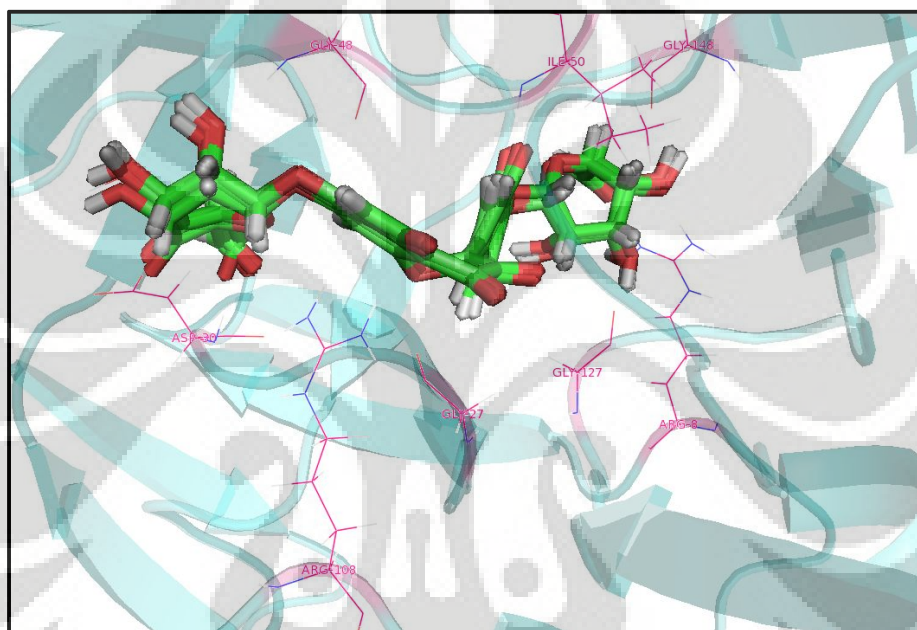
4-Methylpentyl glucosinolate merupakan glikosida yang berasal dari famili Euphorbiaceae dengan spesies tanaman asal *Ricinus communis*, *Ricinus inermis* *et levidus*, *Ricinus inermis*, dan *Ricinus speciosus*. Han, *et al.*, (1995), telah melakukan penelitian mengenai ekstrak dari *Ricinus communis* terhadap aktivitas anti HIV. Dalam penelitiannya, ia mengemukakan bahwa senyawa temuannya ini berguna untuk menjadi inhibitor melawan proliferasi dari HIV walaupun ia tidak menyebutkan nama dari senyawa aktif yang telah ditemukan.

#### **4.6 Analisis dan Visualisasi Interaksi Protein-Ligan**

Kedua senyawa hasil *virtual screening* yang memiliki GoldScore tertinggi yaitu Quercetin 7,4'-diglucoside dan 4-Methylpentyl glucosinolate divisualisasi dan dianalisis dengan menggunakan program GOLD dan PyMOL.



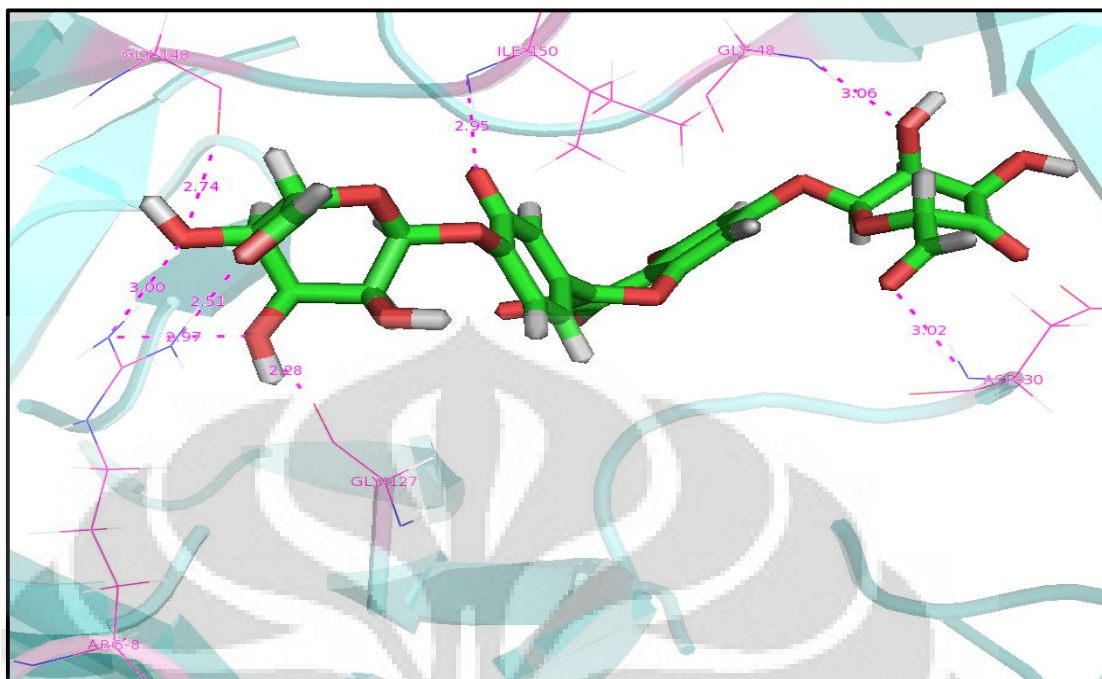
Quercetin 7,4'-diglucoside menunjukkan adanya ikatan hidrogen pada Gly 27, Gly 127, Gly 48, Gly 148, Ile 150, Asp 30, Arg 8 dan Arg 108 (Tabel 4.12). Residu yang paling sering berikatan ditunjukkan pada Gambar 4.11. Ikatan hidrogen pada residu diatas terjadi dengan gugus elektronegatif seperti –OH, O pada nomor 19, 22, 30 dan 44. Ikatan hidrogen yang terjadi memiliki jarak antara 2,1-3,5 Å (Tabel 4.12). Konformasi Quercetin 7,4'-diglucoside pada masing-masing solusi penambatan ditunjukkan pada Gambar 4.12-4.15.



[Sumber: Olahan penulis PyMOL]

Gambar 4.11 Interaksi Quercetin 7,4'-diglucoside (*sticks*) dengan beberapa residu asam amino (*lines*) pada protease HIV-1

Quercetin 7,4'-diglucoside memiliki sisi pengikatan pada bagian penutup dari Protease HIV-1, yakni residu Gly 48, Gly 148, dan Ile 150. Adanya pengikatan pada residu ini menyebabkan terjadinya penghambatan dari proses pembukaan dari enzim ini (Shityakov & Dandekar, 2010). Bila terjadi hambatan dari proses pembukaan enzim, maka substrat dari Protease HIV-1 tidak dapat menempati situs aktif dari enzim ini (Freedberg, *et al.*, 1998).



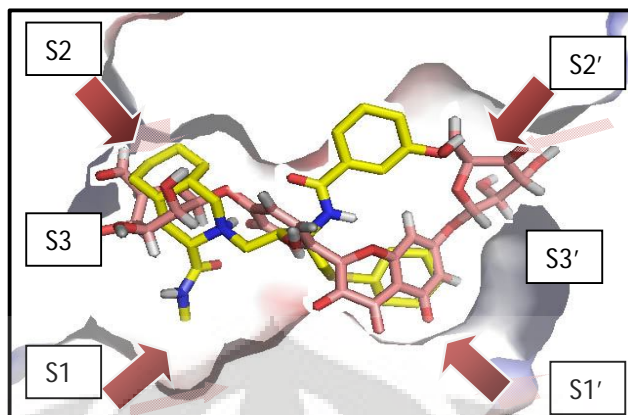
[Sumber: Olahan penulis PyMOL]

Gambar 4.16 Ikatan hidrogen yang terjadi antara Quercetin 7,4'-diglucoside (*sticks*) dengan beberapa residu asam amino (*lines*) pada protease HIV-1

Posisi dari Quercetin 7,4'-diglucoside pada situs aktif dari Protease HIV-1 menyebabkan terjadinya interaksi antara gugus hidroksi dan residu katalitik (Anderson, *et al.*, 2003). Hal ini tampak pada adanya pengikatan gugus -OH nomor 31 pada Quercetin 7,4'-diglucoside terhadap Gly 127. Adanya ikatan hidrogen pada Gly 127 ini menyebabkan Gly 127 tidak dapat berikatan dengan Asp 125 sehingga proses pemotongan protein pada protease HIV-1 ini tidak dapat terjadi.

Berdasarkan sisi pengikatan Quercetin 7,4'-diglucoside menempati sisi pengikatan S1, S1', S2, S3, S3'. Hal ini terlihat pada gambar 4.17, dimana Quercetin 7,4'-diglucoside dibandingkan dengan nelfinavir. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Kaldor, *et al.*, (1997) dimana ia melakukan uji inhibisi nelfinavir secara *in vitro*, nelfinavir hampir menempati semua sisi pengikatan dari protease HIV-1, yakni sisi S1, S1', S2, S2' dan S3 dan gugus hidroksi nelfinavir yang berada di tengah menghambat residu katalitik pada Asp 25 dan Asp 25'.

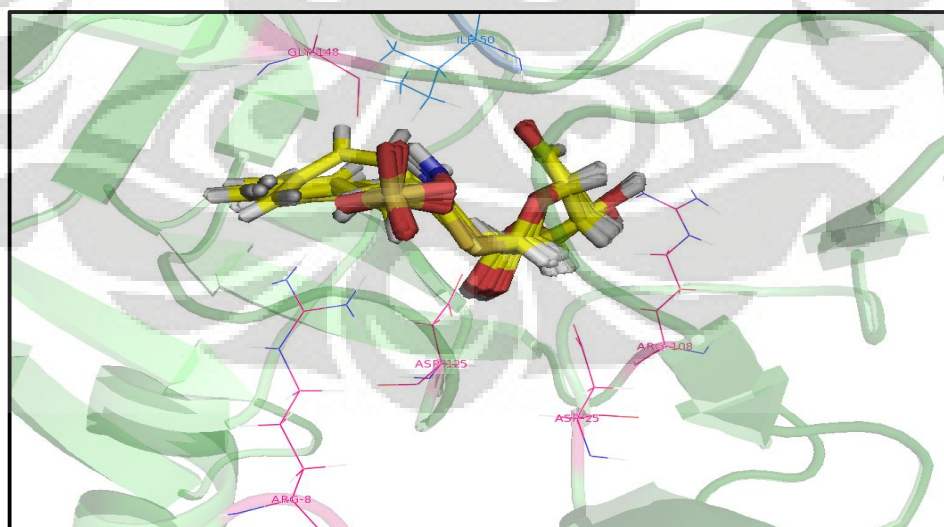




[Sumber: Olahan penulis dengan PyMOL]

Gambar 4.17 Perbandingan hasil penambatan Quercetin 7,4'-diglucoside (jingga) dengan Nelfinavir (kuning)

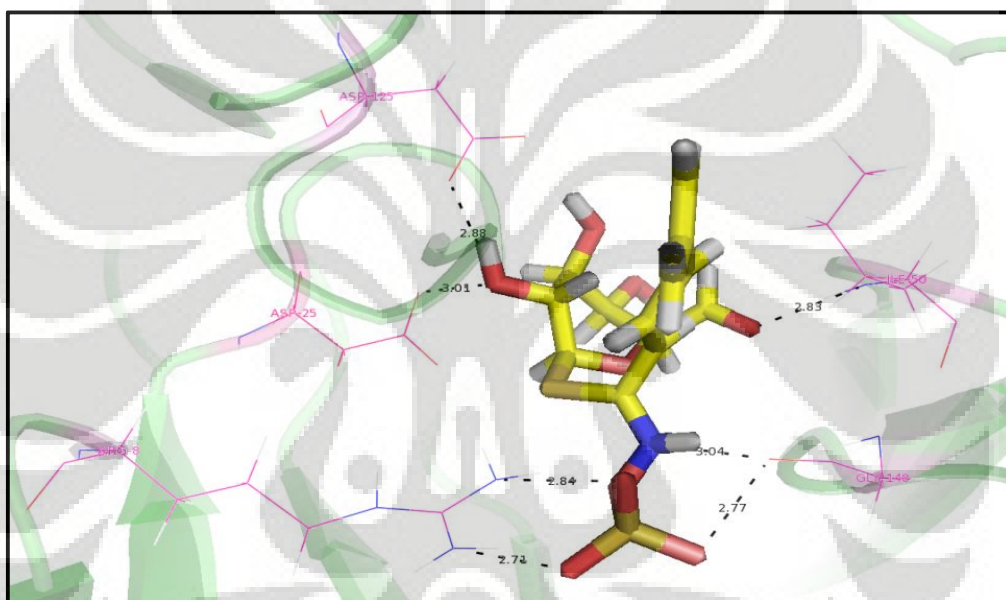
4-Methylpentyl glucosinolate menunjukkan adanya ikatan hidrogen pada residu Arg 8, Asp 25, Asp 125, Ile 50, Gly 48, dan Gly 148 (Tabel 4.13). Residu yang paling sering berikatan ditunjukkan pada Gambar 4.17. Ikatan hidrogen terjadi pada residu di atas dengan gugus elektronegatif seperti OH, O pada nomor 8,9, 10, 18, 20 dan 21. Gugus tersebut berikatan dengan residu katalitik yaitu Asp 25 dan Asp 125. Ikatan hidrogen yang terjadi memiliki jarak antara 2,5-3,5 Å (Tabel 4.13). Konformasi 4-Methylpentyl glucosinolate pada masing-masing solusi penambatan ditunjukkan pada Gambar 4.19-4.22



[Sumber: Olahan penulis PyMOL]

Gambar 4.18 Interaksi 4-Methylpentyl glucosinolate (*sticks*) dengan beberapa residu asam amino (*lines*) pada protease HIV-1

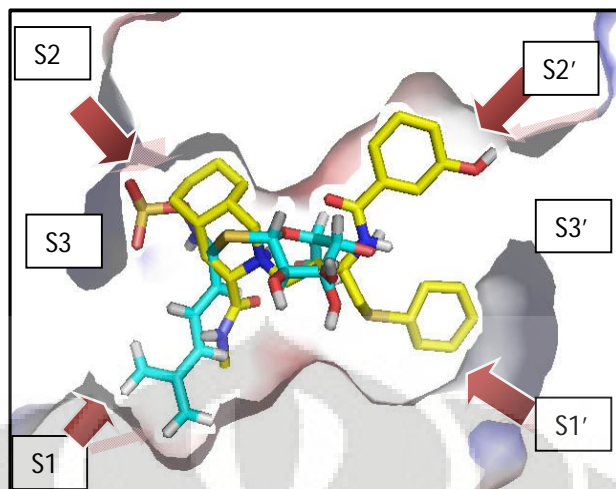
Seperti halnya Quercetin 7,4'-diglucoside yang memiliki sisi pengikatan pada bagian penutup dari Protease HIV-1, 4-Methylpentyl glucosinolate pun memiliki ikatan pada residu penutup yaitu Gly 48, Gly 148 dan Ile 50. Sehingga ia mampu menghambat proses pembukaan dari enzim ini. Selain itu, gugus hidroksi nomor 21 dari 4-Methylpentyl glucosinolate memiliki ikatan terhadap residu katalitik pada Asp 25, dan Asp 25' yang merupakan residu katalitik utama dari Protease HIV-1 ini. Adanya pengikatan pada Asp25 dan Asp 25' ini menyebabkan kemampuan katalitik dari Protease HIV-1 ini menjadi hilang.



[Sumber: Olahan penulis PyMOL]

Gambar 4.23 Ikatan hidrogen yang terjadi antara 4-Methylpentyl glucosinolate (*sticks*) dengan beberapa residu asam amino (*lines*) pada protease HIV-1

4-Methylpentyl glucosinolate menempati sisi aktif S1, S2, S3 dari Protease HIV-1. Pada gambar 4.17 terlihat perbandingan sisi pengikatan antara Nelfinavir dan 4-Methylpentyl glucosinolate. Dimana nelfinavir hampir menempati dari semua sisi aktif dari Protease HIV-1.



[Sumber: Olahan penulis dengan PyMOL]

Gambar 4.24 Perbandingan hasil penambatan 4-Methylpentyl glucosinolate (biru) terhadap Nelfinavir (kuning)

## BAB 5

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil *virtual screening* dengan menggunakan *database* Tanaman Obat di Indonesia terhadap target protease HIV-1 diperoleh 10 kandidat senyawa kimia yang berasal dari tanaman di Indonesia yang diharapkan dapat menjadi calon kandidat obat untuk inhibitor Protease HIV-1. Senyawa kimia tersebut antara lain Quercetin 7,4'-diglucoside, 4-Methylpentyl glucosinolate, Quercetin 3-rutinoside, Glucoraphenin, Glucobrassicin, Luteolin 3'-methylether7-manosyl-(1-2)alloside, Apigenin-7-O-(6"-O-p-coumaroylglucoside), Cyanidin 7(3-glucosil-6-malonylglucoside)4'-glucoside, Sinalbin dan 4-Methylsulfinyl butyl glucosinolate dengan kisaran GoldScore dari 86.2803 sampai 95.6252

#### 5.2 Saran

1. Untuk selanjutnya, penelitian ini dapat dilanjutkan dengan menggunakan AutoDock ataupun AutoDock Vina untuk mengetahui energi afinitas ikatan serta konstanta inhibisi.
2. Dilakukan uji *in vitro* untuk mengetahui aktivitas senyawa-senyawa hasil *virtual screening* terhadap penghambatannya pada protease HIV-1.

## DAFTAR ACUAN

- AIDS InfoNet*. (2010). Diakses 20 November 2010 dari The AIDS InfoNet: <http://www.aidsinfonet.org>
- Alvarez, Juan., Shoichet, Brian. (2005). *Virtual Screening in Drug Discovery*. CRC PRESS Taylor & Francis Group.
- Anderson, *et al.*, (2003). Optimization of P1-P3 groups in symmetric and asymmetric HIV-1 Protease Inhibitor. *Eur. J Biochem (Vol 270, hal 1746-1758)*
- Ashraf, B., & Wong, H. (2002). HIV-1 protease: mechanism and drug discovery. *Organization of Biomolecular Chemistry, 1, 5-14*
- Babel*. (2010). Diakses 24 November 2010 dari *Main Page Open Babel*. <http://openbabel.org>
- Beob Yu, *et al.* (2007). Effects of Triterpenoids and Flavonoids Isolated from *Alnus firma* on HIV-1 Viral enzym. *Arch Pharm, 30, 820-826*.
- Berman, H., *et al.* (2000). The protein data bank. *Nucleic Acids Research, 28, 235-242*. [www.pdb.org](http://www.pdb.org)
- Bertha, Akma. (2010). *Pembuatan Basis Data Struktur Tiga Dimensi Senyawa Kimia dari Tanaman Obat di Indonesia*. FMIPA:Universitas Indonesia.
- Breccia, P., *et al.* (2003). Dimerization inhibitors of HIV-1 protease based on a bicyclic guanidium subunit. *Journal of Medicinal Chemistry, 46, 5196-5207*.
- Brinkworth, Ross I., Stoermer, Martin J., & Fairlie, David P. (1992). Flavones are inhibitor for HIV-1 Proteinase. *Biochemical and Biophysical Research Communications (Vol 188 no.2, hal 631-637)*.
- Chen, S., Wan, M., & Loh, B. (1996). Active constituent againts HIV-1 protease from *Garcinia mangostana*. *Planta Medica, 62 (2), 381-382*.
- Currently approved drugs for HIV: a comparative chart*. (22 Oktober 2008). Diakses 8 September 2010, dari AIDS MEDS: [www.aidsmeds.com](http://www.aidsmeds.com)
- Dimmock, N., Easton, A., & Leppard, K. (2007). *Introduction to Modern Virology* (Ed. ke-6, hal. 310-339). Oxford: Blackwell Publishing.
- Danielson, C., & Hope, T. (2009). Imaging of HIV/host protein interaction Dalam P. Spearman, & E. Freed, *Current Topics in Microbiology and Immunology: HIV Interactions with Host Cell Protein* (Vol. 339, hal. 103- 124). Verlag: Springer

- Figure for: twenty years of therapy for HIV-1 infection.* (2003). Diakses 21 Januari 2010, dari Medscape: <http://www.medscape.com/content>
- Fight AIDS @ Home: The AIDS crisis.* (2005). Diakses 27 September 2010, dari Fight AIDS @ Home: <http://fightaidsathomw.scripps.edu/crisis.html>
- Gareth, Thomas. (2003). *Fundamental of Medicinal Chemistry*. Inggris: Wiley
- GOLD support-scientific FAQs.* (2010). Diakses 18 Agustus 2010, dari The Cambridge Crystallographic Data Centre: [http://www.ccdc.cam.uk/products/life\\_sciences/faqs](http://www.ccdc.cam.uk/products/life_sciences/faqs)
- GOLD-protein ligand docking.* (2010). Diakses 18 Agustus 2010, dari The Cambridge Crystallographic Data Centre: [http://www.ccdc.cam.uk/products/life\\_sciences/GOLD](http://www.ccdc.cam.uk/products/life_sciences/GOLD)
- Goren, *et al.* (2002). *Antiviral composition derived from Allium cepa and therapeutic use thereof.* United States Patent.
- Han, *et al.* (1995). *Extracted Substance Having Anti HIV Activity.* United States Patent.
- Harvey, *et al.* (1997). Structure-based design of non-peptidic HIV protease inhibitor: the sulfonamide-substitued cyclooctylpyranones. *Journal of Medicinal Chemistry*, 1149-1164.
- HIV Fact. (2001). Diakses tanggal 23 Agustus 2010, dari HIV Fact: <http://uhavax.hartford.edu/bugl/hiv.htm>
- Holtje, HD., *et al.*, (2008). *Virtual Screening and Docking*. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA
- Hou, Tingjun., Xu, Xiaojie. (2004). Recent Development and Application of Virtual Screening in Drug Discovery: An Overview. *Current Pharmaceutical Design*, 2004, 10, 1011-1033.
- Huang, S., & Zou, X. (2007). Efficient molecular docking of NMR structures: application to HIV-1 protease. *Protein Science*, 16, 43-51.
- Irwin, J., *et al.* (2009). Automated docking screens: a feasibility study. *Journal of Medicinal Chemistry*, 52, 5712-5720
- Jiang, *et al.* (2010). Isolation of adenosine, iso-sinensetin and dimethylguanosine with antioxidant and HIV-1 protease inhibiting activities from fruiting bodies of *Cordyceps militaris*. *Phytomedicine PHYMED-50871*
- Judd, D., *et al.* (2001). Polyoximetallate HIV-1 protease inhibitors: a new mode of protease inhibition. *Journal of American Chemical Society*, 123, 886-897.



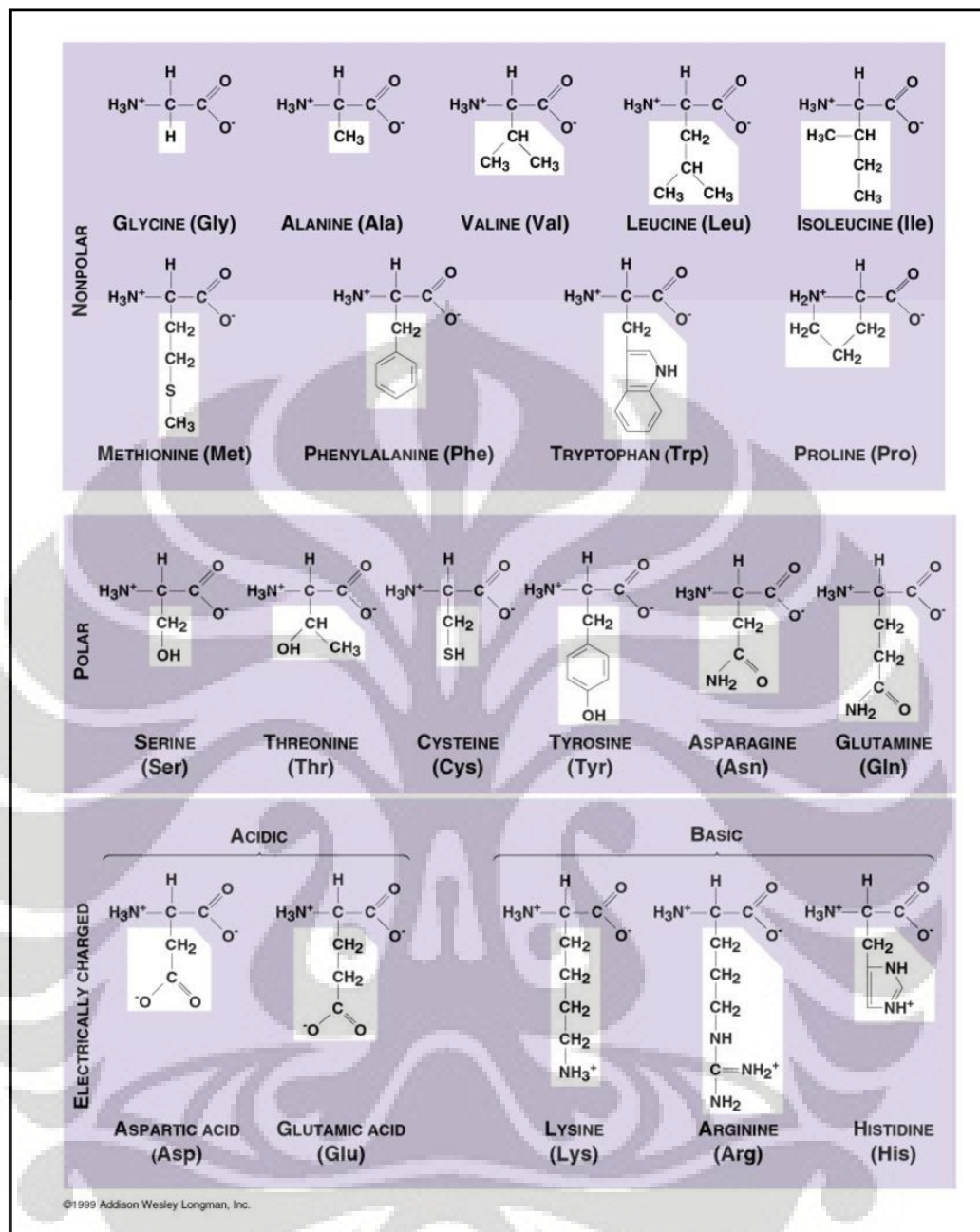
- Kovalesky, A., *et al.* (2006). Ultra-high resolution crystal structure of HIV-1 protease mutant reveals two binding sites for clinical inhibitor TMC114. *Journal of Molecular Biology*, 363 (1), 161-173
- Lakhanpal, Parul., & Rai, Deepak Kumar. (2007). Quercetin: A Versatile Flavonoid. *Internet Journal of Medical Update*, Vol. 2, No. 2, Jul-Dec 2007
- Leach, A., Shoicet, B., & Peishoff, C. (2006). Docking and scoring. *Journal of Medicinal Chemistry*, 49 (20), 5851-5855.
- Kaldor, S., *et al.* (1997). Viracept (nelfinavir mesylate, AG1343): A potent, orally bioavailable inhibitor. *Journal of medicinal Chemistry*, 40, 3979-3985.
- Kitchen, D., Decornez, H., Furr, J., & Bajorath, J. (2004). Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and application. *Nature Reviews*, 4, 935-949.
- Magadula, Joseph J., & Tewtrakul, Supinya. (2009). Anti-HIV-1 protease activities of crude extracts of some *Garcinia* species growing in Tanzania. *African Journal of Biotechnology Vol. 9 (12)*, pp. 1848-1852
- Nance, Christina L., Siwak, Edward B., Shearer, MD. (2009). Preclinical development of the green tea catechin, epigallocatechin gallate, as an HIV-1 therapy. *J Allergi Clin Immunol 2009*, 123, 459-465.
- Nervall, M., *et al.* (2007). Predicting binding modes from free energy calculations. *Journal of Medicinal Chemistry*, 51, 2657-2667.
- Nurfitriyana, Farida. (2010). *Penambatan Molekuler Beberapa Senyawa Xanton dari Tanaman Garcinia mangostana Linn pada Protease HIV-1*. FMIPA: Universitas Indonesia.
- Pandit, Deepangi., So, Sung-Sau., Sun, Hongmao. (2005). Enhancing Specificity and Sensitivity of Pharmacophore-Based Virtual Screening by Incorporating Chemical and Shape Features – A Case Study of HIV Protease Inhibitors. *Journal Chemical Inf Model 2006*, 46, 1236-1244
- Patick, A., & Potts, K. (1998). Protease inhibitor as antiviral agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 11 (4), 614-627
- Perryman, Alexander L., Lin, Jung-Hsin., & McCammon, J Andrew. (2006). Restrained Molecular Dynamics Simulations of HIV-1 Protease: The First Step in Validating a New Target for Drug Design. *Biopolymers*, 82, 272-284



- Price, Silvia Anderson., Wilson, Lorraine McCarty (2006). *Patofisiologi: Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit* (Ed. Ke-6, hal 224-241). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC
- PubChem Compound*. (n.d.). Diakses 2 Oktober 2010, dari NCBI: [www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)
- Schramm, Derek D., & German, J Bruce. (1998). Potential effects of flavonoids on the etiology of vascular disease. *J. Nutr. Biochem.* 9:560–566.
- Scott, Walter RP., & Schiffer, Celia A. (2000). Curling of Flap Tips in HIV-1 Protease as a Mechanism for Substrate Entry and Tolerance of Drug Resistance. *Structure, Vol. 8, 1259–1265*
- Skulnick, H., *et al.* (1997). Structure-based design of non-peptidic HIV protease inhibitors: the sulfonamide-substitued cyclooctylpiranones. *Journal of Medicinal Chemistry*, 40, 1149-1164.
- Setiawan, A. (2009). Analisis *in silico* inhibisi enzim sitokrom P450 3A4 oleh senyawa golongan inhibitor HIV protease dengan teknik *molecular docking*. 1-136.
- Shityakov, Sergey., & Dandekar, Thomas. (2010). *Lead expansion and virtual screening of Indinavir derivate HIV-1 Protease inhibitors using pharmacophoric-shape similarity scoring function*. Departemen of Bioinformatics: University of Wurzburg.
- Sriphanlop, Pathu. (2009). HIV-1 Protease: A Target for AIDS Therapy. *Molecules of the Quarter: UCLA Department of Chemistry and Biochemistry*.
- Sweetnam, Paul M., *et al.*, (1995). Chapter 17 Mass Ligand Screening as a Tool for Drug Discovery and Development. *Burgers Medicinal Chemistry and Drug Discovery 5<sup>th</sup> Edition Volume 1: Principles and Practice*.
- Tiana, G., *et al.* (2005). Design of a folding inhibitor of the HIV-1 protease. *Molecular Simulation*, 31 (11), 765-771.
- Tjay, T. H., & Rahardja, K. (2007). *Obat-obat penting: Khasiat, Penggunaan, dan Efek-Efek Sampingnya* (Ed. Ke-6, hal. 116-118). Jakarta: Elex Media Komputindo.
- Torbet, Bruce E. (2010). *Virtual Screening for HIV Protease Inhibitors: A Comparison of AutoDock 4 and Vina*. Plos One.
- Tsai, C. S. (2002). *An Introduction to Computational Biochemistry* (hal. 1-45). New York: Wilwy-Liss Inc.

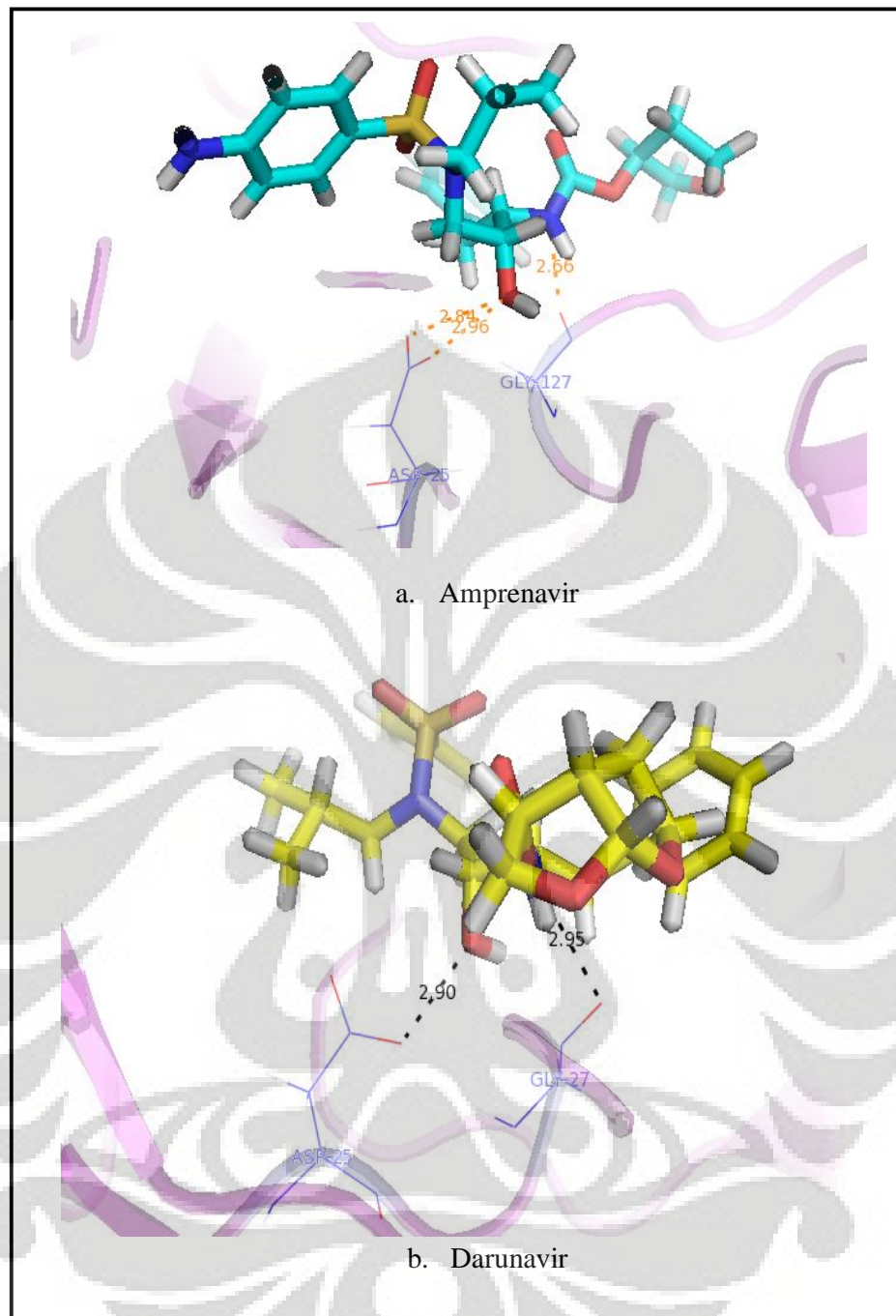
- Wink, M. (2006). *An Introduction to Molecular Biotechnology* (hal. 387-390). Weinheim: WILY-VCH Verlag GmbH & Co.
- Wlodawer, A., & Vondrasek, J. (1998). Inhibitors of HIV-1 protease: a major success of structure-assisted drug design. *Annual Revision of Biophysic and Biomolecular Structure*, 27, 249-284.
- Wood, J. (1998). HIV protease inhibitor. *The New England Journal of Medicine*, 1281-1292.



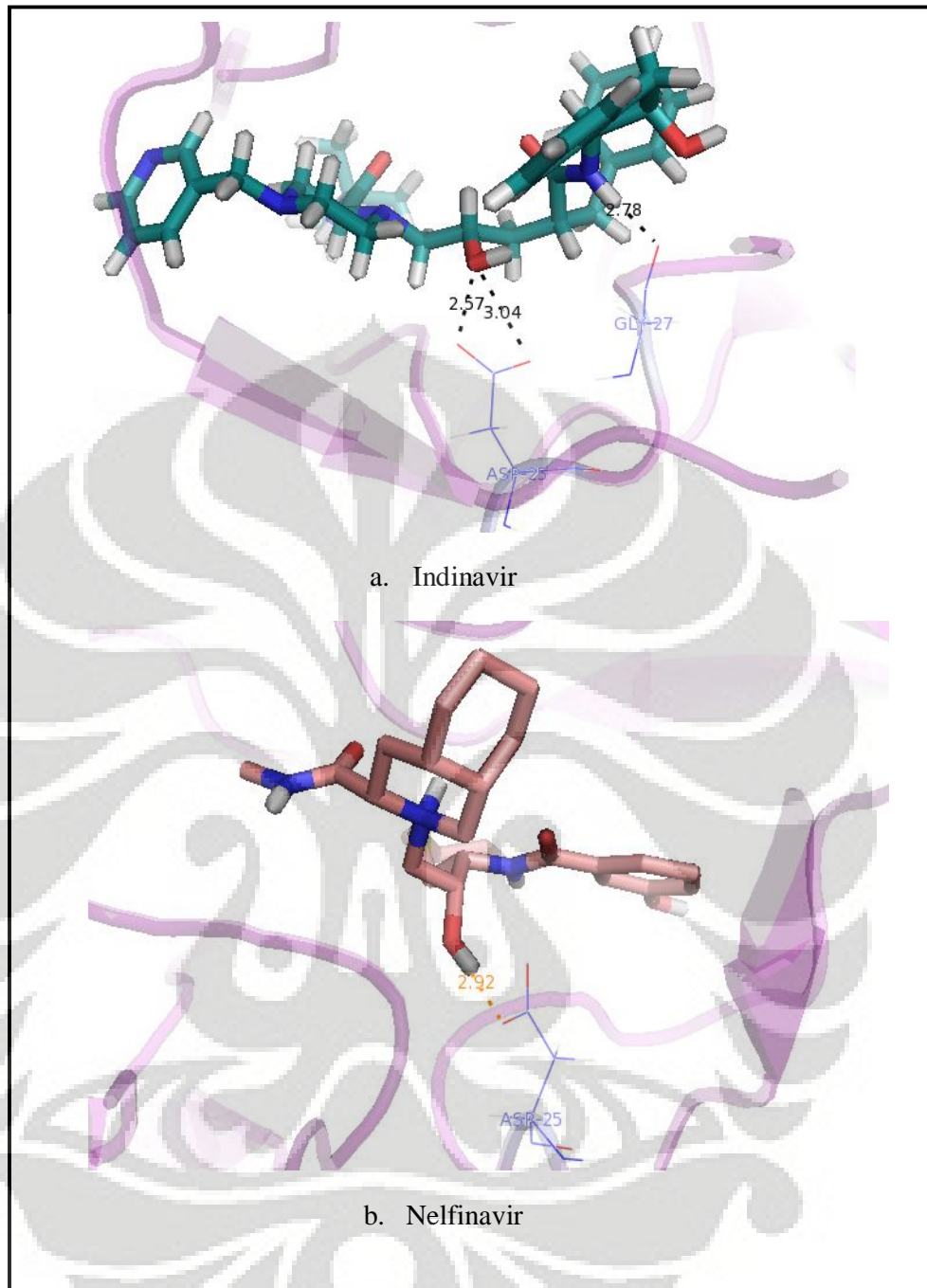


[Sumber: Nelson & Cox, 2001]

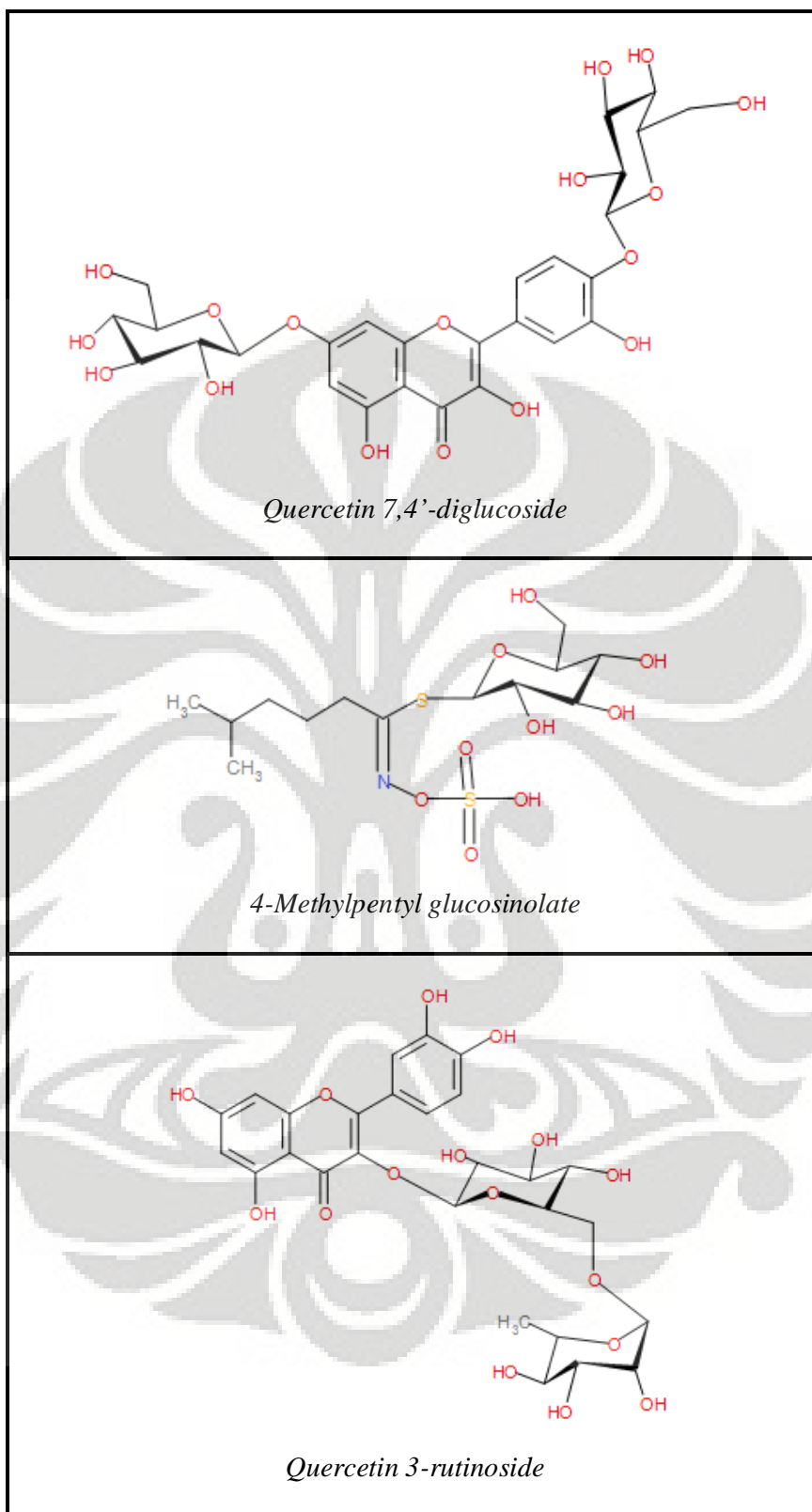
Gambar 2.11 Dua puluh jenis asam amino penyusun protein



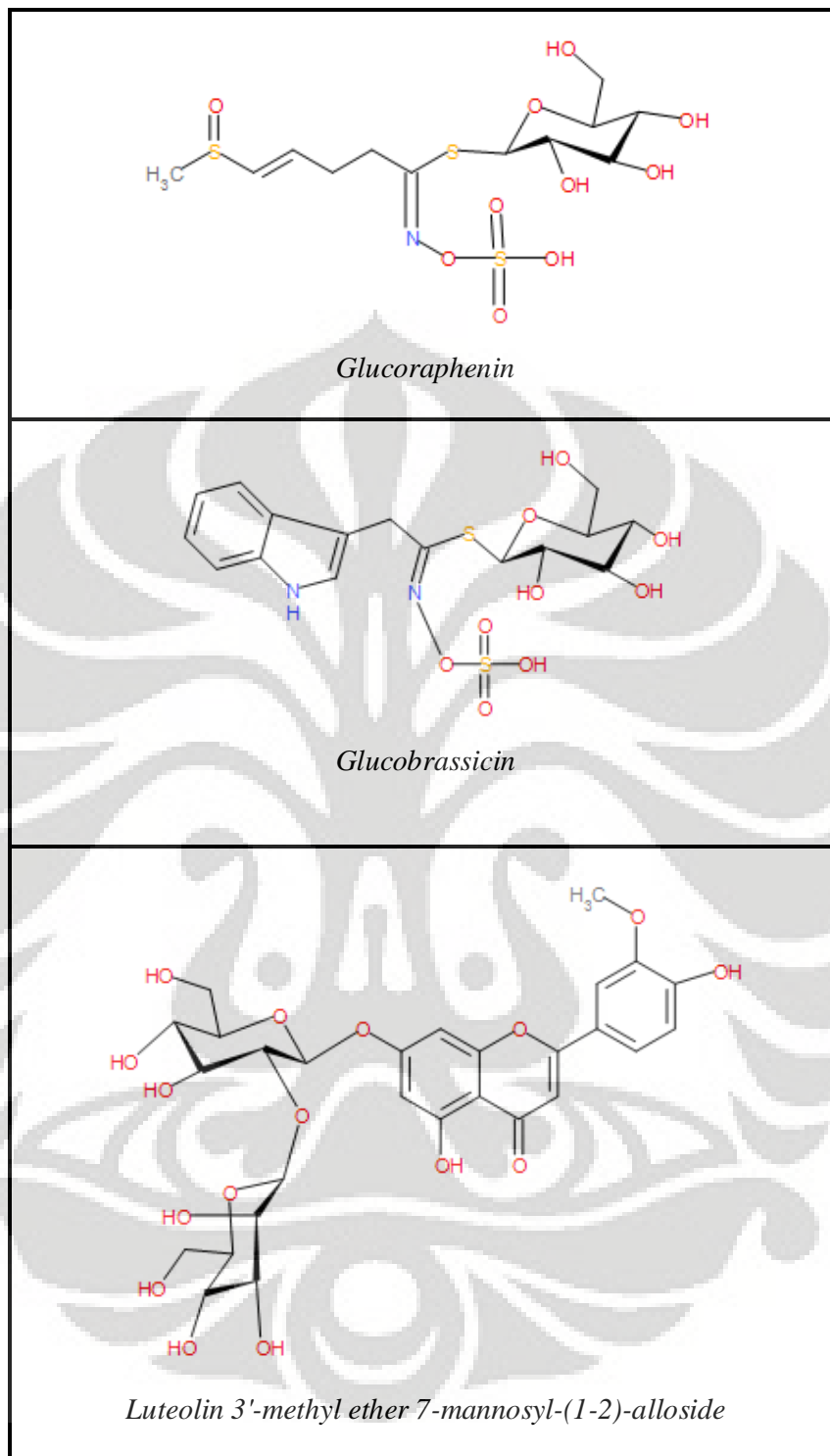
Gambar 4.5 Konformasi Kontrol Positif terhadap Protease HIV-1



Gambar 4.6 Konformasi Kontrol Positif terhadap Protease HIV-1

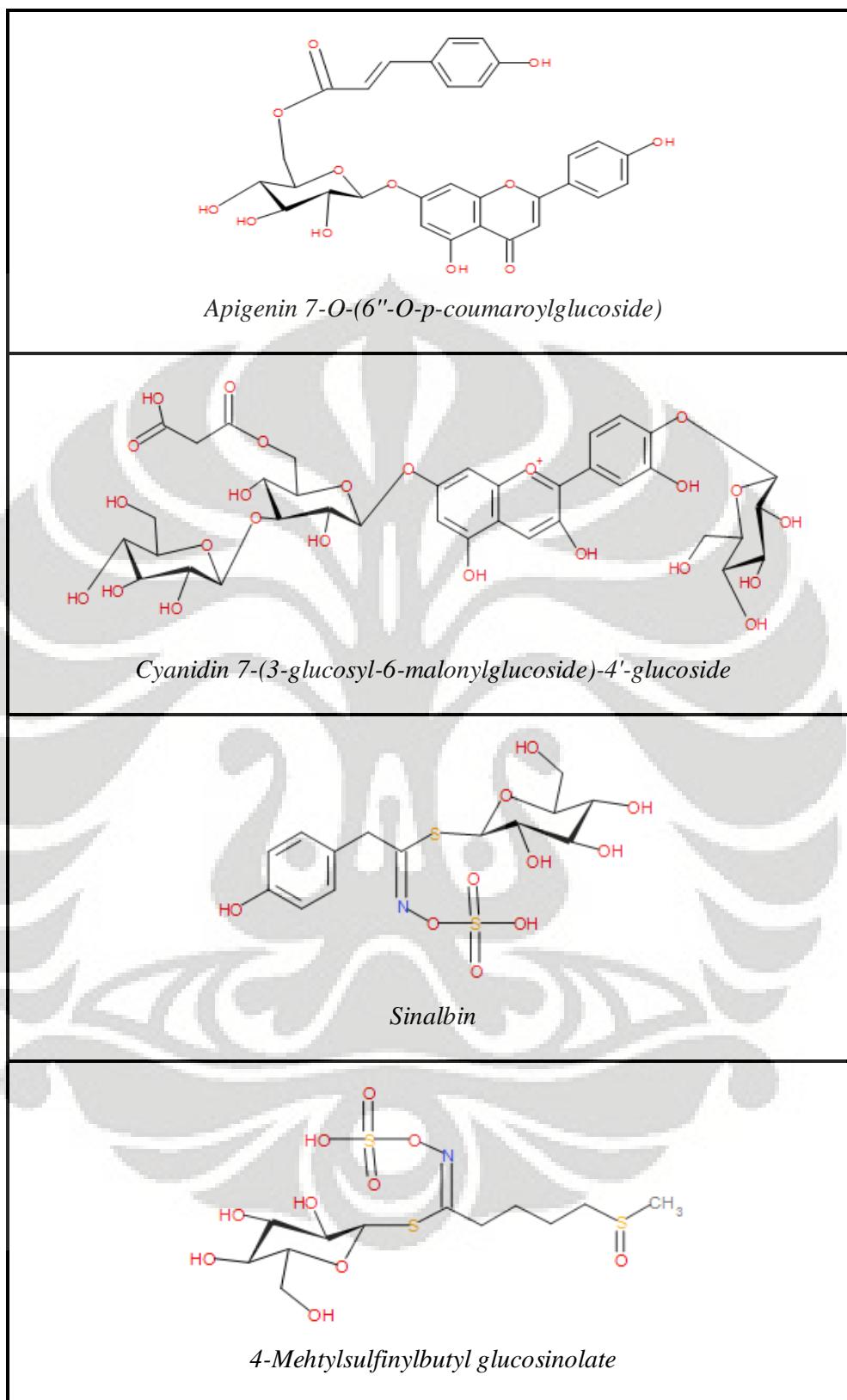


Gambar 4.8 Rumus struktur dari kandidat obat hasil *virtual screening*

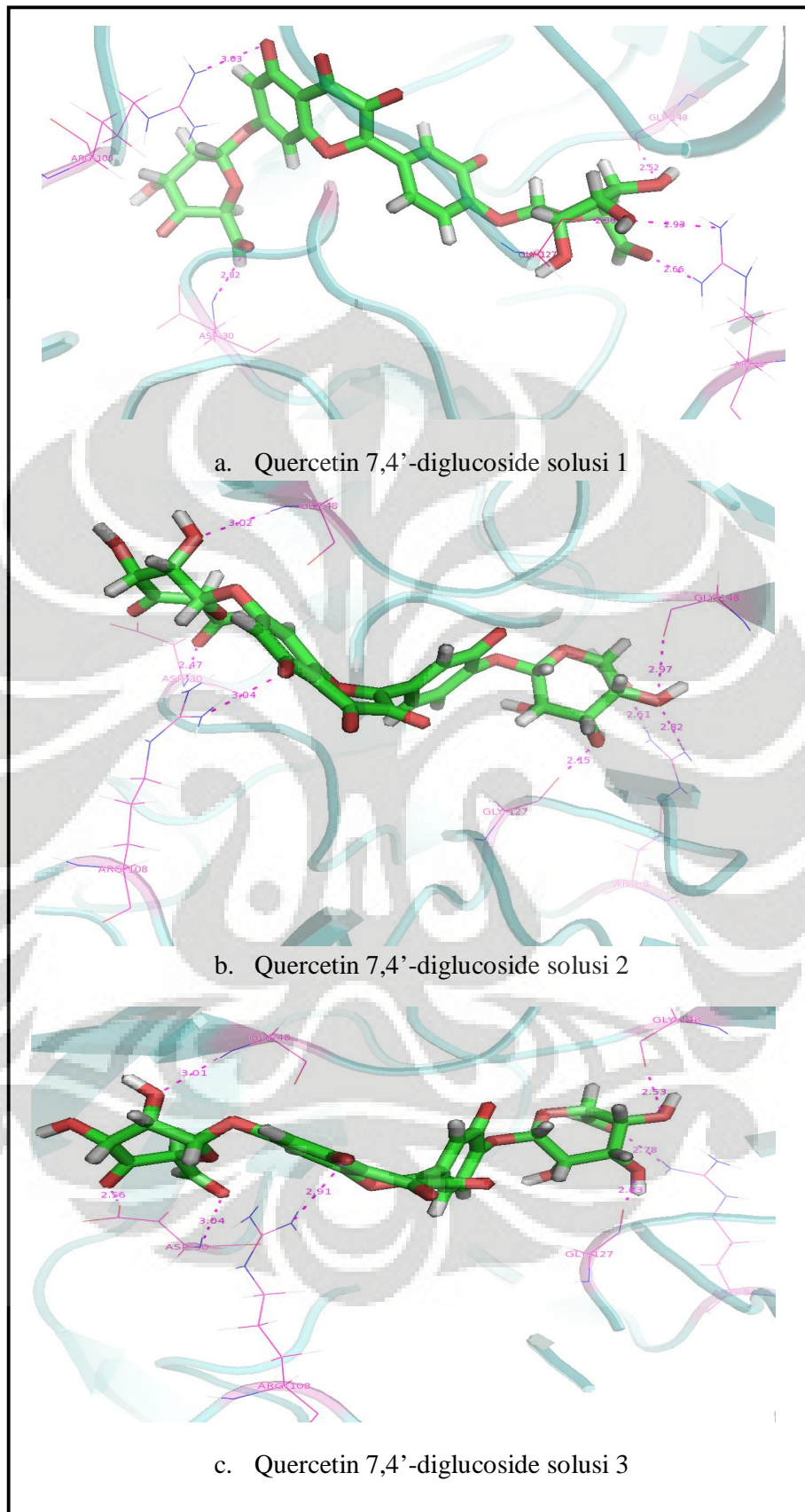


Gambar 4.9 Rumus struktur dari kandidat obat hasil *virtual screening*

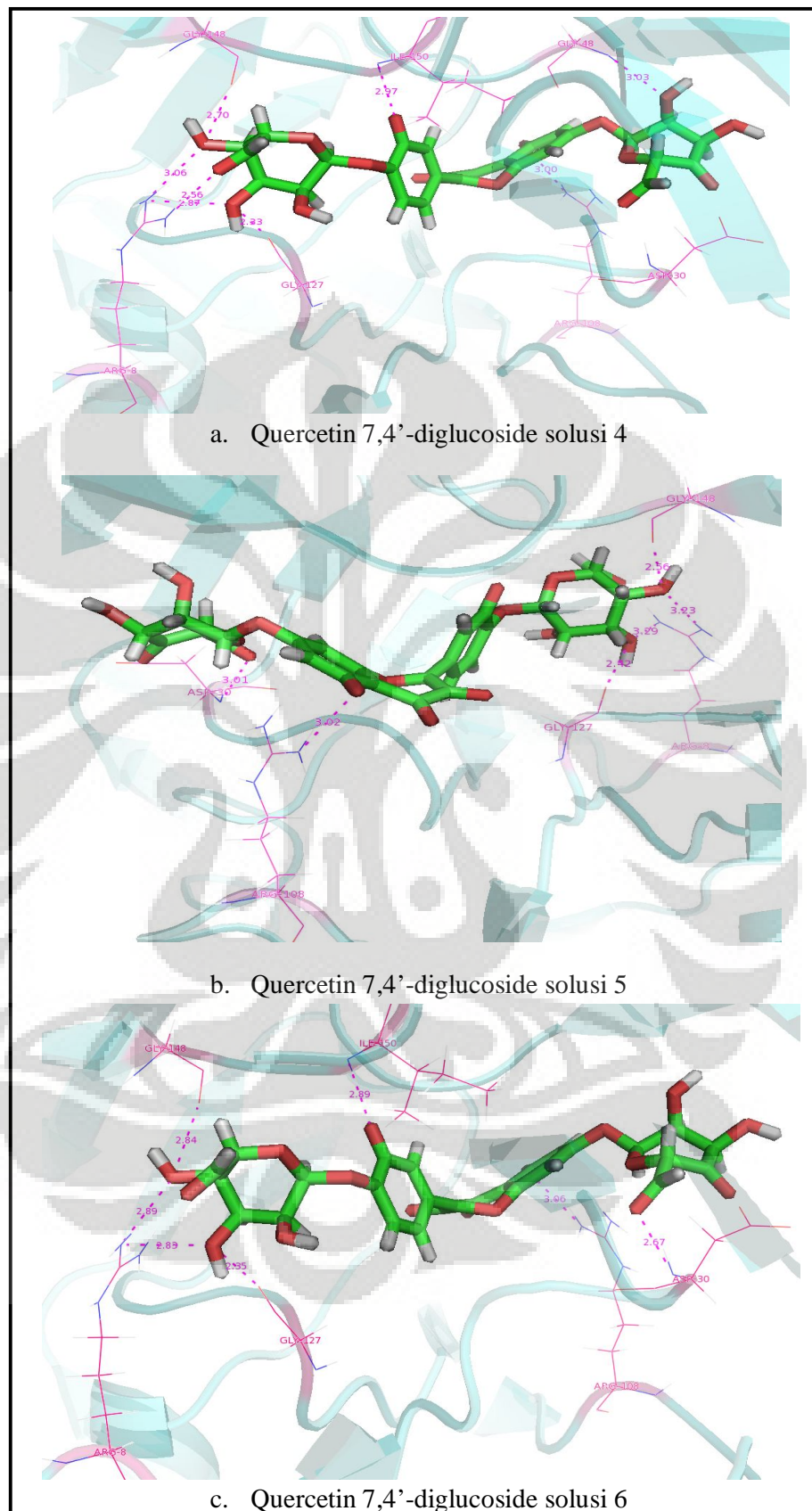




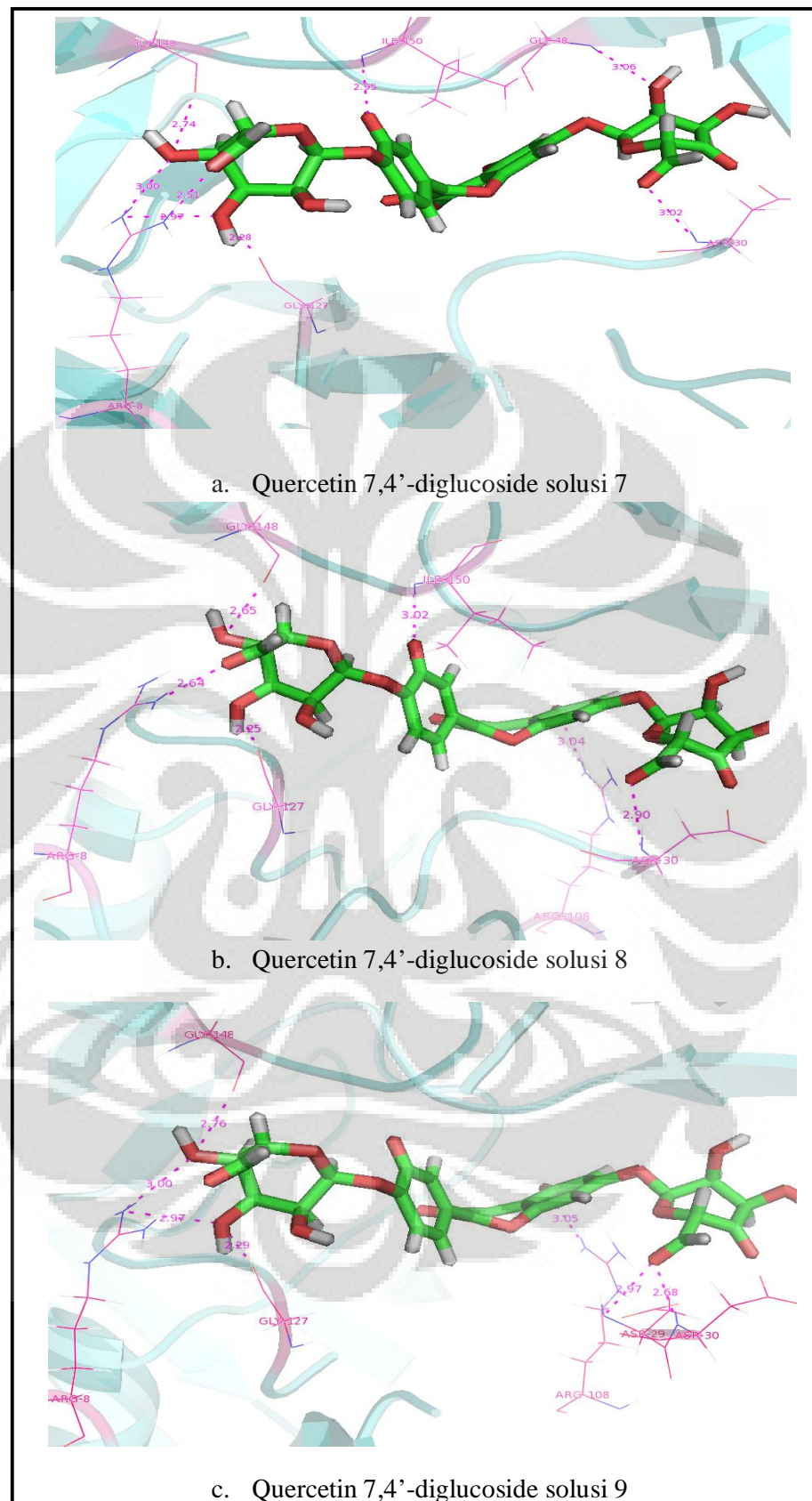
Gambar 4.10 Rumus struktur dari kandidat obat hasil *virtual screening*



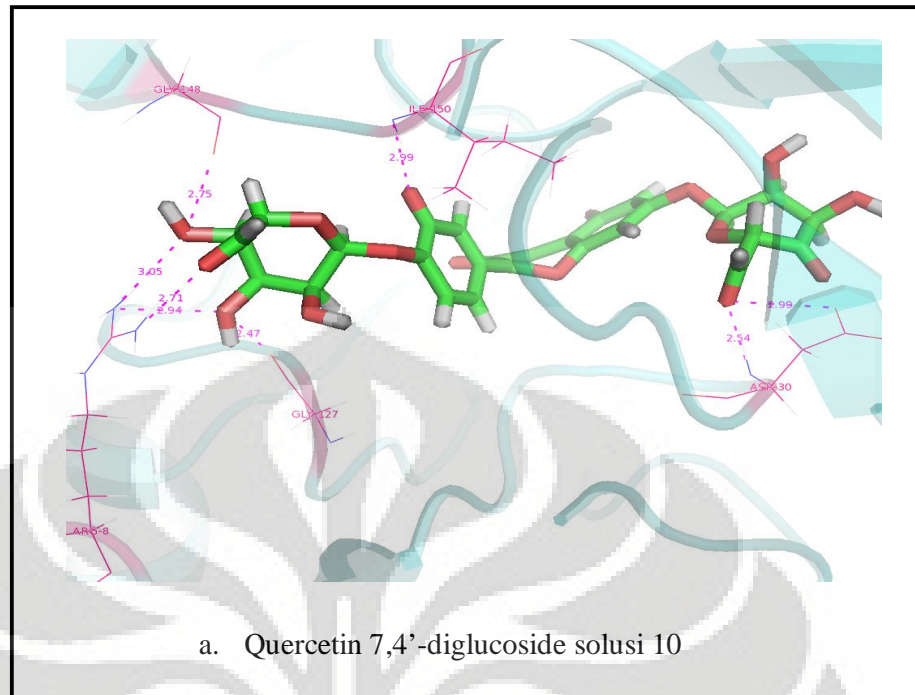
Gambar 4.12 Konformasi Quercetin 7,4'-diglucoside pada solusi penambatan



Gambar 4.13 Konformasi Quercetin 7,4'-diglucoside pada solusi penambatan

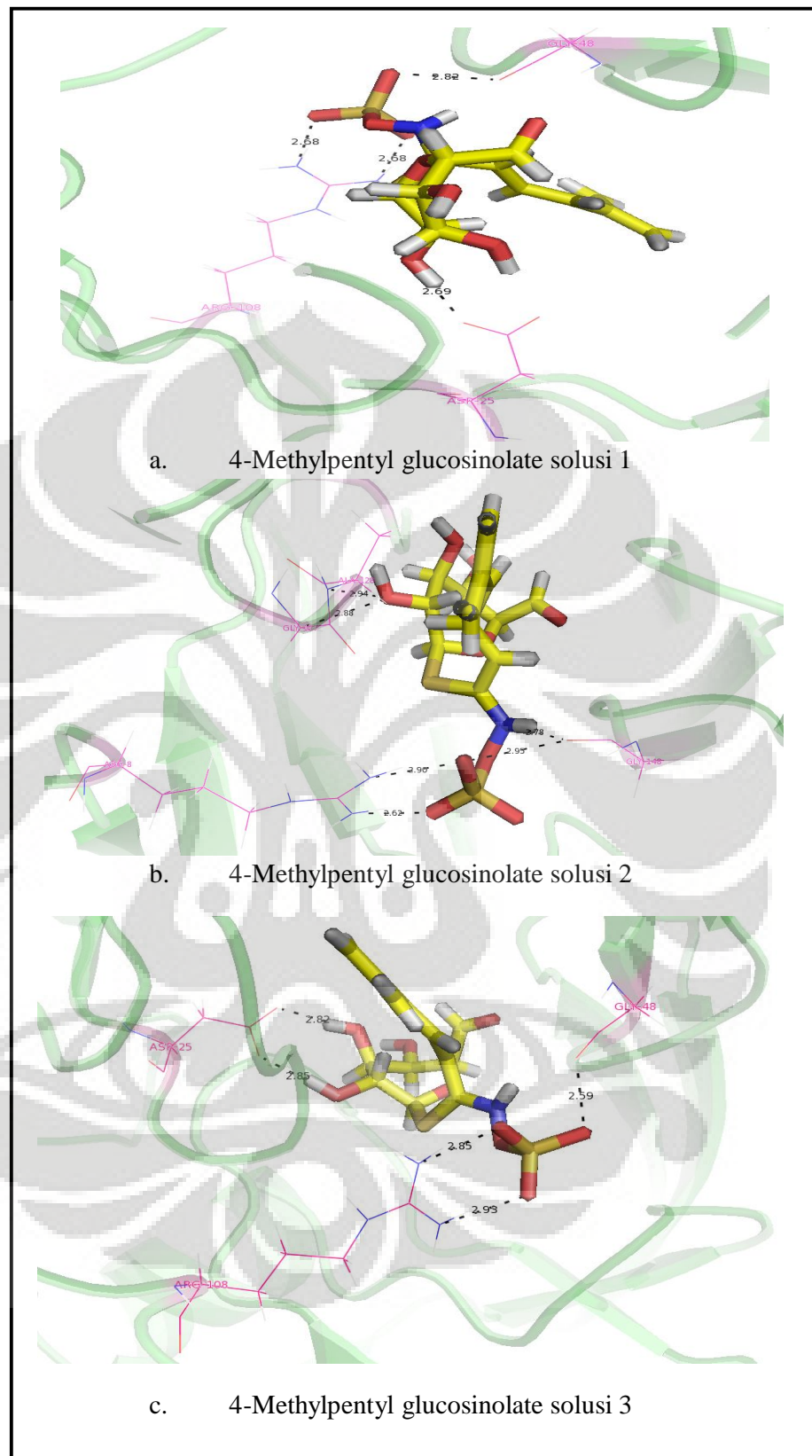


Gambar 4.14 Konformasi Quercetin 7,4'-diglucoside pada solusi penambatan



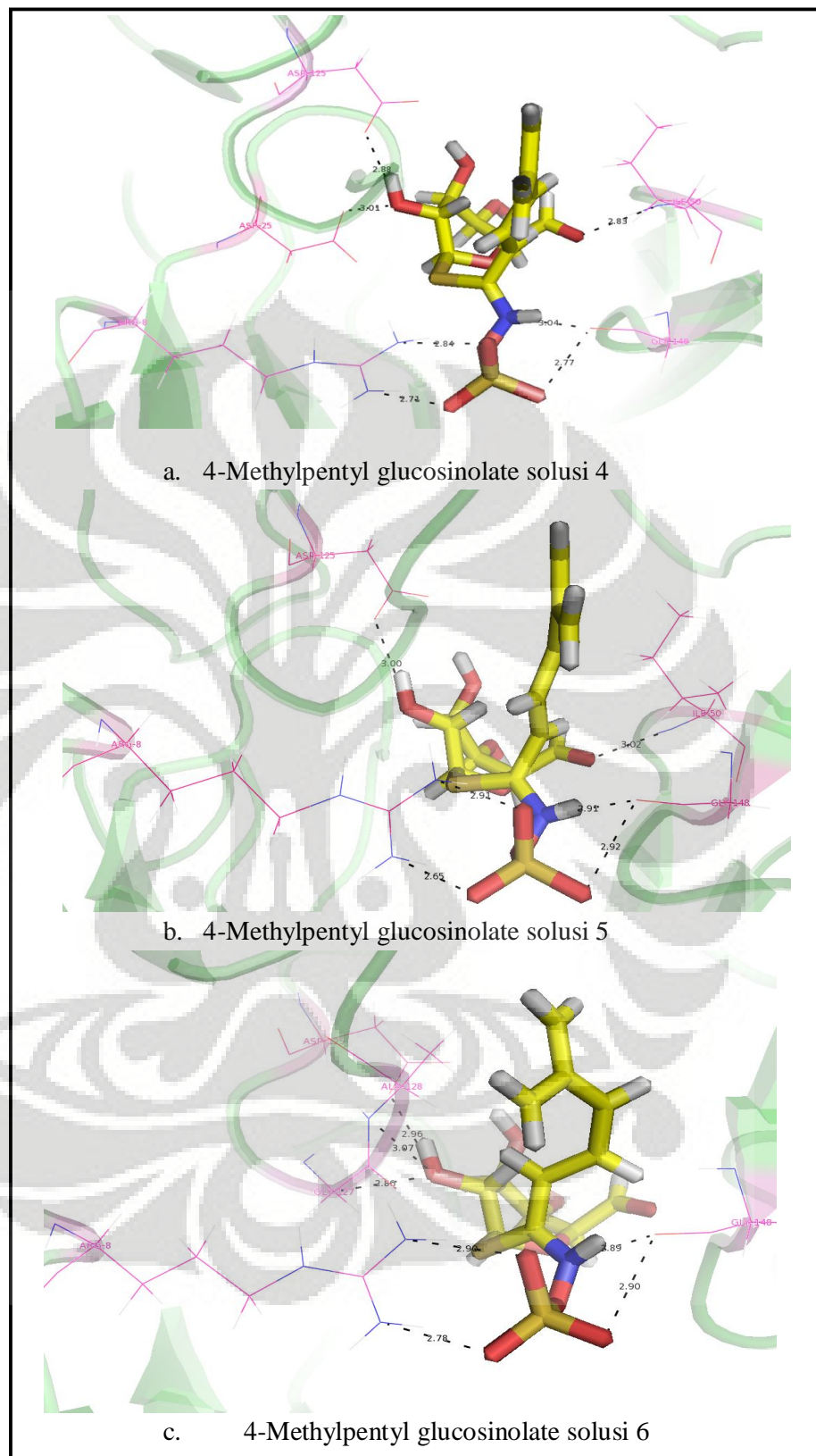
Gambar 4.15 Konformasi Quercetin 7,4'-diglucoside pada solusi penambatan



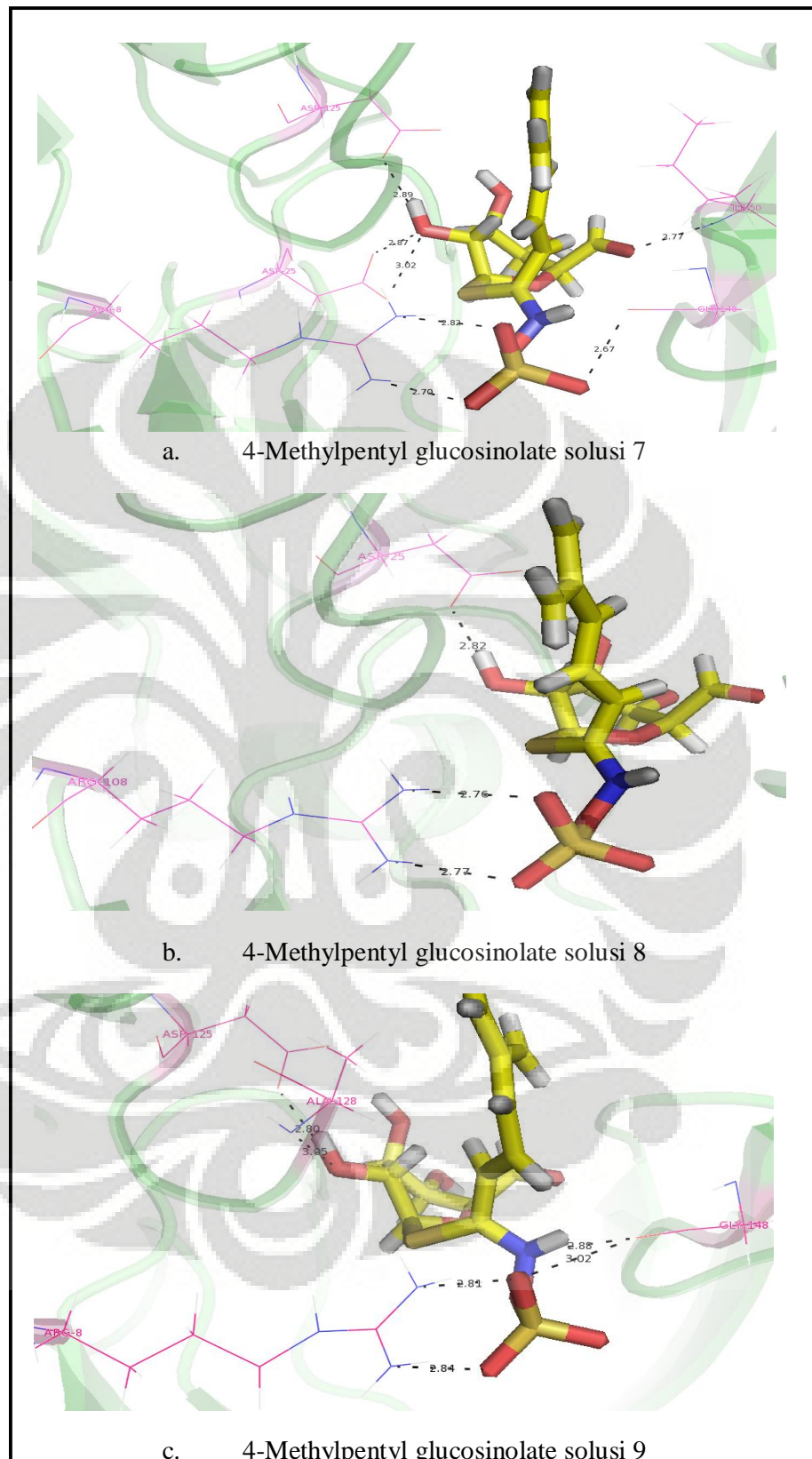


Gambar 4.19 Konformasi 4-Methylpentyl glucosinolate pada solusi penambatan

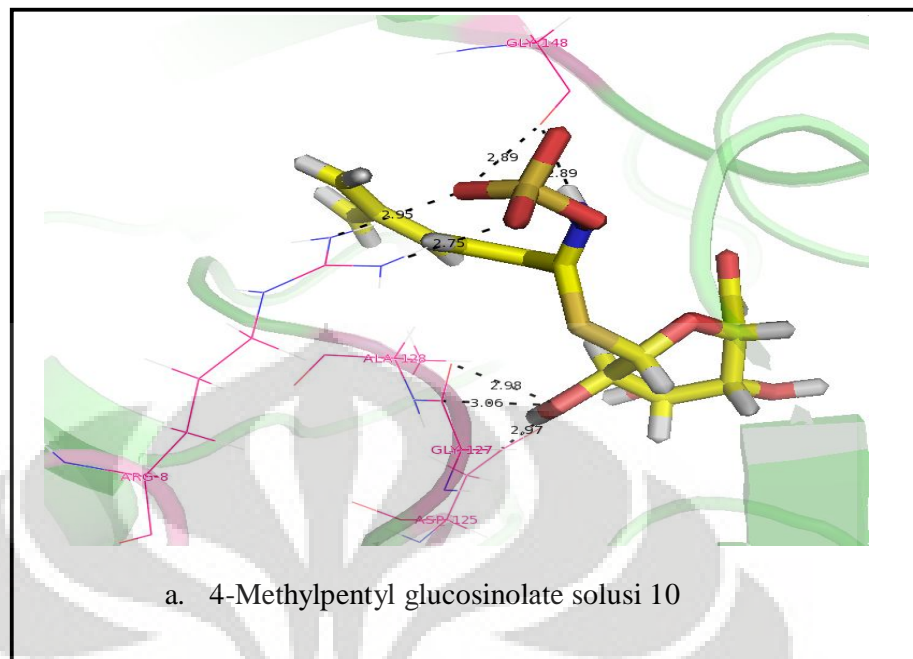




Gambar 4.20 Konformasi 4-Methylpentyl glucosinolate pada solusi penambatan



Gambar 4.21 Konformasi 4-Methylpentyl glucosinolate pada solusi penambatan



Gambar 4.22 Konformasi 4-Methylpentyl glucosinolate pada solusi penambatan

Tabel 4.4 Hasil *Virtual Screening Database* 1-2 dengan menggunakan  
*Database* Tanaman Obat di Indonesia

Peringkat	<i>Database 1</i>	GoldScore	<i>Database 2</i>	GoldScore
1	Quercetin 7,4'-diglucoside	97.1453	Quercetin 7,4'-diglucoside	90.2247
2	4-Methylpentyl glucosinolate	94.9415	4-Methylpentyl glucosinolate	88.9776
3	Cyanidin 3-laminaribioside	90.941	Prunin 6''-p-coumarate	88.1364
4	Luteolin 3'-methylether 7-manosyl-(1-2)alloside	89.55	Quercetin 3-rutinoside	84.0524
5	Glucoraphenin	88.5116	Quercetin 3-(6''-galloyl galactoside)	80.9502
6	5-Methylthiopentyl Glucosinolate	88.0726	5 Hexenyl-glucosinolate	80.7033
7	Apigenin-7-O (6''-O-p-coumaroylglucoside)	87.4217	Apigenin-7-O (6''-O-p-coumaroylglucoside)	80.4801
8	4-Methylsulfinyl butyl glucosinolate	86.8379	Sinalbin	80.3885
9	Cyanidin 7(3-glucosil-6-malonylglucoside)4'-glucoside	86.585	4-Hidroxybenzyl Glucosinolate	79.2153
10	Glucobrassicin	85.6612	n-hexyl glucosinolate	78.5105

Tabel 4.5 Hasil *Virtual Screening Database 3-4* dengan menggunakan  
*Database Tanaman Obat di Indonesia*

Peringkat	Database 3	GoldScore	Database 4	GoldScore
1	Quercetin 7,4'-diglucoside	96.4945	4-Methylpentyl glucosinolate	95.4898
2	4-Methylpentyl glucosinolate	94.4215	Quercetin 7,4'-diglucoside	95.4097
3	Cyanidin 7(3-glucosil-6-malonylglucoside)4'-glucoside	91.6334	Quercetin 3-rutinoside	91.4935
4	Glucoraphenin	90.3151	Luteolin 3'-methylether 7-manosyl-(1-2)alloside	91.0296
5	Apigenin-7-O (6"-O-p-coumaroylglucoside)	89.186	Glucobrassicin	89.4524
6	Cyanidin 3-laminaribioside	87.0346	Glucoraphenin	89.2365
7	Quercetin-3-rutinoside	87.0346	7-Methylsulfinylheptyl Glucosinolate	88.8722
8	7-Methylsulfinylheptyl Glucosinolate	86.8085	5-Methylthiopentyl Glucosinolate	88.8023
9	Glucobrassicin	86.7713	Apigenin-7-O (6"-O-p-coumaroylglucoside)	88.2298
10	Kaempferol 3(6,G-malonylmeo hesperidoside)	86.4235	Sinalbin	88.1272

Tabel 4.6 Hasil *Virtual Screening Database 5-6* dengan menggunakan  
*Database Tanaman Obat di Indonesia*

<b>Peringkat</b>	<b>Database 5</b>	<b>GoldScore</b>	<b>Database 6</b>	<b>GoldScore</b>
1	Quercetin 7,4'-diglucoside	96.5314	Cyanidin 7(3-glucosil-6-malonylglucoside)4'-glucoside	102.0813
2	4-Methylpentyl glucosinolate	96.3679	4-Methylpentyl glucosinolate	95.6437
3	4-Methylsulfinyl butyl glucosinolate	93.2728	Quercetin 7,4'-diglucoside	95.5565
4	Prunin 6''-p-coumarate	91.7403	Quercetin-3-rutinoside	91.4198
5	Luteolin 3'-methylether 7-manosyl-(1-2)alloside	90.313	Glucoraphenin	91.1505
6	Quercetin 3-rutinoside	89.9612	Glucobrassicin	90.5181
7	Glucoraphenin	89.4828	Luteolin 3'-methylether 7-manosyl-(1-2)alloside	89.9224
8	Glucobrassicin	88.7591	Quercetin 3-(6''-galloyl galactoside)	87.7319
9	Quercetin 3-(6''-galloyl galactoside)	88.2896	Sinalbin	86.8129
10	Cyanidin 7(3-glucosil-6-malonylglucoside)4'-glucoside	86.9335	Kaemferol 3-glucosyl-(1-3) rhamnosyl-(1-6)-galactoside	86.5008



Tabel 4.7 Hasil *Virtual Screening Database 7-8* dengan menggunakan  
*Database Tanaman Obat di Indonesia*

Peringkat	<i>Database 7</i>	GoldScore	<i>Database 8</i>	GoldScore
1	Quercetin 7,4'-diglucoside	96.1827	Quercetin 7,4'-diglucoside	97.0699
2	4-Methylpentyl glucosinolate	94.3816	Cyanidin 7(3-glucosil-6-malonylglucoside)4'-glucoside	94.5919
3	Luteolin 3'-methylether 7-manosyl-(1-2)alloside	92.6449	4-Methylpentyl glucosinolate	94.0525
4	Quercetin-3-rutinoside	92.4424	Glucobrassicin	92.0539
5	4-Methylsulfinyl butyl glucosinolate	92.0939	4-Methylsulfinyl butyl glucosinolate	89.9095
6	Glucoraphenin	91.1214	Luteolin 3'-methylether 7-manosyl-(1-2)alloside	88.7797
7	Apigenin-7-O (6"-O-p-coumaroylglucoside)	88.0896	3-Methylthiopentyl Glucosinolate	87.5983
8	Sinalbin	88.018	7-Methylsulfinylheptyl Glucosinolate	87.4738
9	Isovitexin 2"-O(8'''-(E)-p-coumaroyl)glucoside-4'-O-glucoside	87.7168	Glucoraphenin	87.3063
10	Glucobrassicin	87.5409	Sinalbin	87.1531

Tabel 4.8 Hasil *Virtual Screening Database 9-10* dengan menggunakan  
*Database Tanaman Obat di Indonesia*

<b>Peringkat</b>	<b>Database 9</b>	<b>GoldScore</b>	<b>Database 10</b>	<b>GoldScore</b>
1	Quercetin 7,4'-diglucoside	97.1827	4-Methylpentyl glucosinolate	95.7276
2	Cyanidin 7(3-glucosil-6-malonylglucoside)4'-glucoside	93.3005	Quercetin 7,4'-diglucoside	94.4754
3	4-Methylpentyl glucosinolate	92.6183	Glucobrassicin	90.9899
4	4-Methylsulfinyl butyl glucosinolate	92.4263	Quercetin-3-rutinoside	89.5725
5	Glucoraphenin	91.078	Luteolin 3'-methylether 7-manosyl-(1-2)alloside	89.304
6	Glucobrassicin	90.8951	5-Methylthiopentyl glucosinolate	88.8873
7	Luteolin 3'-methylether 7-manosyl-(1-2)alloside	88.8883	Apigenin-7-O (6"-O-p-coumaroylglucoside)	88.3564
8	Kaemferol 3-glucosyl-(1-3) rhamnosyl-(1-6)-galactoside	88.2052	Quercetin 3-(6"-galloyl galactoside)	88.2512
9	Sinalbin	87.1817	Cyanidin 7(3-glucosil-6-malonylglucoside)4'-glucoside	87.8885
10	Quercetin 3-(6"-galloyl galactoside)	86.1173	Glucoraphenin	87.6385

Tabel 4.10 Kandidat Obat Berdasarkan Hasil *Virtual Screening*

Peringkat	Ligan	n	GoldScore										Rata2 GoldScore	SD	KV
1	Quercetin 7,4'-diglucoside	10	97.1453	90.2247	96.4945	95.4097	96.5104	95.5570	96.1830	97.0699	97.1827	94.4754	95.6252	2.08	2.18
2	4-Methylpentyl glucosinolate	10	94.9420	88.9780	94.4220	95.4900	96.3680	95.6440	94.3820	94.0525	92.6183	95.7276	94.2624	2.13	2.26
3	Glucoraphenin	9	88.5120	90.3150	89.2370	89.4830	91.5110	91.1210	87.3063	91.0780	87.6385		89.5779	1.54	1.72
4	Glucobrassicin	9	85.6610	86.7710	89.4520	88.7590	85.6610	87.5410	92.0539	90.8951	90.9899		88.6426	2.38	2.68
5	Luteolin 3'-methylether 7-manosyl-(1-2)alloside	8	89.5500	91.0300	90.3130	89.9220	92.6450	88.7797	88.8883	89.3040			90.0540	1.28	1.42
6	Quercetin 3-rutinoside	7	84.0520	87.0350	91.4940	89.9610	95.5570	92.4420	89.5725				90.0162	3.72	4.14
7	Cyanidin 7(3-glucosil-6-malonylglucoside)4'-glucoside	7	86.5850	91.6330	87.4450	102.0800	94.5919	93.3005	87.8885				91.9319	5.42	5.90
8	Apigenin-7-O (6"-O-p-coumaroylglucoside)	6	87.4220	80.4800	89.7580	88.2300	88.0900	88.3564					87.0560	3.31	3.80
9	Sinalbin	6	80.3890	88.1270	86.8130	88.0180	87.1531	87.1817					86.2803	2.93	3.39
10	4-Methylsulfinyl butyl glucosinolate	5	86.8380	96.2730	92.0940	89.9095	92.4263						91.5081	3.47	3.79

\*)n= kemunculan dalam percobaan, total percobaan=10

Tabel 4.11 Kandidat Obat Hasil *Virtual Screening* beserta famili dan spesies tanaman asal

No.	Senyawa Kimia	Famili	Species			
1	Quercetin 7,4'-diglucoside	Liliaceae	<i>Allium cepa</i>	<i>Allium ascalonicum</i>	<i>Allium porrum cepa</i>	<i>Allium esculentum</i>
2	4-Methylpentyl glucosinolate	Euphorbiaceae	<i>Ricinus communis</i>	<i>Ricinus inermis et levidus</i>	<i>Ricinus inermis</i>	<i>Ricinus speciosus</i>
3	Quercetin 3-rutinoside	Papiolionaceae	<i>Clitoria ternatea</i>	<i>Flos coerulens</i>		
4	Glucoraphenin	Euphorbiaceae	<i>Ricinus communis</i>	<i>Ricinus inermis et levidus</i>		
5	Glucobrassicin	Euphorbiaceae	<i>Ricinus communis</i>	<i>Ricinus inermis et levidus</i>	<i>Ricinus inermis</i>	<i>Ricinus speciosus</i>
6	Luteolin 3'-methylether 7-manosyl-(1-2)alloside	Caesalpiniaceae	<i>Cassia alata</i>	<i>Herpetica</i>		
7	Apigenin-7-O(6"-O-p-coumaroylglucoside)	Cucurbitaceae	<i>Cucumis sativus</i>			
8	Cyanidin 7(3-glucosil-6-malonylglucoside)4'-glucoside	Liliaceae	<i>Allium cepa</i>	<i>Allium ascalonicum</i>	<i>Allium porrum cepa</i>	<i>Allium esculentum</i>
9	Sinalbin	Euphorbiaceae	<i>Ricinus communis</i>	<i>Ricinus inermis et levidus</i>	<i>Ricinus inermis</i>	<i>Ricinus speciosus</i>
10	4-Methylsulfinyl butyl glucosinolate	Euphorbiaceae	<i>Ricinus communis</i>	<i>Ricinus inermis et levidus</i>	<i>Ricinus inermis</i>	<i>Ricinus speciosus</i>

Tabel 4.12 Ikatan hidrogen yang terjadi pada target penambatan 1D4H dengan ligan Quercetin 7,4'-diglucoside

Ligan	Gugus (Nomor)	(Gugus) Residu	Sisi Pengikatan	Jarak (Å)
Quercetin 7,4'- diglucoside solusi 1	O (44)	(O) Asp 30	S2	2.82
	O (33)	(NH) Arg 8	S3	2.66
	O (31)	(NH) Arg 8	S3	2.93
	OH (30)	(O) Gly 148	Flap	2.52
	O (19)	(NH) Arg 108	S3'	3.03
	OH (31)	(O) Gly 127	*	2.36
Quercetin 7,4'- diglucoside solusi 2	O (40)	(NH) Gly 48	Flap	3.02
	O (19)	(NH) Arg 108	S3'	3.04
	OH (31)	(O) Gly 127	*	2.15
	O (33)	(NH) Arg 8	S3	2.61
	O (44)	(NH) Asp 30	S2	2.47
	O (31)	(NH) Arg 8	S3	2.82
Quercetin 7,4'- diglucoside solusi 3	OH (30)	(O) Gly 148	Flap	2.53
	O (33)	(NH) Arg 8	S3	2.78
	O (19)	(NH) Arg 108	S3'	2.91
	O (42)	(O) Asp 30	S2	2.56
	O (44)	(NH) Asp 30	S2	3.04
	OH (31)	(O) Gly 127	*	3.06
Quercetin 7,4'- diglucoside solusi 4	OH (30)	(O) Gly 148	Flap	2.7
	OH (30)	(NH) Arg 8	S3	2.56
	OH (30)	(NH) Arg 8	S3	3.06
	OH (31)	(NH) Arg 8	S3	2.87
	O (19)	(NH) Arg 108	S3'	3.0
	OH (31)	(O) Gly 127	*	2.33
	O (44)	(NH) Asp 30	S2	2.91
	OH (40)	(O) Gly 48	Flap	3.03
	O (22)	(NH) Ile50	S1	2.97
Quercetin 7,4'- diglucoside solusi 5	OH (30)	(NH) Arg 8	S3	2.7
	OH (31)	(NH) Arg 8	S3	3.02
	O (19)	(NH) Arg 108	S3'	2.4
	OH (31)	(O) Gly 127	*	3.0
	O (44)	(NH) Asp 30	S2	2.58
	OH (30)	(O) Gly 148	Flap	2.56

Tabel 4.12 Ikatan hidrogen yang terjadi pada target penambatan 1D4H dengan ligan Quercetin 7,4'-diglucoside (lanjutan)

Ligan	Gugus (Nomor)	(Gugus) Residu	Sisi Pengikatan	Jarak (Å)
Quercetin 7,4'- diglucoside solusi 6	OH (31)	(O) Gly 127	*	2.35
	OH (30)	(O) Gly 48	Flap	2.84
	O (44)	(NH) Asp 30	S2	2.67
	OH (30)	(NH) Arg 8	S3	2.89
	OH (31)	(NH) Arg 8	S3	2.83
	O (19)	(NH) Arg 108	S3'	3.06
	O (22)	(NH) Ile50	S1	2.89
Quercetin 7,4'- diglucoside solusi 7	O (22)	(NH) Ile50	S1	2.95
	OH (30)	(O) Gly 148	Flap	2.74
	OH (30)	(NH) Arg 8	S3	3.0
	OH (31)	(NH) Arg 8	S3	2.9
	OH (31)	(O) Gly 127	*	2.28
	O (44)	(NH) Asp 30	S2	3.02
	OH (40)	(NH) Gly 48	Flap	3.06
Quercetin 7,4'- diglucoside solusi 8	O (22)	(NH) Ile50	S1	3.02
	OH (30)	(O) Gly 148	Flap	2.65
	O (19)	(NH) Arg 108	S3'	3.04
	O (44)	(NH) Asp 30	S2	2.9
	OH (31)	(O) Gly 127	*	2.25
	OH (33)	(NH) Arg 8	S3	2.64
Quercetin 7,4'- diglucoside solusi 9	O (44)	(NH) Asp 29	S2	2.97
	OH (30)	(O) Gly 148	Flap	2.76
	O (19)	(NH) Arg 108	S3'	3.05
	O (44)	(NH) Asp 30	S2	2.97
	OH (31)	(O) Gly 127	*	2.29
	OH (31)	(NH) Arg 8	S3	3.0
	OH (30)	(NH) Arg 8	S3	2.97
Quercetin 7,4'- diglucoside solusi 10	OH (30)	(O) Gly 148	Flap	2.75
	O (22)	(NH) Ile 150	S1'	2.99
	O (44)	(O) Asp 30	S2	2.54
	O (44)	(NH) Asp 30	S2	2.97
	OH (31)	(O) Gly 127	*	2.47
	OH (31)	(NH) Arg 8	S3	2.94
	OH (30)	(NH) Arg 8	S3	3.05
	O(33)	(NH) Arg 8	S3	2.94

Keterangan: (\*) Residu Katalitik



Tabel 4.13 Ikatan hidrogen yang terjadi pada target penambatan 1D4H dengan ligan  
4-Methylpentyl glucosinolate

Ligan	Gugus (Nomor)	(Gugus) Residu	Sisi Pengikatan	Jarak (Å)
4-Methylpentyl glucosinolate solusi 1	O (8)	(NH) Arg 108	S3'	2.68
	O (6)	(NH) Arg 108	S3'	2.68
	O (10)	(O) Gly 48	Flap	2.82
	OH (21)	(O) Asp 25	*	2.69
4-Methylpentyl glucosinolate solusi 2	OH (21)	(NH) Gly 127	*	2.88
	O (9)	(NH) Arg 108	S3'	2.62
	O (10)	(NH) Arg 108	S3'	2.9
	OH (21)	(NH) Ala 128	S2'	2.94
	NH (5)	(O) Gly 148	Flap	2.73
	O (10)	(O) Gly 148	Flap	2.95
4-Methylpentyl glucosinolate solusi 3	O (9)	(NH) Arg 108	S3'	2.85
	O (8)	(NH) Arg 108	S3'	2.93
	O (10)	(O) Gly 49	Flap	2.59
	OH (21)	(O) Asp 25	*	2.82
	O (20)	(O) Asp 25	*	2.85
4-Methylpentyl glucosinolate solusi 4	O (10)	(NH) Arg 8	S3	2.84
	O (9)	(NH) Arg 8	S3	2.71
	OH (21)	(O) Asp 25	*	3.01
	OH (21)	(O) Asp 125	*	2.88
	O (18)	(NH) Ile50	S1	2.83
	O (8)	(O) Gly 148	Flap	2.77
	NH (5)	(O) Gly 148	Flap	3.04
4-Methylpentyl glucosinolate solusi 5	O (9)	(NH) Arg 8	S3	2.9
	O (8)	(NH) Arg 8	S3	2.6
	OH (21)	(O) Asp 125	*	3.0
	O (18)	(NH) Ile50	S1	3.02
	O (10)	(O) Gly 148	Flap	2.92
	NH (5)	(O) Gly 148	Flap	2.91

Tabel 4.13 Ikatan hidrogen yang terjadi pada target penambatan 1D4H dengan ligan  
4-Methylpentyl glucosinolate (lanjutan)

Ligan	Gugus (Nomor)	(Gugus) Residu	Sisi Pengikatan	Jarak (Å)
4-Methylpentyl glucosinolate solusi 6	OH (21)	(O) Asp 125	*	2.96
	OH (21)	(NH) Ala 128	S2'	3.07
	OH (21)	(O) Gly 127	*	2.86
	O (8)	(O) Gly 148	Flap	2.9
	NH (5)	(O) Gly 148	Flap	2.8
	O (10)	(NH) Arg 8	S3	2.9
	O (9)	(NH) Arg 8	S3	2.79
4-Methylpentyl glucosinolate solusi 7	OH (21)	(O) Asp 25	*	3.02
	OH (21)	(O) Asp 25	*	2.81
	O(8)	(NH) Arg 8	S3	2.7
	O(8)	(NH) Ile50	S1	2.77
	O(10)	(O) Gly 148	Flap	2.67
	OH (21)	(O) Asp 125	*	2.89
4-Methylpentyl glucosinolate solusi 8	OH (21)	(O) Asp 25	*	2.82
	O (9)	(NH) Arg 108	S3'	2.77
	O (10)	(NH) Arg 108	S3'	2.76
4-Methylpentyl glucosinolate solusi 9	OH (21)	(O) Asp 125	*	2.85
	OH (21)	(NH) Ala 128	S2'	3.05
	O (10)	(O) Gly 148	Flap	2.76
	NH (5)	(O) Gly 148	Flap	2.88
	O (10)	(NH) Arg 8	S3	2.81
4-Methylpentyl glucosinolate solusi 10	O (9)	(NH) Arg 8	S3	2.84
	O (10)	(NH) Arg 8	S3	2.95
	O (9)	(NH) Arg 8	S3	2.75
	OH (21)	(NH) Ala 128	S2'	3.06
	OH (21)	(O) Gly 127	*	2.98
OH (21)	(O) Asp 125	*	2.97	

Keterangan: (\*) Residu Katalitik

## Lampiran 1 Skema Kerja

Penyiapan Struktur Protein			Penyiapan Struktur Ligan
<b>Pengunduhan Makromolekul Protease HIV-1</b>	<b>Pemisahan Rantai Protease HIV-1</b>	<b>Optimasi Makromolekul Protease HIV-1</b>	<b>Database Tanaman Obat di Indonesia (Bertha, Akma. 2010)</b>
<b>PDB</b>	<b>Chimera</b>	<b>Vega ZZ</b>	



Validasi Metode Virtual Screening		
<b>Pengunduhan Kontrol Positif dan Negatif</b>	<b>Konversi Format File .sdf→.mol</b>	<b>Penambatan Molekuler</b>
<b>PubChem</b>	<b>Open Babel</b>	<b>GOLD</b>



<b>Penambatan Molekuler Database Tanaman Obat di Indonesia pada Protease HIV-1</b>
<b>GOLD</b>



Analisis dan Visualisasi Hasil Virtual Screening	
<b>Kandidat Senyawa Obat</b>	<b>Analisis dan Visualisasi Hasil Penambatan</b>
<b>GOLDScore</b>	<b>GOLD, PyMOL</b>

Lampiran 2 Tampilan situs *Protein Data Bank*

RCSB Protein Data Bank - Structure Summary for 1D4H - HIV-1 Protease in complex with the inhibitor BEA435 - Mozilla Firefox

file:///G:/blajar/1D4H PROTEIN da.Mm

Journal of Chemical Information and M... Bridgehead Carbons: HIV1 Protease an... file:///G:/protease.html

RCSB PDB PROTEIN DATA BANK

A MEMBER OF THE CPDB  
An Information Portal to Biological Macromolecular Structures  
As of Tuesday Nov 23, 2010 at 4 PM PST there are 69510 Structures | PDB Statistics

Contact Us | Print

PDB ID or Text: Search Advanced Search

Summary Sequence Derived Data Seq. Similarity 3D Similarity Literature Biol. & Chem. Methods Geometry Links

HIV-1 Protease in complex with the inhibitor BEA435 1D4H

DOI: 10.2210/pdb1d4h/pdb

Primary Citation

Optimization of P1-P3 groups in symmetric and asymmetric HIV-1 protease inhibitors.  
Andersson, H.O., Fridberg, K., Lowgren, S., Alterman, M., Muhlman, A., Bjorsne, M., Garg, N., Kvarnstrom, L., Schaal, W., Classon, B., Danielsson, U.H., Ahlsen, G., Nilroth, U., Vrang, L., Oberg, B., Samuelsson, B., Hallberg, A., Unge, T.

Journal: (2003) Eur J Biochem. 270: 1746-1758

PubMed: 12694187 Search Related Articles in PubMed

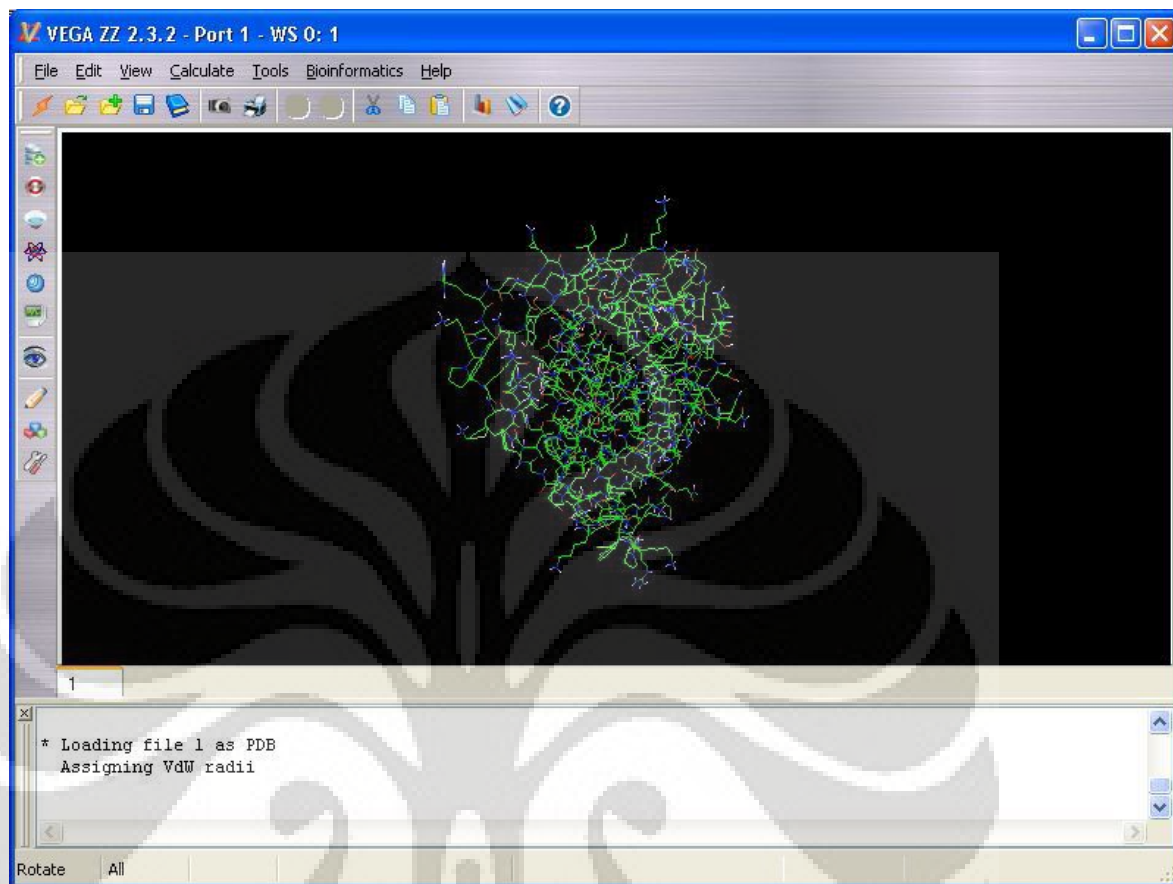
PubMed Abstract:  
HIV-1 protease is an important target for treatment of AIDS, and efficient drugs have been developed. However, the resistance and negative side effects of the current drugs has necessitated the

Display Files Download Files Print this Page Share this Page

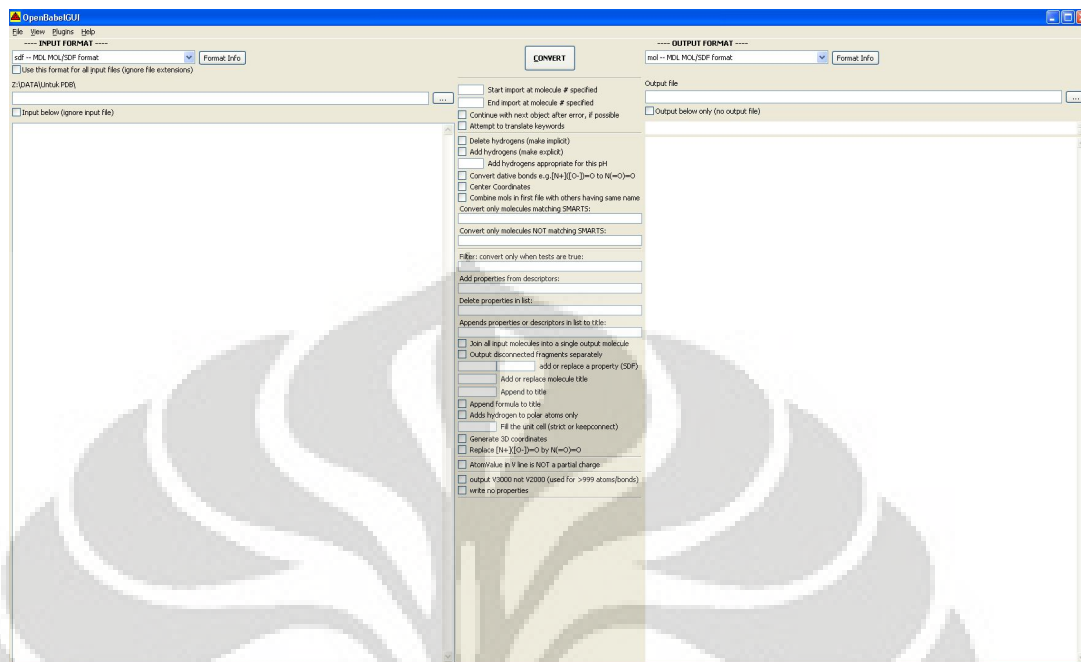
Biological Assembly

Done

## Lampiran 3 Tampilan perangkat lunak Vega ZZ

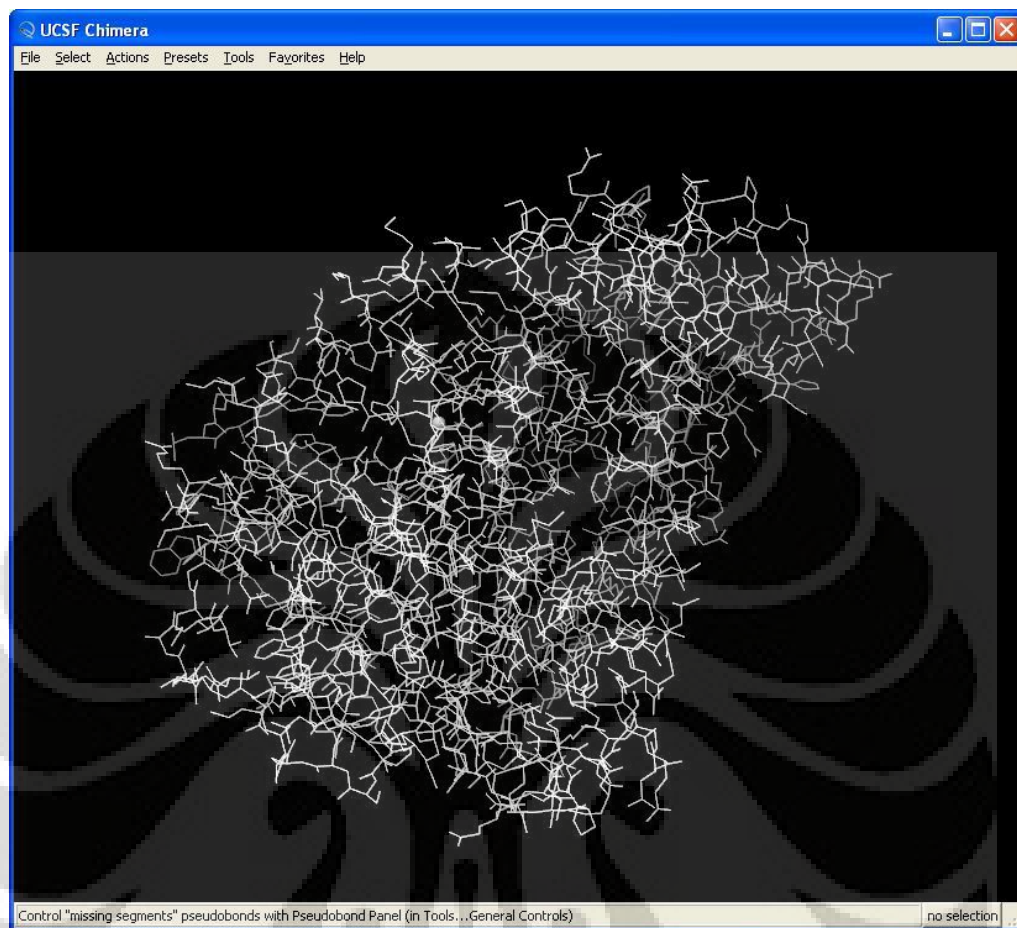


## Lampiran 4. Tampilan perangkat lunak Open Babel

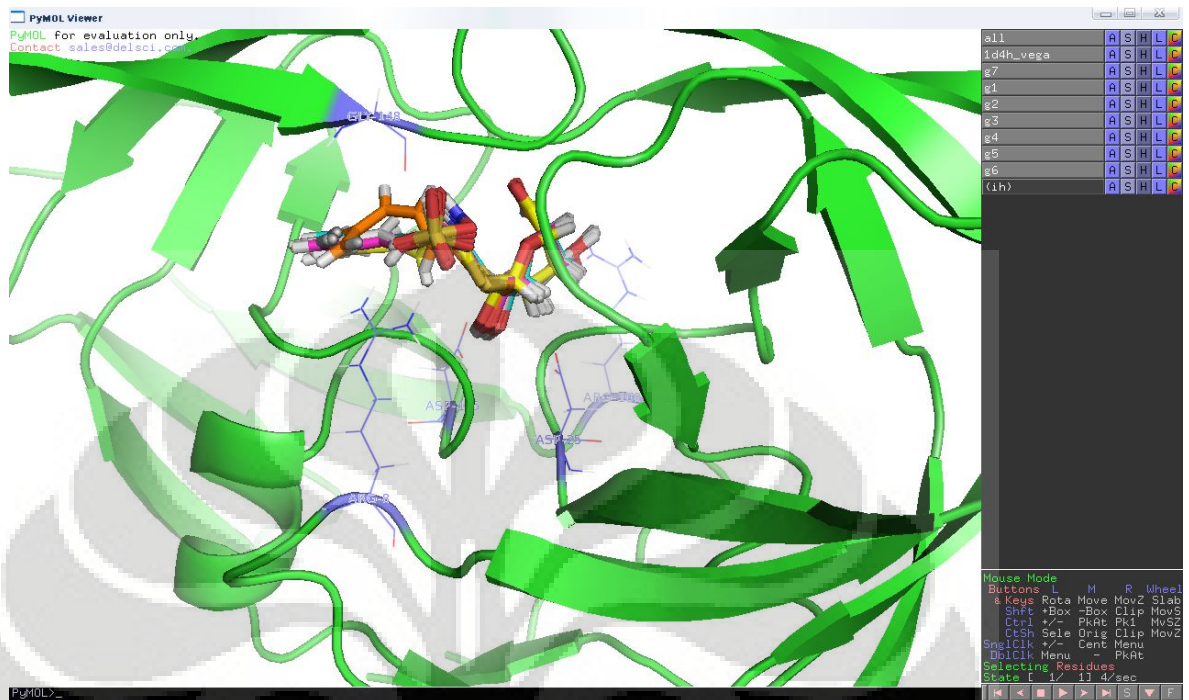




## Lampiran 5 Tampilan perangkat lunak UCSF Chimera

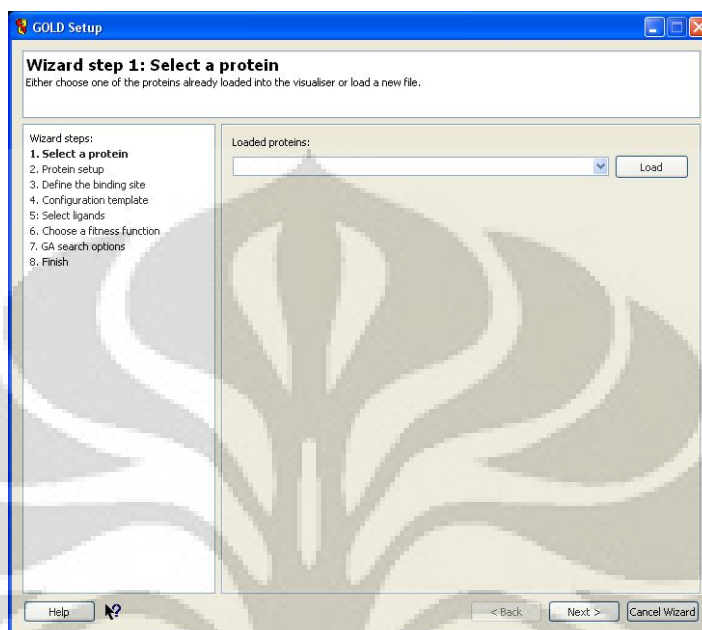


## Lampiran 6 Tampilan perangkat lunak PyMOL

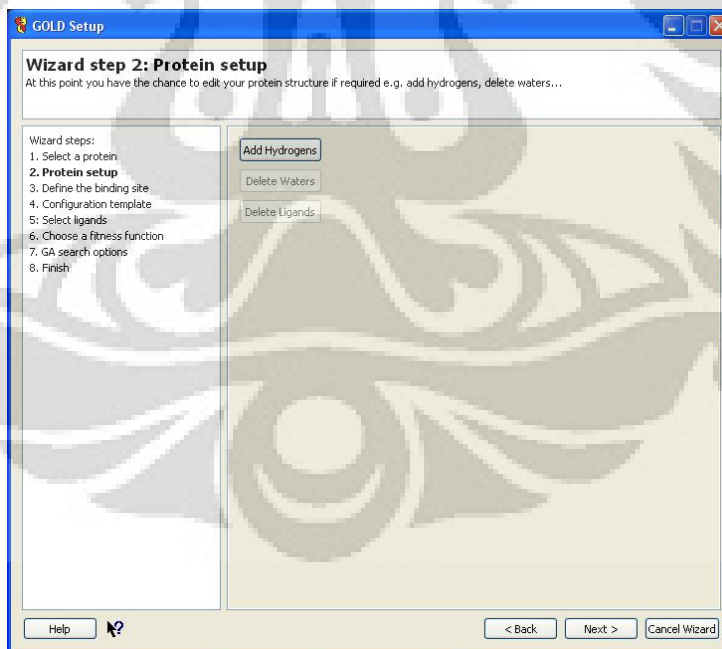


Lampiran 7. *Manual* penggunaan GOLD

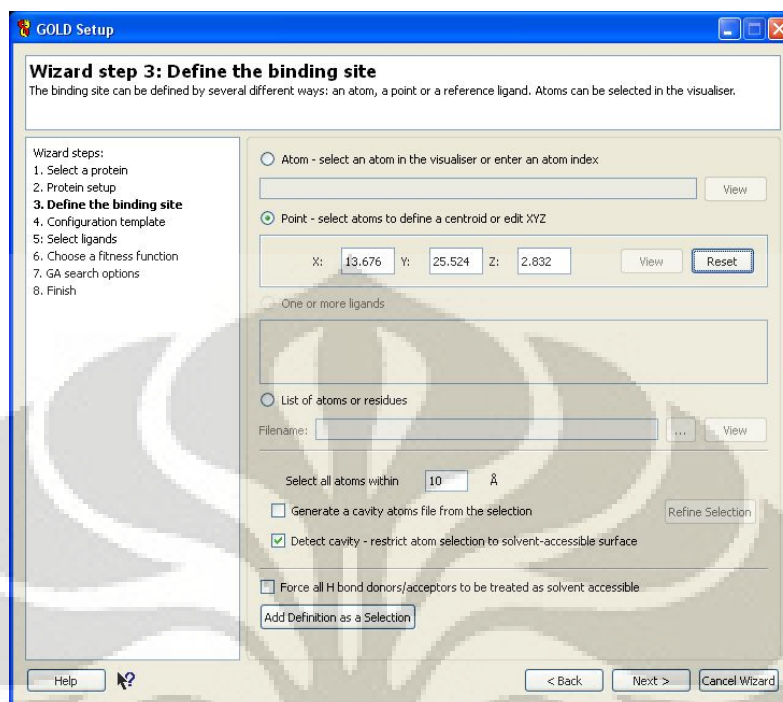
1. Buka aplikasi GOLD
2. Masukkan makromolekul protein yang akan digunakan



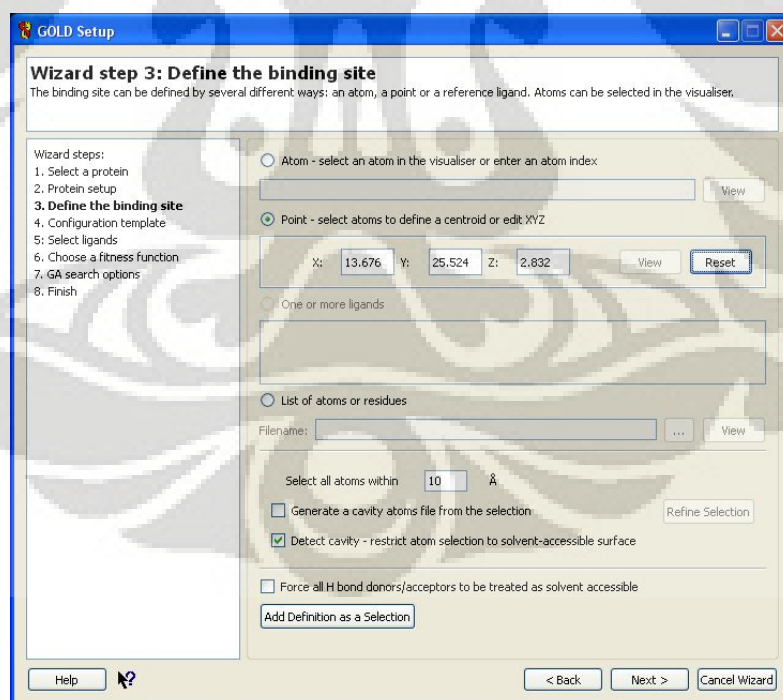
3. Penambahan hidrogen kembali dari makromolekul



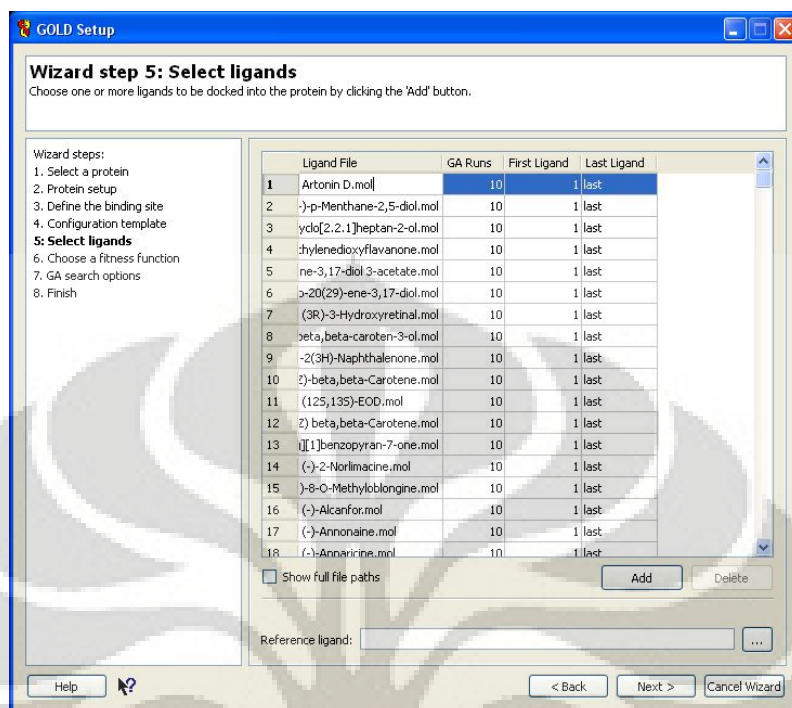
#### 4. Penentuan ruang penambatan ligand pada makromolekul



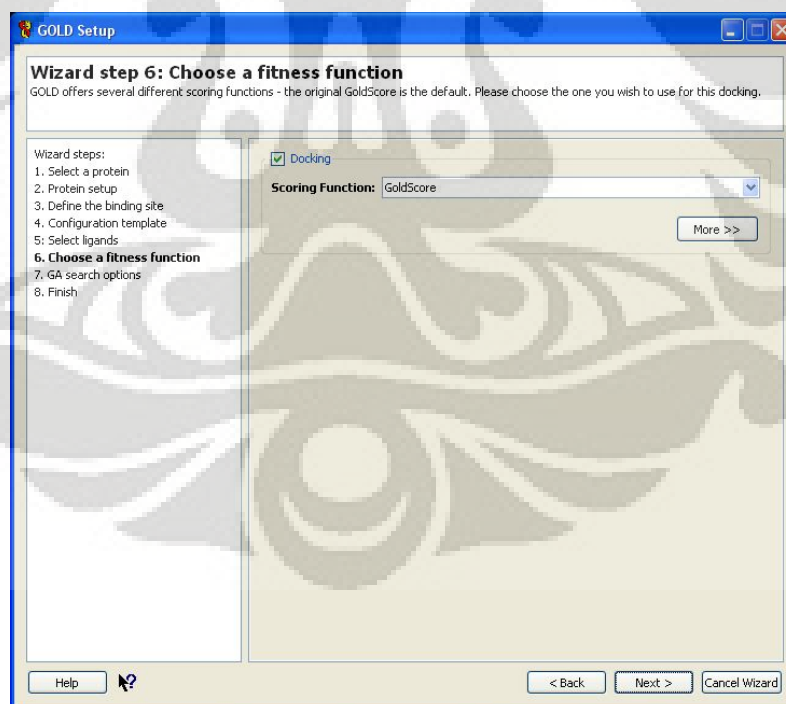
#### 5. Penentuan *template* yakni GoldScore



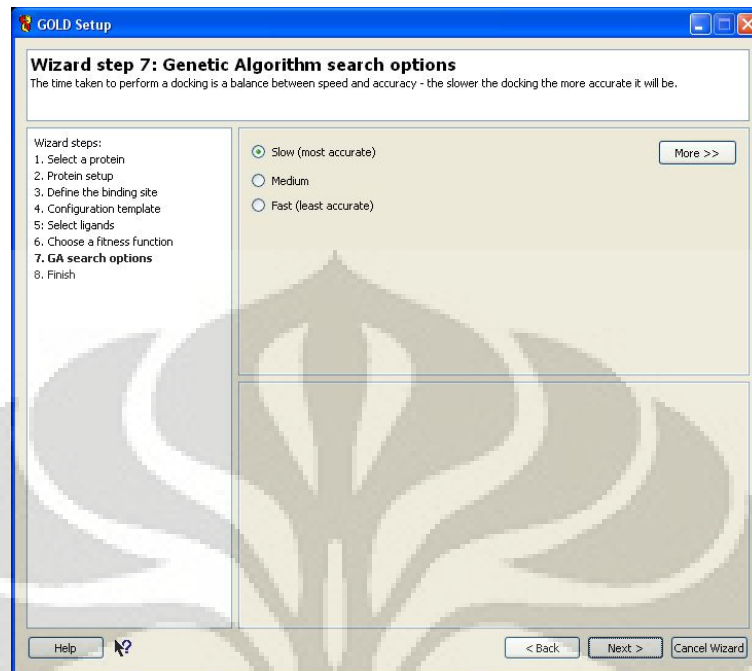
## 6. Pemilihan ligan dari database



## 7. Penentuan Scoring Function



## 8. Penentuan *GA Search Option*



## 9. Run Gold, lalu pilih folder yang akan digunakan untuk menyimpan hasil penambatan molekuler

