

**PENAMBATAN MOLEKULER BEBERAPA SENYAWA ANALOG
KURKUMIN TURUNAN DIBENZILIDENASIKLOHEKSANON PADA
SIKLOOKSIGENASE-2**

REZI RIADHI SYAHDI

0305050523



UNIVERSITAS INDONESIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

DEPARTEMEN FARMASI

DEPOK

2009

**PENAMBATAN MOLEKULER BEBERAPA SENYAWA ANALOG
KURKUMIN TURUNAN DIBENZILIDENA SIKLOHEKSANON PADA
SIKLOOKSIGENASE-2**

**Skripsi diajukan sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi**

REZI RIADHI SYAHDI

0305050523



DEPOK

2009

SKRIPSI : PENAMBATAN MOLEKULER BEBERAPA SENYAWA
ANALOG KURKUMIN TURUNAN DIBENZILIDENA
SIKLOHEKSANON PADA ENZIM SIKLOOKSIGENASE-2

NAMA : REZI RIADHI SYAHDI

NPM : 0305050523

SKRIPSI INI TELAH DIPERIKSA DAN DISETUJUI

DEPOK, 15 DESEMBER 2009

PEMBIMBING I

PEMBIMBING II

Drs. Hayun M.S.

Dr. Arry Yanuar M.Si.

Tanggal lulus Ujian Sidang Sarjana: Desember 2009

Penguji I : Dr. Hasan Rachmat Marsono M.S. (.....)

Penguji II : Dra. Maryati K. M.Si. (.....)

Penguji III : Dra. Sjafrida Siregar (.....)

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT karena berkat, rahmat, karunia dan perlindungannya, skripsi ini dapat diselesaikan. Shalawat serta salam tak lupa dihaturkan ke hadirat Rasulullah Muhammad SAW.

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

Dalam penyusunan skripsi ini, penulis dibantu oleh berbagai pihak. Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya pada:

1. Ibu Dr. Yahdiana Harahap M.S., selaku Ketua Departemen Farmasi atas kesempatan yang telah diberikan untuk melakukan penelitian dan penyusunan skripsi ini
2. Bapak Drs. Hayun, M.Si. selaku pembimbing I yang telah memberikan bimbingan, saran, bantuan, serta dukungan selama penelitian dan penyusunan skripsi
3. Bapak Dr. Arry Yanuar, M.Si. selaku pembimbing II yang telah memberikan semangat, bimbingan, saran, bantuan, dukungan, serta solusi permasalahan selama penelitian dan penyusunan skripsi
4. Ibu Dra. Retnosari Andrajati M.S., Ph.D., Apt. Selaku pembimbing akademis yang telah membimbing penulis dari awal perkuliahan hingga penelitian ini

5. Seluruh staf pengajar Departemen Farmasi Universitas Indonesia yang telah dengan tulus membekali ilmu kepada penulis
6. Ibunda Siti Hasanah dan Ayahanda Abdul Hadi Achmad, serta keluarga yang selalu memberikan dukungan tak terbilang untuk penulis
7. Zuraida Syafara Dzuhro yang selalu mendukung, menyemangati dan memberikan yang terbaik untuk penulis. Laptop yang selalu digunakan selama penelitian dan penyusunan skripsi
8. Rekan-rekan seperjuangan di ruang penelitian: Hamka, Anne dan Kak Shelly. Rekan-rekan penelitian: Caroline, Dinda, Tika, Hasma, dan Tia yang telah menemani penulis selama penyusunan dan penelitian
9. Sahabatku selama perkuliahan: Radit, Eko, Rindo, Seffy, Retno, Sista, dan Offi serta seluruh teman Farmasi Angkatan 05 dan 06
10. Seluruh Pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah memberikan pengarahan, dorongan semangat dan membantu dalam proses penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari masih adanya kekurangan dalam skripsi ini, namun penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan, khususnya dalam bidang studi farmasi

Penulis,

2009

ABSTRAK

Siklooksigenase (*Cyclooxygenase* - COX) merupakan enzim yang mengkonversi asam arakidonat menjadi prostaglandin. Prostaglandin berperan penting dalam menimbulkan respons inflamasi dan berbagai respons fisiologis lainnya. Dikenal dua jenis isozim siklooksigenase, COX-1 dan COX-2. Aktivasi siklooksigenase-2 umumnya terinduksi oleh rangsangan dan tidak terus-menerus sehingga menjadi target inhibisi dari obat-obat selektif inhibitor siklogenase terbaru. Kurkumin, senyawa aktif dari *Curcuma longa*, dan analog alamiahnya memiliki aktivitas inhibisi siklooksigenase-2 yang teramati secara *in vitro* dan *in vivo* pada penelitian sebelumnya. Pada penelitian ini, dilakukan pengujian secara *in silico* melalui penambatan molekuler untuk mengamati aktivitas inhibisi siklooksigenase-2 beberapa analog kurkumin turunan dibenzilidenasikloheksanon. Dari hasil penambatan molekuler kemudian analog diperingkat konstanta inhibisinya, K_i . Analog yang paling poten sebagai inhibitor COX-2 dari hasil penelitian ini adalah analog III. Daerah pengikatan substrat penting untuk COX-2 yang teramati pada penelitian ini meliputi residu-residu Tyr 355, Phe 381, Tyr 385, Leu 384, dan Trp 387.

Kata kunci: siklooksigenase-2, aktivitas inhibisi, analog kurkumin, *screening in silico*.

xi + 83 hlm.; gbr.; tab.; lamp.;

Bibliografi: 24 (1977-2009)

ABSTRACT

Cyclooxygenase (COX) is an enzyme that converting arachidonic acid (AA) to prostaglandin. Prostaglandin has an important role of inducing inflammation and other physiological responses. There are two types of cyclooxygenase isozyme, COX-1 and COX-2. Cyclooxygenase-2 activation in general was induced by stimulation and was not constitutive therefore it became inhibition target of the newer selective cyclooxygenase inhibitor drugs. Curcumin, active compound from *Curcuma longa*, and its natural analogues were shown to have cyclooxygenase-2 inhibition activity. This activity has been observed by *in vitro* and *in silico* method in the previous researches. In this research, *in silico* test was done using molecular docking method to observe cyclooxygenase inhibition activity of some dibenzilydenecyclohexanone derived curcumin analogues. From the result of molecular docking, the analogues were ranked based on its ΔG binding energy and inhibition constant, K_i . In this research, the most potential analogue as COX-2 inhibitor was analogue III. Important binding area of the COX-2 substrate was comprised of Tyr 355, Phe 381, Tyr 385, Leu 384, and Trp 387 residues.

Keywords: cyclooxygenase-2, inhibition activity, benzyliden cyclohexanone derived curcumin analogue, *in silico* screening.

xi + 83 pages; fig.; tab.; app.

Bibliography: 24 (1977-2009)

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|--|---------|
| KATA PENGANTAR..... | i |
| ABSTRAK..... | iii |
| ABSTRACT..... | iv |
| DAFTAR ISI..... | v |
| DAFTAR GAMBAR..... | viii |
| DAFTAR TABEL..... | x |
| DAFTAR LAMPIRAN..... | xi |
| BAB I. PENDAHULUAN | |
| A. Latar Belakang..... | 1 |
| B. Tujuan Penelitian..... | 3 |
| BAB II. TINJAUAN PUSTAKA | |
| A. Siklooksigenase..... | 5 |
| B. Inhibitor Siklooksigenase..... | 7 |
| C. Kurkuminoid | |
| 1. Definisi..... | 8 |
| 2. Aktivitas Inhibisi Siklooksigenase..... | 9 |
| 3. Analog Kurkumin Turunan Dibenzilidenasikloheksanon..... | 10 |
| D. Penambatan Molekuler..... | 10 |
| E. Protein Data Bank..... | 12 |
| F. PyMOL..... | 13 |

| | |
|--|----|
| G. Autodock..... | 13 |
| H. UCSF Chimera..... | 14 |
| I. <i>Molecular Operating Environment</i> | 15 |
| J. <i>The Collaborative Computational Project Number 4</i> | 15 |
| K. VegaZZ..... | 17 |
| L. Cygwin..... | 17 |
| BAB III. ALAT, BAHAN, DAN CARA KERJA | |
| A. Alat..... | 19 |
| B. Bahan..... | 19 |
| C. Cara Kerja | |
| 1. Pembuatan Struktur 3 Dimensi Analog..... | 21 |
| 2. Pengunduhan Makromolekul Target Penambatan..... | 22 |
| 3. Pemisahan Rantai Makromolekul untuk Target Penambatan... | 23 |
| 4. Superposisi Rantai..... | 23 |
| 5. Optimasi Molekul untuk Persiapan Penambatan..... | 23 |
| 6. Penambatan Molekul..... | 24 |
| 7. Evaluasi Penilaian (<i>Scoring</i>) Hasil Penambatan..... | 26 |
| BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN | |
| A. Hasil | |
| 1. Pembuatan Struktur 3 Dimensi Analog..... | 27 |
| 2. Pengunduhan Makromolekul Target Penambatan..... | 27 |
| 3. Pemisahan Rantai Makromolekul untuk Target Penambatan... | 28 |

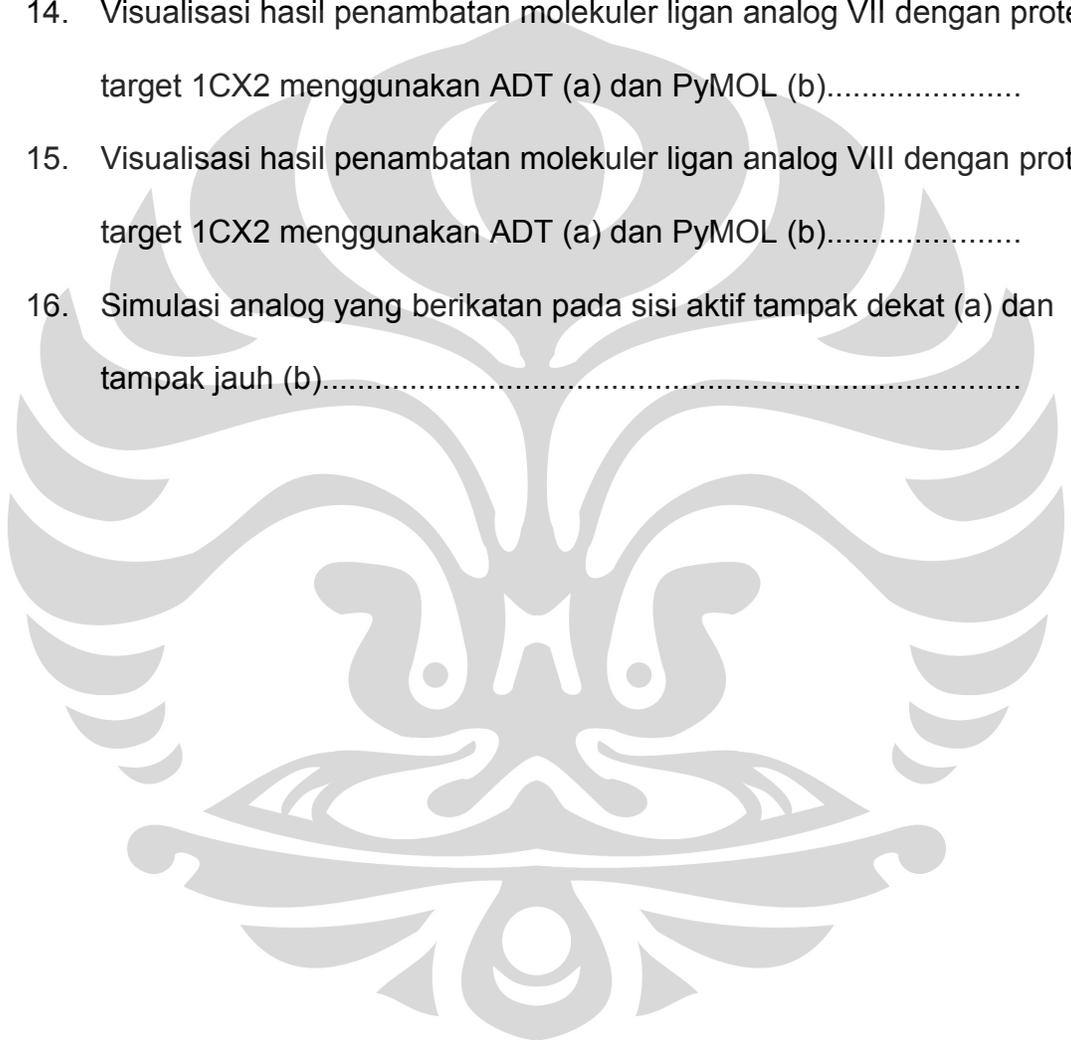
| | |
|--|-----------|
| 4. Superposisi Rantai..... | 28 |
| 5. Optimasi Makromolekul untuk Penambatan..... | 29 |
| 6. Penambatan Molekul..... | 29 |
| 7. Evaluasi Penilaian (<i>Scoring</i>) Hasil Penambatan..... | 30 |
| B. Pembahasan..... | 31 |
| BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN | |
| A. Kesimpulan..... | 41 |
| B. Saran..... | 41 |
| DAFTAR PUSTAKA..... | 43 |



DAFTAR GAMBAR

| Gambar | Halaman |
|---|---------|
| 1. Struktur umum kurkuminoid..... | 8 |
| 2. Struktur umum analog kurkumin turunan dibenzilidenasikloheksanon..... | 20 |
| 3. Dua puluh jenis asam amino penyusun protein..... | 45 |
| 4. Jalur sintesis PG terkatalis COX..... | 46 |
| 5. Struktur tiga dimensi analog I-IV, sebelum dan sesudah optimasi..... | 47 |
| 6. Struktur tiga dimensi analog V-VIII, sebelum dan sesudah Optimasi..... | 48 |
| 7. Struktur kristal COX-2. 1cx2 (a) dan 1ddx (b)..... | 49 |
| 8. Visualisasi hasil penambatan molekuler ligan analog I dengan protein target 1CX2 menggunakan ADT (a) dan PyMOL (b)..... | 50 |
| 9. Visualisasi hasil penambatan molekuler ligan analog II dengan protein target 1CX2 menggunakan ADT (a) dan PyMOL (b)..... | 51 |
| 10. Visualisasi hasil penambatan molekuler ligan analog III dengan protein target 1CX2 menggunakan ADT (a) dan PyMOL (b)..... | 52 |
| 11. Visualisasi hasil penambatan molekuler ligan analog IV dengan protein target 1CX2 menggunakan ADT (a) dan PyMOL (b)..... | 53 |

| | |
|--|----|
| 12. Visualisasi hasil penambatan molekuler ligan analog V dengan protein target 1CX2 menggunakan ADT (a) dan PyMOL (b)..... | 54 |
| 13. Visualisasi hasil penambatan molekuler ligan analog VI dengan protein target 1CX2 menggunakan ADT (a) dan PyMOL (b)..... | 55 |
| 14. Visualisasi hasil penambatan molekuler ligan analog VII dengan protein target 1CX2 menggunakan ADT (a) dan PyMOL (b)..... | 56 |
| 15. Visualisasi hasil penambatan molekuler ligan analog VIII dengan protein target 1CX2 menggunakan ADT (a) dan PyMOL (b)..... | 57 |
| 16. Simulasi analog yang berikatan pada sisi aktif tampak dekat (a) dan tampak jauh (b)..... | 58 |



DAFTAR TABEL

| Tabel | Halaman |
|--|---------|
| 1. Gugusan analog yang digunakan pada penelitian ini..... | 20 |
| 2. Daftar struktur kristal yang tersedia pada <i>PDB</i> | 59 |
| 3. Peringkat analog berdasarkan rata-rata ΔG terendah dari kluster terbaik dan tambatan terbaik. Penambatan dengan 1DDX..... | 60 |
| 4. Peringkat analog berdasarkan rata-rata K_i terendah dari kluster terbaik dan tambatan terbaik. Penambatan dengan 1DDX..... | 61 |
| 5. Data ΔG kluster dan penambatan terbaik hasil penambatan pada 1DDX..... | 62 |
| 6. Data K_i kluster dan penambatan terbaik hasil penambatan pada 1DDX..... | 63 |
| 7. Data ΔG kluster dan penambatan terbaik hasil penambatan pada 1CX2..... | 64 |
| 8. Data K_i kluster dan penambatan terbaik hasil penambatan pada 1CX2 | 65 |
| 9. Data rata-rata dan SD K_i penambatan dengan 1CX2..... | 66 |
| 10. Peringkat analog berdasarkan rata-rata K_i terendah dari kluster terbaik. Penambatan dengan 1CX2..... | 67 |
| 11. Data ΔG kontrol positif dan negatif..... | 68 |
| 12. Data K_i kontrol positif dan negatif..... | 69 |

| | |
|---|----|
| 13. Residu asam amino hasil penambatan molekuler dengan analog kurkumin turunan benzilidena sikloheksanon..... | 70 |
|---|----|

DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran | Halaman |
|---|---------|
| 1. Urutan tahap cara kerja penelitian..... | 71 |
| 2. Skema cara kerja penelitian..... | 72 |
| 3. Perintah LINUX yang digunakan pada penelitian ini..... | 73 |
| 4. Tampilan situs <i>Protein Data Bank</i> | 74 |
| 5. Tampilan program MOE..... | 75 |
| 6. Tampilan program UCSF Chimera..... | 76 |
| 7. Tampilan program VegaZZ..... | 77 |
| 8. Tampilan program CCP4i Superpose..... | 78 |
| 9. Tampilan program PyMOL..... | 79 |
| 10. Tampilan program Autodock..... | 80 |
| 11. Tampilan program Cygwin..... | 81 |
| 12. Berkas parameter <i>grid</i> | 82 |
| 13. Berkas parameter penambatan..... | 83 |

BAB I

PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG

Siklooksigenase adalah enzim utama yang berperan dalam konversi asam arakidonat menjadi prostaglandin. Prostaglandin (PG) yang dihasilkan berperan penting pada induksi inflamasi serta respon fisiologis lainnya. Pada manusia, PG memiliki banyak fungsi seperti pembekuan darah, ovulasi, metabolisme tulang, pertumbuhan dan perkembangan syaraf, penyembuhan luka, fungsi ginjal, tonus saluran darah, serta respons imun. Berbeda dari hormon seperti tiroksin atau kortison yang memiliki efek yang luas walaupun dilepaskan dari lokasi tunggal dalam tubuh, PG disintesis secara luas oleh berbagai jenis jaringan dan berperan sebagai mediator autokrin ataupun parakrin perubahan sinyal dalam lingkungan yang terkait (1).

Kurkumin dan analognya memiliki aktivitas inhibisi siklooksigenase. Aktivitas kurkumin tersebut telah didukung oleh sejumlah penelitian baik secara *in vivo* ataupun *in vitro* (2). Kurkumin dan analognya menunjukkan aktivitas serupa dalam menghambat edema telapak terinduksi karagenan, sehingga disimpulkan bahwa kurkumin efektif sebagai antiinflamasi baik untuk inflamasi akut ataupun kronik (3).

Analog kurkumin sintetik yang memiliki potensi melebihi kurkumin terus dikembangkan (4). Oleh karena itu, dilakukan penelitian terhadap analog senyawa kurkumin ini dengan tujuan melakukan *virtual screening* kandidat obat yang poten berdasarkan kemampuan interaksinya (interaksi inhibisi) dengan enzim yang berkaitan dengan aktivitasnya, dalam penelitian ini merupakan siklooksigenase.

Pada penelitian ini, dilakukan studi *virtual screening* beberapa analog kurkumin turunan dibenzilidenasiklohesanon melalui pendekatan *in silico*. Pendekatan ini dipilih karena memiliki keuntungan tersendiri dibandingkan pendekatan *in vivo* maupun *in vitro*. Keuntungan tersebut antara lain adalah waktu penelitian yang lebih sedikit dan biaya yang jauh lebih murah. Sintesis tradisional dari senyawa obat baru menggunakan kombinasi kimiawi dan *screening* skala besar merupakan proses yang membutuhkan biaya besar dan waktu yang lama, sedangkan *screening* database molekul dari senyawa model dapat dijadikan proses alternatif dalam desain obat. *Screening* database ini bergantung pada kecepatan dan keakuratan algoritma penambatan (5).

Menambatkan berbagai ligan ke protein yang diinginkan diikuti penilaian dapat membantu dalam menentukan afinitas ikatan serta menunjukkan kekuatan interaksi. Hal tersebut menjadi penting dalam konteks penemuan obat. Pendekatan *in silico* dalam desain obat baru merupakan sarana penelitian pendahuluan serta membantu dalam *screening* kandidat obat poten yang layak sehingga dapat memangkas kuantitas kandidat obat secara signifikan. Metode *in silico* yang digunakan

untuk menganalisis interaksi analog kurkuminoid adalah proses *molecular docking* atau penambatan molekuler (5).

Saat ini, berbagai program dan perangkat lunak untuk melakukan penambatan molekuler telah dikembangkan, contohnya adalah Arguslab, Autodock, DOCK, Gold, Flexx, dan lain-lain. Pada penelitian kali ini perangkat lunak yang digunakan adalah Autodock karena merupakan perangkat lunak yang dapat melakukan proses *docking* yang akurat. Hal ini yang menjadikan Autodock sebagai perangkat lunak yang paling banyak digunakan dalam penambatan molekuler (6).

Kandidat obat dari analog kurkumin turunan dibenzilidenasikloheksanon akan dibandingkan afinitas hasil penambatannya dengan siklooksigenase-2. Diharapkan perbandingan afinitas ini akan berbanding lurus dengan perbandingan aktivitas kandidat-kandidat obat tersebut sebagai inhibitor siklooksigenase-2 (3).

B. TUJUAN PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengamati interaksi inhibisi siklooksigenase-2 oleh beberapa senyawa analog turunan kurkumin turunan dibenzilidenasikloheksanon menggunakan penambatan molekuler.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. SIKLOOKSIGENASE (1,7)

Siklooksigenase (*cyclooxygenase* – COX) adalah enzim yang dibutuhkan untuk mengubah asam arakidonat menjadi prostaglandin. Siklooksigenase telah diidentifikasi lebih dari dua puluh tahun. Dua buah isoform siklooksigenase telah diketahui dan direferensikan dengan nama COX-1 dan COX-2.

Dalam berbagai kondisi, COX-1 umumnya terbentuk secara terus-menerus (contohnya pada mukosa lambung), sedangkan COX-2 umumnya terinduksi (contohnya pada jaringan inflamasi). COX-1 terlokalisasi dalam hampir setiap jaringan pada kondisi basal. Oleh karena itu, disimpulkan bahwa fungsi utama COX-1 adalah untuk menyediakan prekursor PG pada regulasi homeostatik.

Salah satu tempat kerja utama COX-1 yang penting adalah platelet. Enzim ini bertanggung jawab untuk menyediakan prekursor dalam sintesis tromboksan. Bila enzim ini diinhibisi, terjadi pencegahan kemampuan platelet untuk menghasilkan tromboksan sehingga gagal untuk beragregasi secara sempurna. Pada *adjacent vascular endothelium*, PG memiliki peran berbeda. Pelepasan eikosanoid dari platelet teraktivasi diduga akan menghasilkan

substrat dan rangsangan pada endothelium. Hal ini akan menghasilkan prostasiklin (PGI₂). Senyawa prostasiklin akan merangsang vasodilatasi, dan berbeda dari rangsangan vasokonstriksi yang dimiliki tromboksan.

Proses kimiawi dari jalur sintesis prostaglandin telah diketahui secara luas. Prostaglandin dibentuk dari siklisasi oksidatif dari 5 atom C pusat dalam suatu asam lemak tak jenuh beratom karbon 20. Enzim regulator utama adalah COX yang mengkatalis perubahan asam arakidonat menjadi prostaglandin (PG) G₂ dan PGH₂. PGH₂ berubah lagi menjadi bermacam eikosanoid termasuk PGE₂, PGD₂, PGF₂ α dan tromboksan (TX)A₂.

Kesimpulan dari penelitian terdahulu isoform COX-1 umumnya bertanggung jawab untuk biosintesis PG yang berperan dalam regulasi homeostasis. Sedangkan isoform kedua, COX-2, umumnya berperan untuk memproduksi PG sebagai respon dari berbagai gangguan lingkungan dan rangsangan internal.

Penelitian pada peran COX-2 untuk penyakit telah menunjukkan bahwa aktivasi kronik enzim ini dapat menyebabkan kondisi patologis pada kolon. COX-2 juga berperan dalam berbagai organ dan jaringan lainnya. Pada ginjal, PG yang dihasilkan berperan sebagai modulator fisiologis penting untuk pengaturan vaskuler serta homeostasis air dan natrium pada mamalia. COX-2 telah ditemukan terlokalisasi pada makula densa dan sel medulla interstisial. Reabsorpsi klorida pada lengkung menaik henle

dihambat oleh COX-2, dan kekurangan kronik natrium dapat meningkatkan tingkat COX-2 pada makula densa. Prostanoid yang dihasilkan dengan katalisis COX-2 merupakan mediator dari pembentukan renin dan *feedback* tubuloglomerular. Selain itu tikus mutan *null* COX-2 menunjukkan perkembangan ginjal yang terganggu.

COX-2 diinduksi pada sel epitelial sebagai respons terhadap tindakan infeksi dan invasif organism parasitik pada epitel gastrointestinal. PG yang dihasilkan kemudian merangsang sekresi cairan dan klorida dari mukosa, yang akan membersihkan bakteri dari saluran cerna. COX-2 diekspresikan juga selama inflamasi dan penyembuhan luka.

B. **Inhibitor Siklooksigenase(1,8)**

Inhibitor siklooksigenase merupakan obat yang berkerja melalui jalur inhibisi isoenzim COX-1 ataupun inhibisi kombinasi dari isoenzim COX-1 dan COX-2. Contohnya, asetilsalisilat (aspirin) adalah inhibitor selektif dari COX-1, sedangkan indometasin (Indocin) dan naproksen (Naprosyn) adalah inhibitor COX-1/COX-2.

Karena COX-1 umumnya bertanggung jawab dalam pembentukan mukus pada jalur gastrointestinal, inhibisi COX-1 ditenggarai sebagai penginduksi iritasi gastrointestinal, efek samping tak diinginkan yang utama dari obat golongan ini. Efek samping lain inhibisi COX-1 adalah *diathesis*

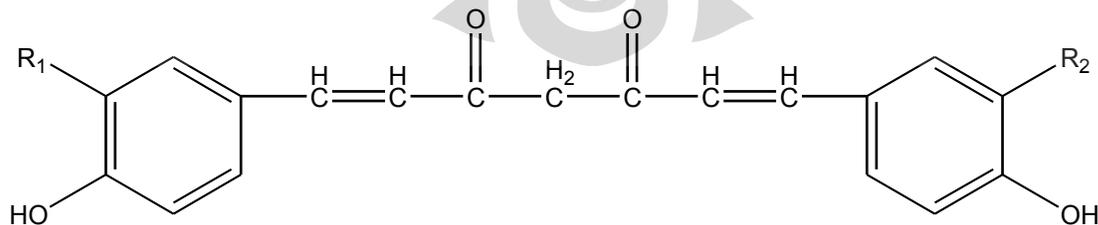
pendarahan sedang, yang juga dihasilkan dari inhibisi sintesis terkatalisis COX-1 dari faktor agregasi platelet, tromboksan (TXA₂)

Mekanisme tersebut dapat menjelaskan, setidaknya sebagian, efek terapeutik dan toksik obat AINS pada manusia. Efek samping utama dari AINS, erosi gastrointestinal dan gangguan fungsi ginjal normal, nampaknya disebabkan oleh inhibisi COX-1, sementara aktivitas antiinflamasi dan analgesik obat ini didasari oleh kemampuannya untuk menghambat COX-2.

C. KURKUMINOID

1. Definisi(9,10)

Kurkumin (diferuloilmetan) adalah fraksi paling penting dari *Curcuma longa* L dan struktur kimianya telah ditentukan oleh Roughley dan Whiting(1973). Tiga analog utamanya (kurkumin, demetoksikurkumin dan bisdemetoksikurkumin) disebut sebagai kurkuminoid. Pada molekul kurkumin, rantai utama adalah rantai alifatik tak jenuh dan grup aril yang dapat disubstitusi atau tidak.



Gambar 1. Struktur umum kurkuminoid

2. Aktivitas Inhibisi Siklooksigenase

Kurkumin dan analognya menunjukkan aktivitas inhibisi siklooksigenase 1 dan 2. Bisdemetoksikurkumin menunjukkan aktivitas inhibisi yang lebih lemah dibandingkan dengan demetoksikurkumin dan kurkumin. Salah satu metabolit kurkumin, tetrahidrokurkumin, memiliki aktivitas sebaik kurkumin dalam menginhibisi pelepasan asam arakidonat dan metabolitnya, menghambat pembentukan prostaglandin E₂, serta pembentukan liposakarida terinduksi COX-2 pada sel RAW.

Analog sintetik dengan cincin aromatis termodifikasi dan atau jembatan enon/dienon antarcincin menunjukkan aktivitas inhibisi yang lebih poten dibandingkan kurkumin. Dari penelitian sebelumnya, disimpulkan bahwa unit 4-hidroksifenil dibutuhkan untuk aktivitas antiinflamasi. Aktivitas ini akan bertambah sedikit bila ditambahkan alkil berukuran kecil atau gugus metoksi pada posisi 3- atau 5- pada cincin fenil tersebut (11).

Penelitian awal menduga bahwa gugus hidroksil fenolik dibutuhkan untuk aktivitas inhibisi COX. Namun disimpulkan pada penelitian terbaru bahwa banyak analog kurkumin tanpa gugus 4-hidroksi fenil seperti 1,7-di(2,3,4-trimetoksifenil)-1,6-heptadien-3,5-dion merupakan inhibitor yang lebih poten dibandingkan kurkumin. Gugus β -diketon dapat diganti dengan gugus

pirazol atau isoksazol tanpa menghilangkan aktivitas inhibisinya. Penggantian dengan pirazol ini juga meningkatkan selektivitas COX-1/COX-2 (12).

3. Analog Kurkumin Turunan Benzilidena Sikloheksanon

Dalam penelitian ini akan digunakan kurang lebih 8 analog kurkumin turunan benzilidena sikloheksanon. Sebagian telah disintesis dan sebagian lagi sedang dievaluasi secara *in vivo* menggunakan uji penghambatan edema telapak terinduksi karagenan.

Senyawa turunan yang telah disintesis adalah senyawa dengan gugus -OH pada R1 dan R4, -H pada R2 dan R3; senyawa dengan gugus -OH pada R1 dan R4, -OCH₃ pada R2 dan R3; serta senyawa dengan gugus -SO₂NH₂ pada R1 dan R4, -H pada R2 dan R3. Ketiganya telah diuji aktivitas inhibisi siklooksigenase namun belum dibandingkan satu dengan yang lain dalam satu penelitian. Kesimpulan penelitian sebelumnya adalah senyawa 2,6-bis(3-metoksi-4-hidroksibenzilidena sikloheksanon) tersebut memiliki aktivitas antiinflamasi inhibisi siklooksigenase walaupun lebih rendah dari aspirin(13).

D. PENAMBATAN MOLEKULER (14,15)

Dalam bidang *molecular modeling*, *docking* (penambatan) adalah suatu metode yang dapat memprediksi orientasi yang diinginkan dari suatu

molekul ke molekul lainnya ketika keduanya saling berikatan membentuk suatu kompleks yang stabil. Pengetahuan dari orientasi yang ini dapat digunakan untuk memodelkan kekuatan asosiasi atau afinitas ikatan antara kedua molekul menggunakan suatu fungsi penghitungan.

Dari tinjauan termodinamika, interaksi antara ligan dan reseptor dapat terjadi apabila kompleks ligan-reseptor tersebut memiliki nilai energi yang lebih rendah dari keadaan bebas. Perubahan energi bebas (ΔG) yang disebabkan interaksi ligan-reseptor didefinisikan melalui persamaan Gibbs:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

Dari persamaan tersebut, perubahan energi bebas dipengaruhi oleh perubahan entalpi (ΔH) dan perubahan entropi (ΔS). Perubahan entalpi berkaitan dengan gaya molekuler yang terlibat dalam interaksi ligan dan reseptor seperti ikatan hidrogen, interaksi ionik, interaksi aromatik, serta interaksi van der Waals. Perubahan entropi berhubungan dengan perubahan derajat bebas dari suatu sistem molekuler. Tanda negatif untuk perubahan entropi menunjukkan bahwa interaksi ligan-reseptor umumnya diikuti dengan peningkatan entropi.

Konstanta disosiasi (K_d) atau lebih dikenal dengan konstanta inhibisi (K_i) dari suatu ligan terhadap makromolekul tertentu secara umum dapat ditentukan dengan uji kompetisi biokimiawi. Konstanta inhibisi didefinisikan sebagai konstanta kesetimbangan dari suatu enzim dengan inhibitor tertentu. K_i didapat dari konstanta disosiasi ligan referensi dan konsentrasi ligan yang

diperlukan untuk menyebabkan 50% ligan referensi (K_d^{ref}) terlepas dari ikatannya dengan makromolekul (IC_{50} .)

Docking umumnya digunakan untuk memvisualisasikan orientasi ikatan dari suatu mikromolekul kandidat obat ke protein targetnya hingga akhirnya dapat mencari kemungkinan afinitas dan aktivitas dari molekul kecil tersebut. Oleh karena itu, *docking* memainkan peran penting dalam desain obat. Karena kegunaan penambatan molekuler dalam bidang biologis dan farmasetikalnya, maka telah dilakukan berbagai usaha yang diarahkan ke pengembangan metode yang digunakan untuk penambatan.

Metode pencarian konformasi atau algoritma penambatan dapat dibedakan menjadi tiga kategori, yaitu metode yang sistematis, metode stokastik / acak, serta metode simulasi. Metode sistematis dilakukan dengan mengeksplorasi semua derajat bebas molekul untuk konformasi yang tepat. Metode acak atau stokastik dilakukan dengan mengubah posisi ligan yang ditambatkan secara acak untuk menentukan konformasi yang tepat. Contoh dari metode ini adalah metode pencarian berdasarkan *genetic algorithm* yang meniru metode adaptasi terhadap perubahan lingkungan dalam proses evolusi. Metode simulasi menggunakan proses seperti dinamika molekuler yang umumnya dilakukan untuk *local search*.

E. Protein Data Bank (16)

Protein Data Bank (PDB) adalah *archive* (kumpulan data) dalam suatu

simpanan *worldwide* tunggal tentang informasi mengenai struktur 3 dimensi dari suatu molekul biologis yang besar, termasuk protein dan asam nukleat. Molekul tersebut adalah molekul kehidupan yang dapat ditemukan pada semua organisme termasuk bakteri, *yeast*, tumbuhan, lalat, hewan lainnya, serta manusia.

Dengan memahami bentuk molekul dapat membantu untuk memahami bagaimana kerjanya. Pengetahuan ini dapat digunakan untuk membantu menganalisa secara deduktif peranan struktur senyawa biologis dalam kesehatan dan penyakit manusia, serta dalam pengembangan obat. Struktur yang ada dalam *archive* sangat bervariasi mulai dari suatu protein kecil dan potongan-potongan DNA hingga mesin molekular kompleks seperti ribosom. Setiap struktur baru dirilis setiap hari Rabu pada jam 09:00 AM GMT.

F. PyMOL (17)

PyMOL adalah suatu program yang dikembangkan untuk memvisualisasikan konformasi majemuk dari suatu struktur tunggal (*trajectories* atau gabungan ligan yang ditambah). PyMOL juga dapat digunakan sebagai perangkat lunak dalam melakukan antarmuka dengan program lainnya. PyMOL dapat dijalankan dalam program berbasis Window dan Unix untuk menyediakan visualisasi yang baik. Selain itu, PyMOL dapat digunakan dalam mempersiapkan publikasi hasil penambatan.

G. Autodock (18)

Program Autodock dikembangkan untuk menyediakan prosedur otomatis untuk memodelkan interaksi ligan dengan suatu target biomakromolekuler. Pengembangan ini diawali oleh keinginan untuk mengatasi masalah-masalah dalam desain komponen bioaktif, khususnya pada bidang desain obat dibantu komputer. Kemajuan pada bidang kristalografi x-ray biomolekular menyediakan berbagai struktur protein dan asam nukleat penting lebih lanjut. Struktur ini dapat dipakai sebagai target agen bioaktif dalam pengontrolan penyakit tumbuhan dan hewan. Ataupun secara sederhana menjadi kunci untuk mengerti aspek fundamental melalui pengamatan biologis. Interaksi tepat dengan suatu agen bioaktif ataupun kandidatnya adalah penting dalam proses pengembangan agen bioaktif. Sehingga Autodock dapat menjadi instrumen berharga dalam proses menentukan struktur x-ray yakni dengan memberikan densitas elektron untuk ligan. Autodock dapat mempersempit kemungkinan konformasi dan membantu mengidentifikasi struktur dengan baik.

Proses penambatan dengan Autodock membutuhkan *file* masukan berupa berkas PDBQT ligan, PDBQT makromolekul, parameter grid (*Grid Parameter File-GPF*), dan parameter penamabatan (*Docking Parameter File-DPF*).

H. UCSF CHIMERA(19)

UCSF Chimera adalah suatu program 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 program ini.

Chimera mencakup juga beberapa dokumentasi pendukung 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*.

i. *Molecular Operating Environment (20)*

Molecular Operating Environment (MOE) adalah suatu program penambatan molekuler yang secara spesifik didesain untuk menangani molekul-molekul biologis besar. MOE didesain untuk dapat menggunakan berbagai macam *force field* yang berbeda pada molekul. MOE juga dapat digunakan untuk mengatur input file untuk mekanisme molekuler dan MOPAC (kalkulasi orbital).

MOE didesain oleh *Chemical Computing Group* untuk mendukung penelitian kimiainformatika, *molecular modeling*, bioinformatika, skrining virtual, desain berdasarkan struktur dan dapat digunakan untuk membuat

aplikasi baru berdasarkan SVL (*Scientific Vector Language*). Pada penelitian ini, MOE digunakan untuk membuat *builder* dari analog kurkumin dan pengoptimasian konformasi geometrisnya.

J. ***The Collaborative Computational Project Number 4 (21,22)***

The Collaborative Computational Project Number 4 (CCP4) adalah suatu kumpulan program khusus yang mencakup komputasi-komputasi yang dibutuhkan pada kristalografi molekuler. Program ini merupakan gabungan dari program dan data terkait, sehingga dapat digunakan untuk melakukan berbagai teknik biofisik dan menyediakan metode-metode yang dapat digunakan sesuai dengan tujuan penggunaannya. Program ini dikembangkan oleh *Biotechnology and Biological Sciences Research Council* (BBSRC). Program ini dijalankan dengan basis program Fortran 77. Program yang tercakup didapat dari berbagai sumber namun masih berkaitan dengan format standar data dari *archive*.

Pada penelitian ini digunakan program *superpose* CCP4. *Superpose* atau superposisi adalah program penyejajaran struktur berdasarkan struktur sekunder. Program ini dapat menjadi alternatif untuk metode *fitting least-squares*. Superposisi menggunakan fitur struktur sekunder untuk menunjukkan kecocokan awal, diikuti dengan penyejajaran protein dengan *backbone* atom Ca.

Program ini membutuhkan dua buah data koordinat sebagai masukan

(*input*). Sebagai keluarannya (*output*), Matriks transformasi dan perhitungan akan memetakan salah satu data koordinat (koordinat yang diset untuk berpindah / “*moving*”) ke koordinat yang lain (koordinat yang diset untuk tetap / “*fixed*”). Hasil superposisi ini juga mencantumkan daftar per-residu dengan kualitas kecocokannya serta mengidentifikasi struktur sekundernya.

k. **VegaZZ (23)**

VegaZZ adalah suatu proyek kimia komputasi yang dikembangkan untuk menciptakan suatu *software* untuk *molecular modeling* dengan antarmuka grafik 3 dimensi. VegaZZ dikembangkan dalam suatu *command line* berbasis system operasi seperti Unix.

VegaZZ pertama kali digunakan untuk menghubungkan program sejenis dan mempermudah proses pembelajaran dari *molecular modeling*. Saat ini, VegaZZ dapat digunakan untuk menyelesaikan permasalahan kimia komputasi baik untuk desain obat, optimasi ligan, *homology modeling* dari suatu protein, serta kalkulasi penggambaran QSAR molekular. Program ini dilengkapi dengan fitur-fitur seperti tampilan grafis untuk pengguna, program untuk mengedit dan program untuk melakukan kalkulasi terhadap molekul. Program ini tersedia gratis untuk diunduh namun membutuhkan kunci aktivasi untuk akses selama nonprofit. Program ini dapat diunduh melalui situs <http://users.unimi.it/~ddl/vega/index2.htm/>. Pada penelitian ini, VegaZZ digunakan untuk mengoptimasikan makromolekul serta analog kurkumin yang akan ditambatkan.

L. Cygwin (24)

Cygwin adalah program yang menyediakan lingkungan pemrograman seperti Linux untuk Windows. Cygwin mencakup DLL yang bertindak seperti lapisan pengemulasi sebagai POSIX (*Portable Operating System Interface*), fungsi pemanggilan system dan peralatan seperti pada Linux. Pengguna dapat mengakses berbagai kegunaan UNIX. Sehingga, dimungkinkan untuk dengan mudah menjalankan program UNIX tanpa perlu perubahan yang berarti pada kode *source*.

Cygwin dapat bekerja dengan semua versi Windows mulai dari Windows versi 95. Perbedaan antara Cygwin dan Linux adalah pustaka C (menggunakan *newlib* bukan *glibc*) serta *default*-nya. Pada Cygwin digunakan *ash* sedangkan pada kebanyakan Linux menggunakan *default* berupa *bash*.

Pada penelitian ini, Cygwin digunakan untuk melakukan kalkulasi Autogrid dan Autodock. Kalkulasi tersebut digunakan pada saat penambatan molekuler dengan Autodock.

BAB III

ALAT, BAHAN DAN CARA KERJA

A. ALAT DAN BAHAN

1. Alat

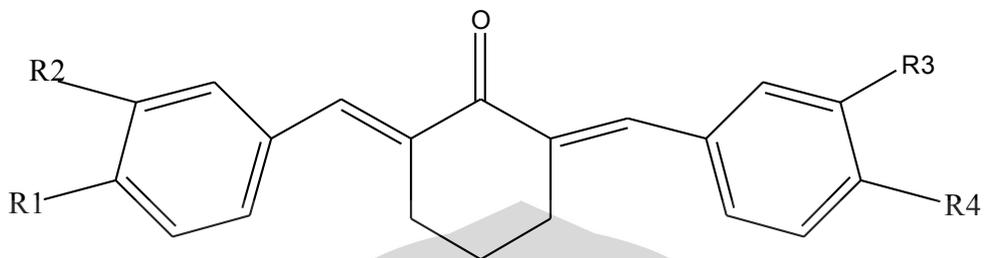
Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah perangkat keras berupa komputer serta kelengkapannya (monitor, mouse, CPU, keyboard) dengan spesifikasi *Random Access Memory* sebesar 1 GB. Komputer terhubung dengan internet dan UPS (*uninterrupted power supply*).

Perangkat lunak yang digunakan berupa Pymol, CCP4, UCSF Chimera, Autodock tools, VegaZZ, Cygwin dan MOE.

2. Bahan

a) Struktur tiga dimensi dari analog

Pada penelitian ini, analog kurkumin turunan dibenzilidenasikloheksanon direkonstruksi struktur tiga dimensinya menggunakan program MOE. Digunakan delapan buah analog dengan struktur dua dimensinya dapat dilihat pada gambar dan tabel yang tertera dibawah. Sedangkan untuk struktur tiga dimensinya dapat dilihat di lampiran (gambar 5).



Gambar 2. Struktur umum analog kurkumin turunan dibenzilidenasikloheksanon

Tabel 1. Gugusan analog yang digunakan pada penelitian ini

| No Analog | R1 | R2 | R3 | R4 |
|-----------|---------------------------------|------------------|------------------|----------------------------------|
| Analog 1 | OH | OCH ₃ | OCH ₃ | OH |
| Analog 2 | OH | H | H | OH |
| Analog 3 | OH | OCH ₃ | H | H |
| Analog 4 | OH | H | H | H |
| Analog 5 | SO ₂ NH ₂ | H | H | SO ₂ NH ₂ |
| Analog 6 | SO ₂ NH ₂ | H | OCH ₃ | OH |
| Analog 7 | SO ₂ NH ₂ | H | H | N(CH ₃) ₂ |
| Analog 8 | SO ₂ NH ₂ | H | H | Cl |

- b) Struktur tiga dimensi dari kontrol positif dan kontrol negatif inhibitor siklooksigenase

Obat-obat yang memiliki aktivitas menghambat kerja siklooksigenase digunakan sebagai bahan pembanding kontrol positif untuk melihat potensi aktivitas inhibitor siklooksigenase bahan uji. Inhibitor siklooksigenase yang digunakan sebagai kontrol positif adalah Celecoxib, asam diklofenak dan Aspirin (asam asetilsalisilat). Sedangkan sebagai kontrol negatif digunakan tetrasiklin yang tidak pernah dibuktikan sebelumnya memiliki aktivitas inhibitor siklooksigenase dan antiinflamasi. Struktur dua dimensi obat-obat tersebut dapat diunduh dari *Pubchem Compound* dengan alamat situs <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

c) Bank data protein dari enzim siklooksigenase -2

Bahan protein yang digunakan dalam penelitian ini adalah struktur 3 dimensi makromolekul siklooksigenase-2 yang diunduh dari PDB. Digunakan makromolekul dengan identitas 1CVU (siklooksigenase-2 yang berikatan dengan asam arakidonat), 1DDX (siklooksigenase-2 yang berikatan dengan prostaglandin), 1CX2 (siklooksigenase-2 yang berikatan dengan obat inhibitor selektif COX-2, SC-558), dan 5COX (siklooksigenase-2 tanpa ligan).

B. CARA KERJA

1. Pembuatan Struktur 3 Dimensi Analog Kurkuminoid

Struktur 3 dimensi analog yang digunakan dibentuk menggunakan program MOE (*Molecular Operating Environment*). Bentuk ini berdasarkan data 2 dimensi analog yang akan diskruining. Setelah dibentuk secara manual, struktur tersebut disimpan sebagai suatu template .pdb dari template .moe. Kemudian setelah itu dilakukan minimisasi energi sebanyak 1000x pada struktur tersebut, hasil minimisasi ini kembali disimpan. Setelah diminimisasi dilakukan konformasi geometris menggunakan software yang sama. Konformasi dilakukan menggunakan kalkulasi *stochastic* yang random atau acak. Hasil konformasi akan tersusun atas suatu database molekul dengan energi konformasi yang ada. Hasil pencarian konformasi terbaik dipilih sebagai struktur analog yang akan ditambahkan pada makromolekul. Hasil konformasi ini dapat diminimisasi kembali. Bila pencarian konformasi sudah baik, maka minimisasi tidak akan mengubah struktur konformasi terbaik yang didapat. Hasil konformasi tersebut kemudian disimpan dalam format .pdb

2. Pengunduhan Makromolekul Target Penambatan

Makromolekul diunduh dari situs penyedia PDB makromolekul <http://www.rcsb.org/pdb>. Kemudian masukkan identitas struktur tiga dimensi yang diinginkan untuk diunduh. Data makromolekul disimpan sebagai bentuk .pdb. Untuk penelitian ini, data makromolekul yang diunduh adalah

- 1CVU (siklooksigenase yang berikatan dengan asam arakidonat).

- 1DDX (siklooksigenase yang berikatan dengan prostaglandin)
- 1CX2 (siklooksigenase yang berikatan dengan model obat inhibitor selektif COX-2), dan
- 5COX (siklooksigenase tanpa ligan)

3. Pemisahan Rantai Makromolekul untuk Target Penambatan

Struktur tiga dimensi dari siklooksigenase-2 memiliki rantai-rantai. Rantai pada makromolekul tersebut dipisahkan menggunakan *software* UCSF Chimera. Hasil pemisahan tersebut akan digunakan dalam pengujian superposisi. Makromolekul yang memiliki banyak rantai umumnya tidak dapat disuperposisi secara langsung sehingga dipisahkan terlebih dahulu. Makromolekul juga dipisahkan dari pelarut (air) dan ligan atau residu nonstandar menggunakan perangkat lunak yang sama.

4. Superposisi Rantai

Superposisi dilakukan menggunakan CCP4i. Rantai makromolekul yang telah dipisahkan sebelumnya digunakan sebagai bahan superposisi. Atur direktori yang diinginkan sebagai projek baru, superposisi dilakukan dengan keluaran (*output*) file disimpan dengan menggunakan format .pdb. Rantai dalam satu makromolekul disuperposisi dengan rantai lain dalam makromolekul tersebut. Kemudian rantai dalam satu makromolekul disuperposisikan dengan rantai yang ada dalam makromolekul lainnya. Rantai-rantai tersebut dibandingkan kemiripan struktur sekundernya.

5. Optimasi molekul untuk persiapan Penambatan

Makromolekul yang sudah disuperposisi kemudian disiapkan untuk penambatan. Makromolekul dioptimasi dengan menggunakan aplikasi VegaZZ. Struktur tiga dimensi dari makromolekul tersebut ditambahkan kembali atom hidrogen dengan pengaturan pilihan pada tiap-tiap ujung residu. Makromolekul kemudian diperbaiki muatannya dengan menambahkan muatan parsial *Gasteiger Charges* dan diberi *forcefield* Autodock. Minimisasi dan pencarian konformasi dilakukan sebanyak 1000 langkah.

6. Penambatan Molekul

Penambatan molekul dilakukan menggunakan program Autodock Tools (ADT). Struktur makromolekul dan ligan yang akan ditambatkan dan telah dioptimasi secara terpisah disimpan dalam satu folder yang sama. Setelah itu struktur tersebut dikonversi format *file*-nya dari .pdb menjadi .pdbqt agar dapat diproses oleh kalkulasi program penambatan. Muatan ion Fe dikoreksi dari 0.0 menjadi +3.0 pada format .pdbqt. Persiapan penambatan dilakukan dengan persiapan parameter *grid* yang dilakukan oleh ADT. Penentuan batasan ruang penambatan molekuler dilakukan dengan ukuran 60 x 60 x 60 Å untuk penambatan terarah (*targetted docking*). Prosedur penambatan yang dilakukan adalah sebagai berikut:

- a) Program aplikasi AutoDock Tools (ADT) dijalankan untuk pengaturan parameter
- b) Berkas ligan dibuka dengan memilih "Ligand" → open, lalu berkas yang diinginkan dicari dalam direktori
- c) Berkas makromolekul target dibuka dengan memilih "Grid" → Macromolecule → open, lalu makromolekul target penambatan dicari dalam direktori
- d) Parameter grid penambatan ditentukan. Setelah itu disimpan dalam suatu berkas.
- e) Untuk 1DDX, parameter grid ditentukan dengan ukuran: X = 60; Y = 60; Z = 60; Spacing = 0,375 Å; Center X = 29,484; Y = 25,227; Z = 13,079.
- f) Untuk 1CX2, parameter grid ditentukan dengan ukuran: X = 60; Y = 60; Z = 60; Spacing = 0,375 Å; Center X = 23,947; Y = 21,582; Z = 15,436.
- g) Proses kalkulasi autogrid dijalankan pada Cygwin Bash Shell dengan cara mengetik perintah sebagai berikut pada command line:

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

Kalkulasi akan berjalan.

- h) Perintah 1DDX.gpf dapat diganti dengan format penyimpanan pengaturan untuk pencarian parameter contohnya makromolekul.gpf.

Perintah 1DDX.glg dapat diganti dengan format penyimpanan parameter map yang diinginkan

- i) Parameter penambatan diatur seperti tercantum pada lampiran
- j) Proses kalkulasi penambatan dilakukan pada Cygwin Bash Shell dengan mengetikkan perintah pada command line

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

Kalkulasi akan berjalan

- k) Perintah 1DDX.dpf dapat diganti sesuai format penyimpanan file docking parameter. Perintah 1DDX.dlg dapat diganti dengan format penyimpanan hasil penambatan yang diinginkan

7. Evaluasi Penilaian (*Scoring*) Hasil Penambatan

Hasil penambatan divisualisasi menggunakan PyMOL. Parameter hasil penambatan dianalisis terhadap parameter penambatan yang telah ditentukan sebelumnya. Melalui ADT, histogram dari tiap *cluster* diamati. Dari histogram diperoleh ΔG hasil penambatan yang terendah. Kemudian ΔG hasil penambatan dengan persentase *cluster* terbanyak dapat diamati dalam histogram yang sama. Menggunakan wordpad, berkas hasil penambatan .dlg dapat dibuka untuk melihat adanya *cluster* yang terbentuk. Nilai K_i untuk penambatan terbaik dan kluster terbaik dapat diamati pada *file* tersebut.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. HASIL

1. Pembuatan Struktur 3 Dimensi Analog

Tiap analog dibuat *builder* 3 dimensi, kemudian setelah diminimisasi dan dikonformasi diperoleh database dari masing-masing analog yang sesuai. Analog I memiliki 13 konformasi, analog II memiliki 6 konformasi, analog III memiliki 9 konformasi, analog IV memiliki 3 konformasi, analog V memiliki 6 konformasi, analog VI memiliki 10 konformasi, analog VII memiliki 4 konformasi dan analog VIII memiliki 6 konformasi. Tiap analog diambil konformasi dengan energi dalam paling kecil dan disimpan dalam bentuk .pdb sebagai ligan yang akan ditambatkan.

2. Pengunduhan Makromolekul Target Penambatan

Makromolekul diunduh struktur kristalnya dari *Protein Data Bank*. Data yang diunduh terbagi atas dua jenis isozim. Isozim pertama adalah COX-1 yang terdapat pada spesies *Ovis aries*. Sedangkan isozim kedua adalah COX-2 yang terdapat pada spesies *Mus Musculus*.

3. Pemisahan Rantai Makromolekul untuk Target Penambatan

Struktur 1CVU (siklooksigenase yang ditambahkan dengan arakidonat) memiliki 2 *chain*, yakni *chain* 1CVUA dan 1CVUB. Sedangkan struktur 1DDX, 5COX dan 1CX2 memiliki 4 *chain* yakni *chain* A, B, C dan D

Sebelum dipisahkan, tiap rantai dari masing-masing makromolekul target dibersihkan dari molekul solven / pelarut yakni air. Setelah itu dibersihkan dari struktur ligan yang ditambahkan. 1CVU memiliki ligan NAG, MAN, BOG, dan asam arakidonat. 1DDX memiliki ligan NAG, BOG, dan prostaglandin. 5COX memiliki ligan NAG dan Heme. 1CX2 memiliki ligan NAG, HEM dan SC558.

4. Superposisi Rantai

Langkah pertama yang dilakukan adalah superposisi antar-*chain* pada tiap makromolekul menggunakan CCP4i. Untuk 1CVU dilakukan superposisi pada 1CVUA dan 1CVUB. Diperoleh *identity* 100,0% dan RMSD sebesar 0,31. Superposisi 5COXA, 5COXB, 5COXC, dan 5COXD memberikan hasil *identity* 100%. RMSD dari keempat rantai berkisar dari

0,00 – 0,05. Superposisi 1CX2A, 1CX2B, 1CX2C, dan 1CX2D memberikan hasil *identity* 100%. RMSD keempat rantai tersebut sebesar 0,05. Superposisi 1DDXA, 1DDXB, 1DDXC, dan 1DDXD memberikan hasil *identity* 100,0% dengan RMSD sebesar 0,04. Dari hasil superpose tersebut disimpulkan bahwa tiap *chain* pada masing-masing makromolekul merupakan unit yang identik satu dengan yang lainnya, sehingga dapat digunakan salah satu *chain* sebagai model. Untuk selanjutnya, rantai yang digunakan adalah *chain* A dari makromolekul.

Setelah melakukan superpose antar-*chain*, dilakukan superpose antarmakromolekul dengan model salah satu *chain*. Superpose 1CVUA dan 5COXA memberikan hasil *identity* 99,8% dan RMSD 0,44. Superpose 1CVUA dan 1CX2A memberikan hasil *identity* 99,8% dan RMSD 0,48. Superpose 1CVUA dan 1DDXA memberikan hasil *identity* 99,5% dan RMSD 0,38. Superpose 5COXA dan 1CX2A memberikan hasil *identity* 100,0% dan RMSD 0,41. Superpose 5COXA dan 1DDXA memberikan hasil *identity* 99,6 % dan RMSD 0,49. Superpose 1CX2A dan 1DDXA memberikan hasil *identity* 99,6% dan RMSD 0,52.

5. Optimasi Makromolekul Untuk Penambatan

Makromolekul yang akan digunakan untuk proses penambatan harus dioptimasi dan diminimisasi menggunakan program VegaZZ. Struktur makromolekul dihitung potensialnya setelah ditambahkan hidrogen. Muatan dihitung menggunakan *force field* Charm22prot serta

Charm22char lalu dilakukan penghitungan lagi dengan *Gasteiger charge*. Kemudian dilakukan penyusutan energi menggunakan program *Minimization* dengan mode *trust* sebanyak 1000 kali.

6. Penambatan Molekul

Setelah penentuan ukuran gridbox dan parameternya menggunakan ADT, kalkulasi autogrid4 akan menghasilkan parameter *mapping*. Tiap ligan memiliki *map* elektrostatik (e) dan desolvasi (d). Semua jenis berkas pemetaan (*mapping*) memiliki ekstensi file *.map*. Selain pemetaan, hasil grid juga menghasilkan file dengan ekstensi *.glg*.

Setelah pemetaan dan menentukan parameter penambatan sesuai prosedur, kemudian parameter ini disimpan dalam bentuk file berekstensi *.dpf*. Setelah itu, kalkulasi autodock4 dijalankan. Kalkulasi ini akan menghasilkan file dengan berkas *.dlg*.

Penambatan dilakukan tiga kali untuk masing-masing analog. Hasil penambatan (ΔG dan K_i) dapat dilihat pada tabel 3-12 . Penambatan dilakukan pada dua *chain* makromolekul yang berbeda. Penambatan pertama dilakukan pada *chain* 1DDXA (*chain* A dari siklooksigenase yang sebelum dibersihkan berikatan dengan prostaglandin) dan penambatan kedua dilakukan pada *chain* 1CX2A (*chain* A dari siklooksigenase yang memiliki gugus heme dan sebelum dibersihkan berikatan dengan SC-558, inhibitor selektif COX-2).

Selain nilai ΔG dan K_i , melalui metode penambatan juga dapat diamati interaksi ligan antara senyawa analog kurkuminoid serta molekul obat antiinflamasi dengan protein target. Visualisasi hasil penambatan dan interaksinya dapat diamati pada gambar 7-14.

7. Evaluasi Penilaian (*scoring*) Hasil Penambatan

Hasil penambatan pada chain 1DDXA memperlihatkan hasil yang memiliki kluster baik untuk analog II, IV, V, VII, dan VIII. Sedangkan hasil yang divergen didapatkan dari analog I, III, dan VI. Untuk analog III, V, dan VII didapatkan hasil konvergen yakni hasil penambatannya memiliki *best cluster* (kluster terbaik) yang juga merupakan *best docking* (penambatan terbaik). Apabila penyebaran data divergen, diambil hasil dari hasil *best docking* dan *best cluster*.

Peringkat analog-analog yang diuji berdasarkan rata-rata ΔG *best cluster* terendah adalah III, I, VII, VI, V, IV, VIII, dan terakhir adalah analog II. Sedangkan berdasarkan rata-rata ΔG *best docking* terendah adalah analog I, III, VII, VI, V, IV, VIII dan terakhir analog II.

Hasil penambatan pada chain 1CX2 memberikan hasil ΔG yang lebih tinggi pada tiap analog dibandingkan dengan ΔG penambatan dengan 1DDX. Penambatan analog VIII dan VI memberikan hasil yang divergen pada kalkulasi 2.500.000 kali sehingga dibutuhkan penambahan kalkulasi dalam analisisnya menjadi 25.000.000 kali. Setelah penambahan

kalkulasi, analog VIII memberikan hasil yang konvergen. Hasil yang konvergen juga diperoleh dari penambatan analog II, III dan VII. Hasil konvergen adalah hasil penambatan yang *best docking*-nya juga merupakan penambatan *best cluster*-nya.

B. PEMBAHASAN

Pada penelitian kali ini dilakukan skrining aktivitas inhibisi siklooksigenase dari beberapa analog kurkuminoid sebagai senyawa model. Skrining ini dilakukan dengan metode terkomputasi / metode *in silico*. Metode yang digunakan disebut dengan nama metode penambatan molekuler (*molecular docking*). Tujuan akhir dari penelitian ini adalah untuk memperoleh peringkat afinitas dari inhibisi siklooksigenase dari analog kurkuminoid tersebut.

Penambatan molekuler adalah metode yang digunakan untuk memprediksi ikatan kompleks antara suatu ligan dengan makromolekul / protein target. Pada penelitian ini, ligan yang ditambatkan adalah analog kurkumin turunan dibenzilidenasikloheksanon sebanyak 8 buah dan diperkirakan memiliki aktivitas inhibisi siklooksigenase. Sebagai molekul target adalah siklooksigenase (COX) yang mengkonversi asam arakidonat menjadi prostaglandin. Siklooksigenase yang digunakan dalam penelitian kali ini adalah isozim COX-2 yang umumnya produksinya terinduksi oleh rangsangan infeksi dan invasif ataupun rangsangan lainnya. Isozim ini

berbeda dengan isozim COX-1 yang produksinya terus menerus dan dikaitkan dengan aktivitasnya dalam mempertahankan homeostasis.

Langkah yang pertama kali dilakukan adalah menggambar struktur 2 dimensi analog yang menjadi ligan. Kemudian struktur 2 dimensi ini dijadikan bahan untuk pembentukan struktur tiga dimensinya karena senyawa-senyawa tersebut belum terdaftar struktur tiga dimensinya. Struktur tiga dimensi analog-analog tersebut dibuat menggunakan program aplikasi komputer MOE (*Molecular Operating Environment*).

Setelah dibentuk struktur 3 dimensinya, hasil struktur ini kemudian dioptimasi dan diminimisasi menggunakan program yang sama. Hal ini dilakukan untuk mengubah geometri awal yang dibentuk menjadi bentuk dengan energi sterik dan konformasi yang lebih rendah sehingga didapat geometri / struktur yang paling stabil. Minimisasi yang telah dilakukan perlu diikuti dengan pencarian konformasi dengan energi terendah untuk menghasilkan geometri konformasi yang mungkin belum dihasilkan oleh langkah minimisasi. Optimasi dilakukan dengan menggunakan metode pencarian *stochastic*. Kemudian database hasil pencarian digunakan untuk memilih konformasi analog dengan energi terendah.

Makromolekul yang digunakan sebagai target penambatan disini berdasarkan sumber dari *Protein Data Bank* (PDB). Siklooksigenase yang terdata PDB-nya berjumlah sekitar 23 struktur kristal siklooksigenase. Data-data struktur kristal tersebut kemudian dikelompokkan berdasarkan

sumber enzimnya. Data yang ada diunduh dan dipilih berdasarkan ligan dan makromolekul yang sesuai. Untuk menyesuaikan dengan penelitian sebelumnya, data yang dipilih adalah struktur kristal COX-2 dengan identitas 1CVU (siklooksigenase yang berikatan dengan asam arakidonat), 1DDX (siklooksigenase yang berikatan dengan prostaglandin), 1CX2 (siklooksigenase yang berikatan dengan dengan inhibitor selektif COX-2, SC-558) dan 5COX (siklooksigenase yang tidak memiliki ikatan dengan ligan).

Keempat data struktur tersebut disejajarkan sekuensnya dan diamati kemiripannya. Hasil pengamatan menunjukkan keempatnya memiliki sisi aktif siklooksigenase lebih dari satu pada tiap molekulnya. Oleh karena itu, tiap molekul kemudian diuji kesamaan struktur sisi aktifnya. Tiap molekul dipotong dan dipisahkan *chain*-nya menggunakan program Chimera. Dari hasil pemotongan, kemudian tiap *chain* dari masing-masing molekul disuperposisikan menggunakan program *superpose* CCP4i. Ternyata tiap sisi aktif memiliki kesamaan struktur dengan sisi aktif lain dalam molekul yang sama. Sehingga, dapat digunakan salah satu *chain* saja untuk mewakili *chain-chain* pada molekul tersebut, untuk percobaan ini rantai yang digunakan adalah *chain A* dari masing makromolekul.

Setelah dilakukan superposisi pada rantai tiap makromolekul, dilakukan superposisi rantai antar makromolekul (diwakilkan oleh *chain A*) untuk melihat adanya kesamaan struktur makromolekul yang satu dengan yang lain. Dari hasil superposisi keempat makromolekul tersebut ternyata

keempatnya memiliki struktur sisi aktif yang identik sehingga dapat digunakan salah satunya saja.

Struktur kristal yang dipilih sebagai target penambatan akhirnya adalah *chain A* dari 1DDX dan 1CX2, dengan pertimbangan 1CX2 memiliki gugus heme pada sisi aktifnya sedangkan 1DDX tidak memiliki gugus heme pada sisi aktifnya. Dilakukan penambatan pada keduanya agar dapat menganalisis aktivitas inhibisi yang sebenarnya.

Setelah memilih struktur makromolekul yang digunakan sebagai target penambatan, struktur tersebut dioptimasi untuk mencari konformasi yang terbaik. Proses optimasi ini dilakukan menggunakan program VegaZZ. Proses optimasi yang dilakukan mencakup penambahan atom Hidrogen, penghilangan molekul pelarut (air), pemberian *force field* untuk Autodock dan pemberian muatan *gasteiger*. Penambahan atom Hidrogen, muatan dan *forcefield* perlu dilakukan karena digunakan dalam program penambatan (Autodock) dalam melakukan kalkulasi penambatan dan akan mempengaruhi nilai (*scoring*) dari hasil penambatan. Sedangkan molekul air adalah molekul yang ikut terdeteksi dalam proses kristalografi dan harus dihilangkan agar tidak mengganggu proses penambatan.

Makromolekul diminimisasi dengan menggunakan metode *trust* sebanyak 1000 kali dan dicari konformasi terbaiknya berdasarkan torsi fleksibel yang dimiliki. Penerapan minimisasi ini sama dengan yang diterapkan pada ligan, namun parameter yang digunakan adalah *force*

field Autodock agar sama dengan program penambatan yang akan digunakan dan diharapkan konformasi yang dihasilkan lebih stabil.

Tahap selanjutnya adalah penambatan molekuler yang dilakukan menggunakan program AutoDock dengan algoritma penambatan *Lamarckian Genetic Algorithm* karena algoritme ini merupakan kombinasi dari perpaduan *local search* (pencarian optimasi terlokalisasi) dan *genetic algorithm* (pencarian optimasi global). Pada hasil penambatan molekuler, untuk menentukan afinitas dan selektivitas senyawa yang ditambatkan terhadap protein target dapat dilihat dari *docking score* yang dihasilkan. *Score* ini mencakup energi bebas (ΔG) dan konstanta inhibisi (K_i). Semakin rendah nilai energi bebasnya maka semakin selektif senyawa tersebut terhadap protein target. Hal ini disebabkan nilai energi bebas menggambarkan kuatnya interaksi senyawa dengan protein target. Semakin rendah nilai konstanta inhibisi maka semakin efektif aktivitas hambatan protein target (COX-2).

Pada penelitian penambatan molekuler ini, hasil tercakup pada grafik hasil peng-*cluster* / penggolongan hasil penambatan senyawa. Grafik tersebut menampilkan hasil yang dikelompokkan sesuai dengan interaksi ikatan yang mirip satu dengan yang lain pada setiap konformasi *docking*. Oleh karena itu, untuk menentukan nilai interaksi tambatan digunakan konformasi terbaik berdasarkan *best dock* (konformasi dengan nilai *scoring* paling rendah) dan *best cluster* (konformasi yang paling banyak dalam satu *cluster*).

Hasil *scoring* dari tiap analog dapat dilihat pada tabel 3-10, untuk penambatan analog dengan 1DDX dapat dilihat pada tabel 3-6, dan untuk penambatan analog dengan 1CX2 dapat dilihat pada tabel 7-10, sedangkan untuk penambatan kontrol positif dan negative dapat dilihat pada tabel 11 dan 12.

Penambatan analog dengan rantai 1DDX yang menunjukkan nilai K_i terendah dihasilkan dari penambatan analog VII dengan nilai K_i sebesar 22,997 nanomolar (nM) dan analog III dengan nilai K_i sebesar 24,975 nM. Analog VII memiliki nilai K_i yang relatif lebih kecil dibandingkan analog V yang memiliki nilai K_i sebesar 28,090 nM. Analog VII memiliki gugus dimetilamin pada salah satu gugusan benzennya dan gugus sulfonamid di gugus benzen lainnya, sedangkan analog V memiliki gugus benzen pada kedua sisinya. Sehingga analog VII relatif lebih nonpolar dibandingkan dengan analog V yang memiliki gugusan polar (sulfonamid) pada atom ke-4 kedua cincinnya. Analog VIII yang memiliki gugus klorida sehingga polaritasnya relatif lebih rendah dibandingkan dengan analog V dan VII. Hasil penambatannya menunjukkan bahwa analog VIII memiliki K_i 100,876 nM dan aktivitasnya jauh lebih rendah dari analog V dan VII. Hasil penambatan menunjukkan struktur simetris tidak diperlukan untuk menghasilkan penambatan yang baik dengan 1DDX. Hal ini dibuktikan oleh hasil penambatan analog II yang memiliki nilai K_i sebesar 130,744 nM dan dibandingkan dengan analog IV yang memiliki nilai K_i sebesar 75,555 nM. Analog IV yang kehilangan gugus 4-fenolik pada salah satu cincinnya ternyata memiliki penambatan dengan aktivitas

lebih baik dibandingkan dengan analog II yang memiliki gugus 4-fenolik pada kedua cincinnya. Hal yang serupa ditunjukkan oleh hasil penambatan analog III yang memiliki nilai K_i 24,975 nM dan lebih rendah dari analog I dengan nilai K_i 30,326 nM. Analog III yang kehilangan gugus 4-fenolik dan 3-metoksi pada salah satu cincinnya memiliki penambatan dengan aktivitas lebih baik dibandingkan dengan analog I yang memiliki gugus 4-fenolik dan 3-metoksi pada kedua cincinnya.

Analog I memiliki nilai K_i yang lebih rendah dibandingkan dengan nilai K_i analog II. Hal ini menunjukkan bahwa adanya gugus 3-metoksi akan memberikan peningkatan aktivitas penambatan senyawa dengan 1DDX. Hasil penambatan analog III yang lebih kecil dari analog IV juga memperkuat dugaan tersebut.

Penambatan analog dengan rantai 1CX2 yang menunjukkan nilai K_i terendah dihasilkan dari penambatan analog III dengan K_i sebesar 0,72 μ M dan analog II dengan K_i sebesar 2,62 μ M. Analog VI tidak memiliki nilai K_i karena nilai ΔG -nya positif. Terdapat peningkatan K_i yang cukup signifikan pada semua analog yang ditambatkan pada 1CX2 bila dibandingkan dengan penambatan pada 1DDX. Hal ini disebabkan oleh muatan heme yang mempengaruhi interaksi ikatan inhibisi analog-enzim. Heme akan memberikan muatan dan tolakan hingga senyawa membutuhkan energi untuk berinteraksi dengan sisi aktif siklooksigenase.

Dari hasil penambatan, analog III memiliki nilai K_i lebih rendah dibandingkan dengan analog I. Hal ini memberikan dugaan bahwa

senyawa dengan gugus 4-fenolik dan 3-metoksi pada salah satu cincin akan memiliki aktivitas inhibisi lebih kuat dibandingkan dengan senyawa yang memiliki gugus 4-fenolik dan 3-metoksi pada kedua cincinnya. Namun analog IV memiliki K_i yang lebih besar ($5,58 \mu\text{M}$) bila dibandingkan dengan analog II ($2,62 \mu\text{M}$). Analog II memiliki gugus simetris 4-fenolik pada kedua cincinnya, sedangkan analog IV hanya memiliki gugus 4-fenolik. Hal ini dimungkinkan bahwa keduanya dibutuhkan untuk aktivitas inhibisi sehingga kehilangan satu 4-fenolik dapat mengurangi aktivitas. Aktivitas analog IV yang relatif lebih rendah dari analog II lebih disebabkan oleh faktor sterik 3-metoksi yang memiliki pengaruh aktivitas lebih besar dibandingkan dengan pengaruh dari kepemilikan gugus 4-fenolik pada kedua cincin.

Hasil penambatan menunjukkan bahwa aktivitas analog I memiliki nilai K_i lebih rendah dari analog II dan analog III lebih rendah dari analog IV. Dari data ini dapat disimpulkan bahwa gugus 3-metoksi pada cincin akan meningkatkan aktivitas inhibisi siklooksigenasi dari senyawa tersebut.

Analog VIII memiliki nilai K_i yang lebih rendah dibandingkan dengan analog V dan analog VII. Analog V memiliki 2 gugus sulfonamid pada kedua cincin. Sedangkan gugus sulfonamid ini relatif lebih polar dibandingkan dengan gugus dimetilamin yang dimiliki analog VII dan gugus klorida pada analog VIII.

Analog V memiliki nilai K_i yang relatif lebih tinggi dibandingkan dengan analog II dan IV. Hal ini menunjukkan bahwa gugus 4-fenolik lebih baik dari gugus 4-sulfonamid sebagai gugus farmakofor inhibisi siklooksigenase-2.

Bila dibandingkan dengan aspirin, kedelapan analog memiliki aktivitas yang lebih baik, kecuali analog I. Aktivitas analog I yang lebih rendah dari aspirin ini juga telah dikemukakan oleh penelitian sebelumnya tentang analog I. Aktivitas kedelapannya lebih kecil dari aktivitas Celecoxib. Hal ini mungkin disebabkan aktivitas aspirin yang tidak selektif COX-2, sedangkan Celecoxib selektif COX-2 sehingga aktifitas inhibisi Celecoxib jauh lebih besar dari aspirin. Kontrol negatif tetrasiklin menunjukkan hasil penambatan yang tidak memiliki aktivitas inhibisi karena ΔG ikatan yang positif dan nilai K_i tidak ada untuk senyawa tersebut.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

Hasil penambatan molekuler menunjukkan semua analog berpotensi sebagai inhibitor siklooksigenase. kecuali analog VI ketika ditambatkan dengan 1CX2. Aktivitas tertinggi dimiliki oleh analog III. K_i penambatan sebesar $0,023 \mu\text{M}$ ketika ditambatkan dengan 1DDX dan $0,661 \mu\text{M}$ dengan 1CX2. Hasil penambatan menunjukkan analog I yang simetris gugus 3-metoksi dan 4-fenolik pada kedua cincinnya memiliki nilai K_i yang lebih tinggi dari analog III yang hanya memiliki gugus tersebut pada kedua cincinnya. Aktivitas terendah penambatan dengan 1DDX dimiliki oleh analog II dengan nilai K_i sebesar $0,1307 \mu\text{M}$ sedangkan aktivitas terendah penambatan dengan 1CX2 ditunjukkan oleh analog I dengan nilai K_i sebesar $851,48 \mu\text{M}$.

B. SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap analog-analog yang diuji dan diamati hubungannya dengan hasil penelitian secara *in vivo* dan atau *in vitro*,
2. Perlu kalkulasi dan minimisasi yang lebih optimum agar data yang didapatkan lebih konvergen,

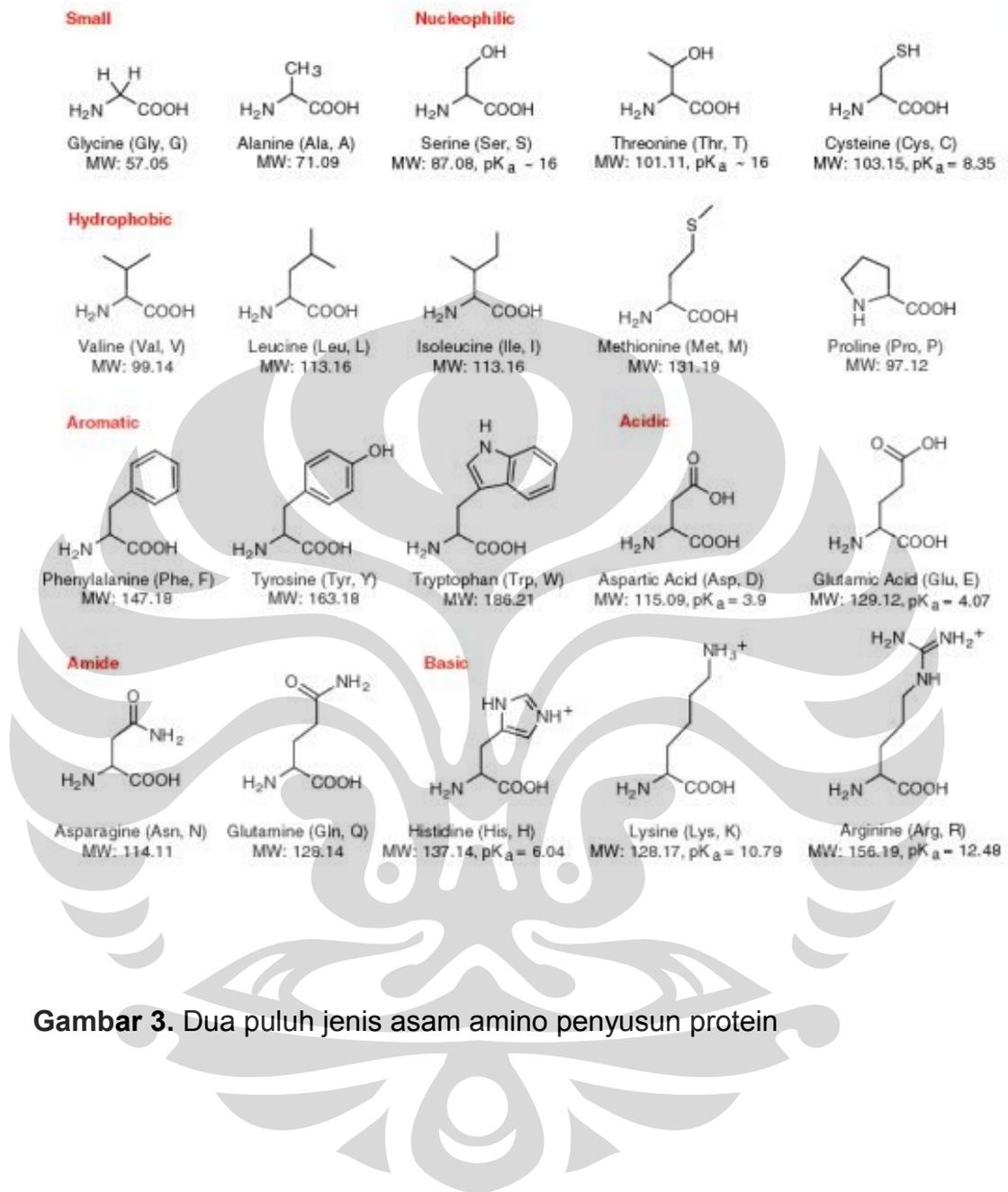
3. Perlu dilakukan *virtual screening* analog-analog kurkumin lain yang potensial sebagai inhibitor siklooksigenase-2 baik dari turunan dibenzilidenasikloheksanon ataupun dari golongan lainnya



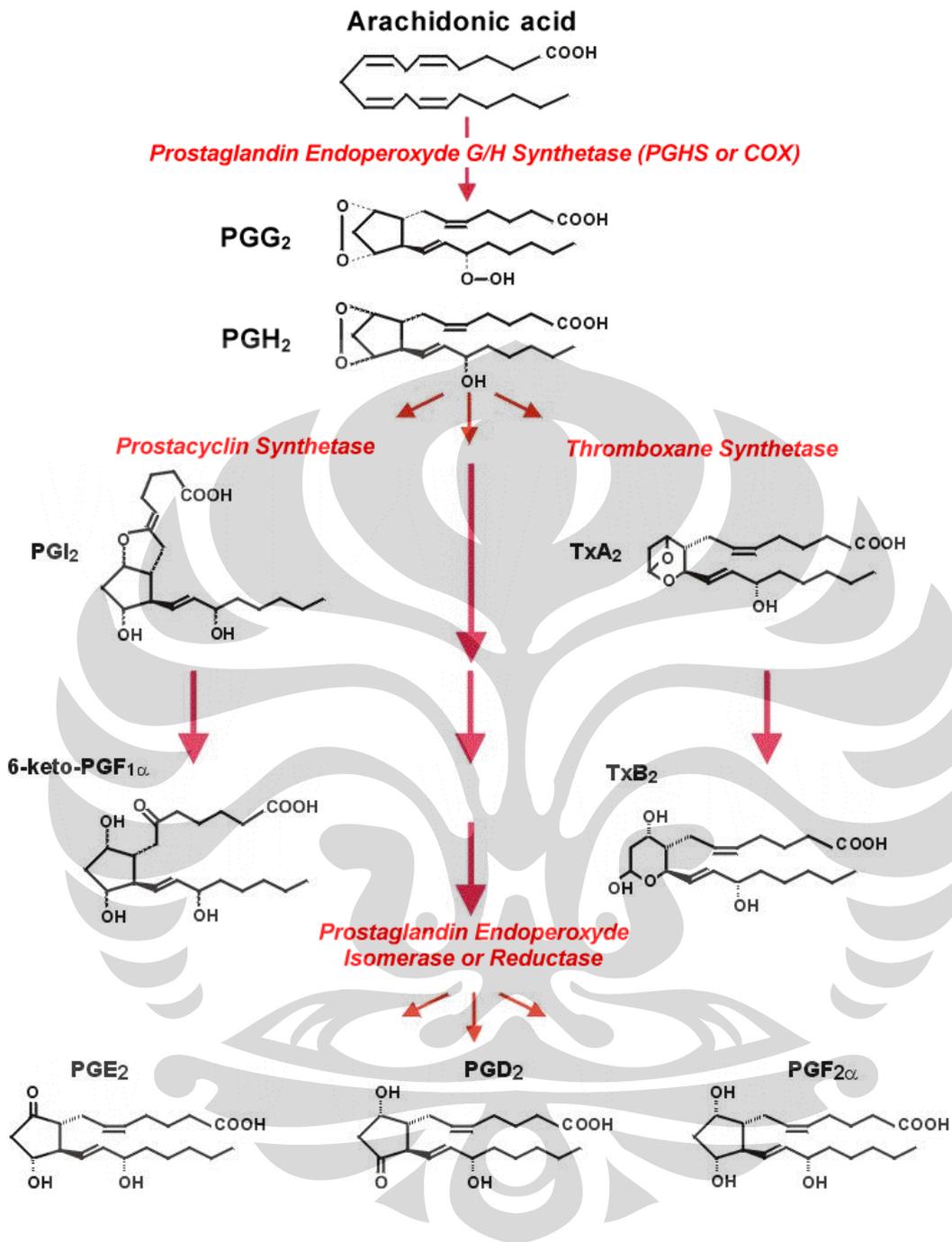
DAFTAR ACUAN

1. Dubois, N. R., *et al.* "Cyclooxygenase in Biology and Disease." *The FASEB Journal*. 1998, **12**:1063-1073.
2. Anand, P., *et al.* "Biological Activities of Curcumin and Its Analogues (Congeners) Made by Man and Mother Nature." *Biochemical Pharmacology*. 2008, **76**(11): 1590-1611. doi:10.1016/j.bcp.2008.08.008.
3. Araujo, CAC, LL Leon. "Biological Activities of *Curcuma longa* L." *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2001, **96**(5): 723-728.
4. Sharma, R. A, Gescher AJ, Steward WP. "Curcumin: The Story So Far" *European Journal of Cancer*. 2005, **41**:1955-1968. DOI: 10.1016/j.ejca.2005.05.009.
5. Ekins, S., *et al.* "In silico Pharmacology for Drug Discovery: Application to Targets and Beyond." *British Journal of Pharmacology Review*. 2007, **152**: 21-37. DOI: 10.1038/sj.bjp.0707306.
6. Ragno, R., *et al.* "Molecular Docking Tutorial". <http://www.mmvsl.farm.unipi.it/> (12 Juli 2009).
7. Murray, Robert K., *et al.* *Harper's Illustrated Biochemistry*. 26th Ed. USA: Mc Graw Hill, 2003.
8. Wilmana, P. Freddy. "Analgesik-Antipiretik Analgesik Antiinflamasi Nonsteroid dan Obat Pira." *Farmakologi dan Terapi Edisi 5. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran – Universitas Indonesia*, 2007: 230-242.
9. Aggarwal, Barat B., *et al.* "Curcumin Derived from Turmeric (*Curcuma longa*): a Spice for All Seasons." *CRC Press*. 2005:359. <http://www.agrawal.org/PDF/Curcumin-Season-Bw1.pdf> (10 Juli 2009).
10. Anonim. *Materia Medika Indonesia*. Jilid 1. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1977: 47.
11. Nurfina, A. N., *et al.* "Synthesis of Some Symmetrical Curcumin Derivatives and Their Antiinflammatory Activity". *Eur. J. Med. Ch*. 1997, **32**(4): 321-328.
12. N, Handler, *et al.* "Synthesis of novel curcumin analogues and their evaluation as selective cyclooxygenase-1 (COX-1) inhibitors". *Chem Pharm Bull* (Tokyo). 2007 Jan;**55**(1):64-71.

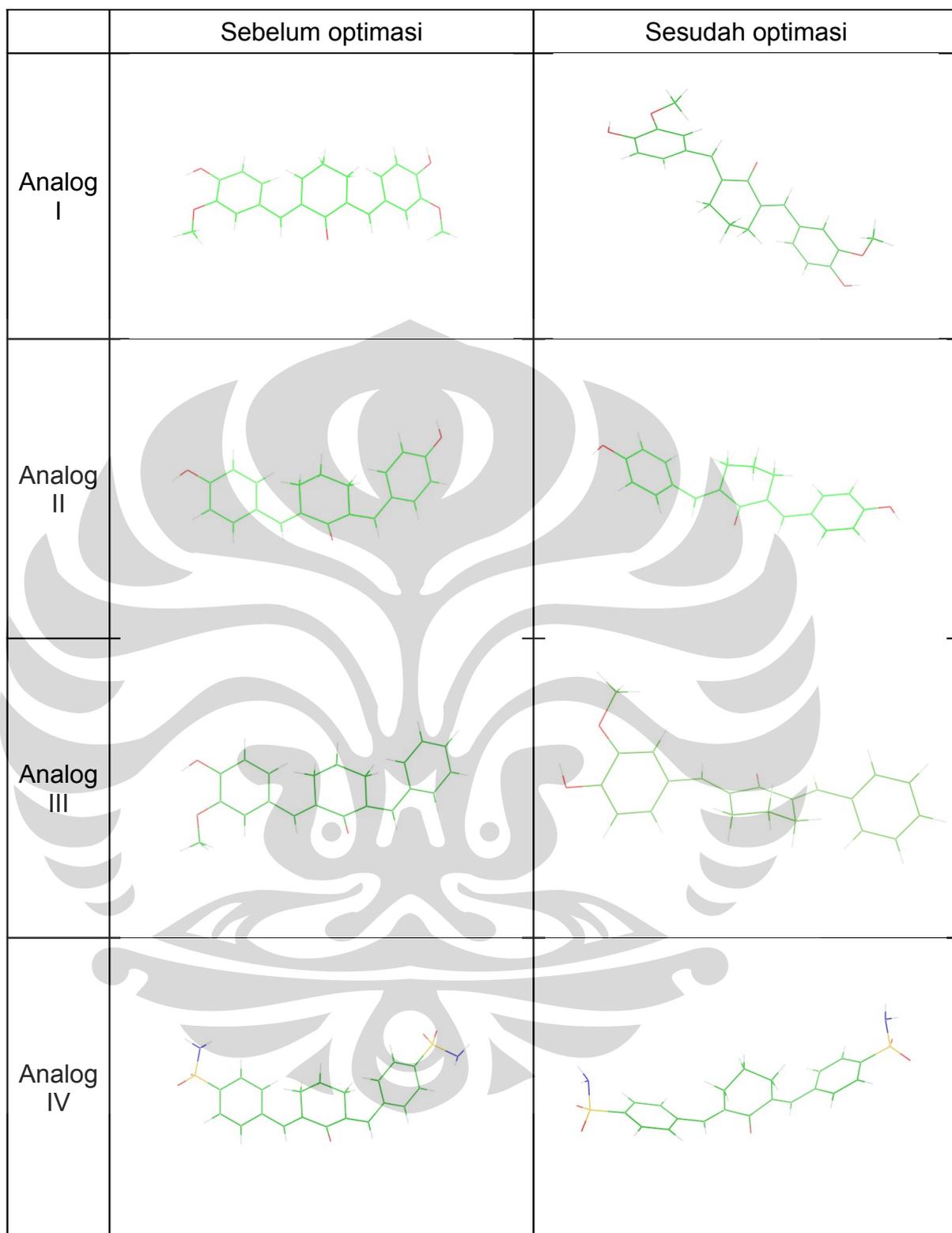
13. Nurrochmad, A., Supardjan, A. M., Sardjiman. Penghambatan Siklooksigenase oleh Siklovalon dan Tiga Senyawa Analognya. 1997.
14. Lengauer T, Rarey M. "Computational Methods for Biomolecular Docking". *Curr. Opin. Struct. Biol.* 1996, **6**(3):402-406. DOI:10.1016/S0959-440X(96)80061-3
15. Kitchen, Douglas B., *et al.* "Docking and Scoring in Virtual Screening for Drug Discovery: Methods and Applications", 2004. doi: 10.1028/nrd1549.
16. Anonymous. "About the PDB Archive and the RSCB PDB". 2008. http://www.rscb.org/pdb/static.do?p=general_information/about_pdb/index.html/ (12 Agustus 2009).
17. DeLano, W. L. "PyMol User's Guide." <http://pymol.sourceforge.net/newman/userman.pdf/> (4 Agustus 2009).
18. Morris, G. M., *et al.* User Guide Autodock: Automated Docking of Flexible Ligand to Receptors. <http://autodock.scripps.edu/> (14 Juli 2009).
19. Anonim. "UCSF Chimera, an Extensible Molecular Modelling System". <http://www.cgl.ucsf.edu/chimera/index.html/> (Agustus 2009).
20. Anonim. "MOE: The Molecular Operating Environment". <http://www.chem.ac.ru/Chemistry/Soft/MOPERENV.en.html/> (12 Juli 2009).
21. Anonim. "The CCP4 Suite: Program for Protein Crystallography." *Acta Cryst.* 1994, **50**: 760-763.
22. Briggs, Peter. "What's New in CCP4 6,0" *CCP4 Newsletter*. 2006. <http://www.ccp4.ac.uk/newsletters/newsletter44/articles/newin6.0.html/> (12 Juli 2009).
23. Pedretti, Alessandro, Angelica Mazzolari, dan Giulio Vistoli. *VegaZZ: a Versatile Toolkit for Drug Design and Protein Modelling*. *J.C.A.M.D.*, Vol. 18, 167-173. 2004. 18: 167-173.
24. Anonim. *Cygwin User's Guide*. <http://www.cygwin.com/cygwin-ug-net/overview.html/> 13 Oktober 2009.



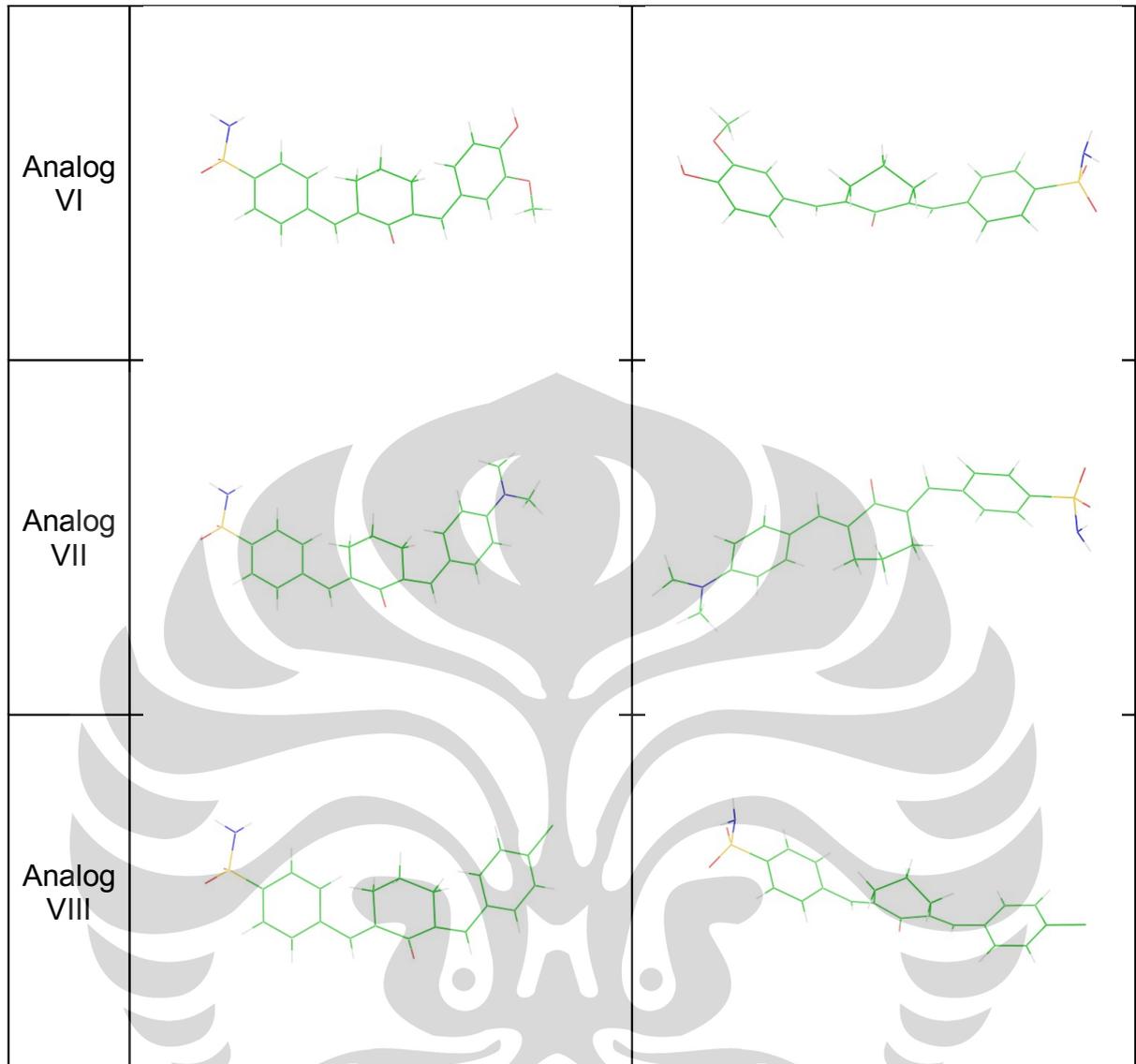
Gambar 3. Dua puluh jenis asam amino penyusun protein



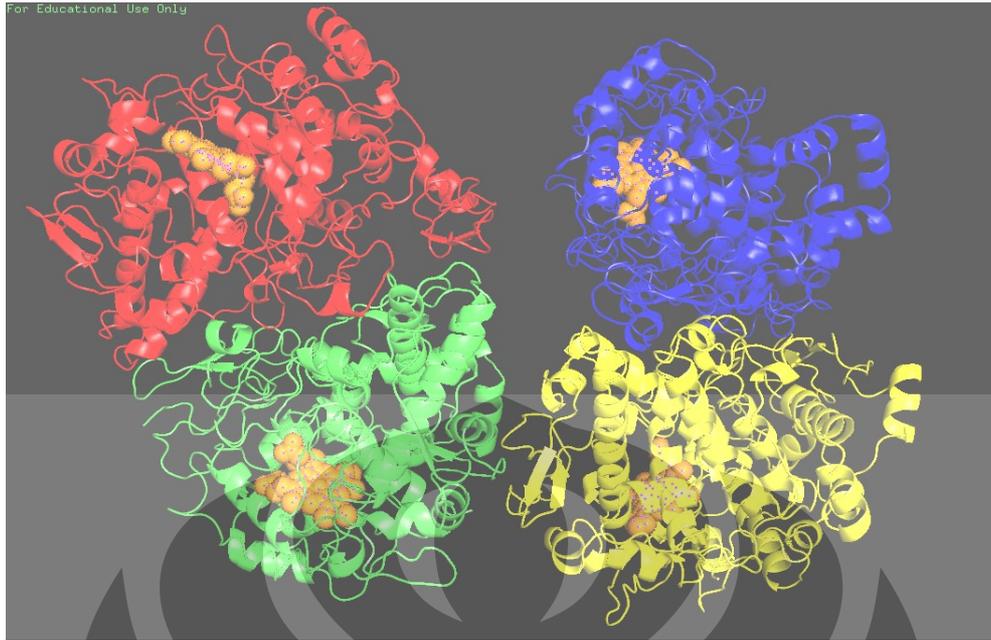
Gambar 4. Jalur sintesis PG terkatalis COX



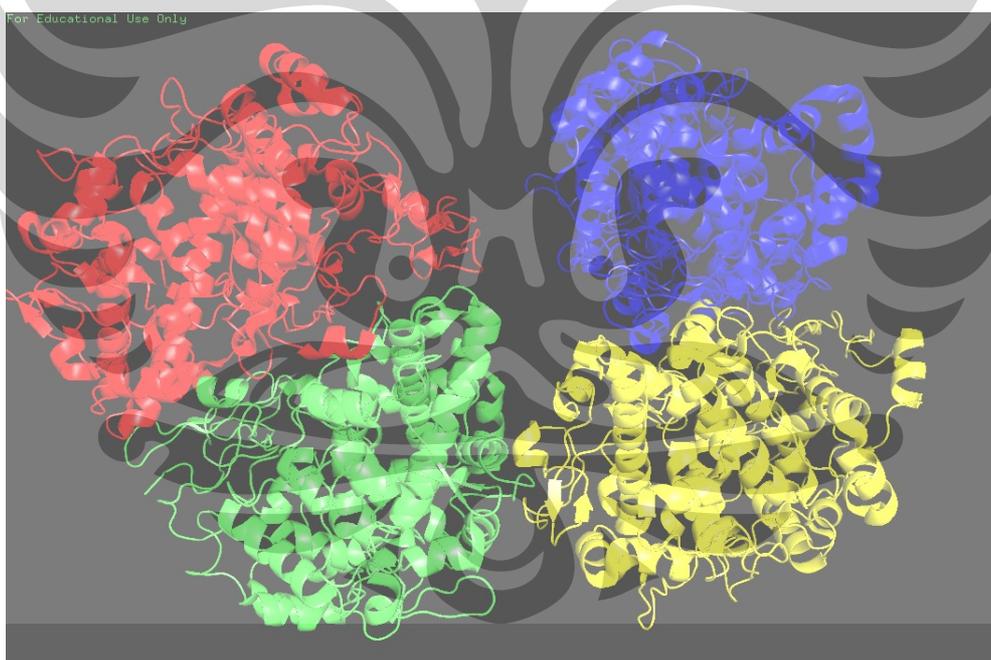
Gambar 5. Struktur tiga dimensi analog I-IV, sebelum dan sesudah optimasi.



Gambar 6. Struktur tiga dimensi analog V-VIII, sebelum dan sesudah optimasi.

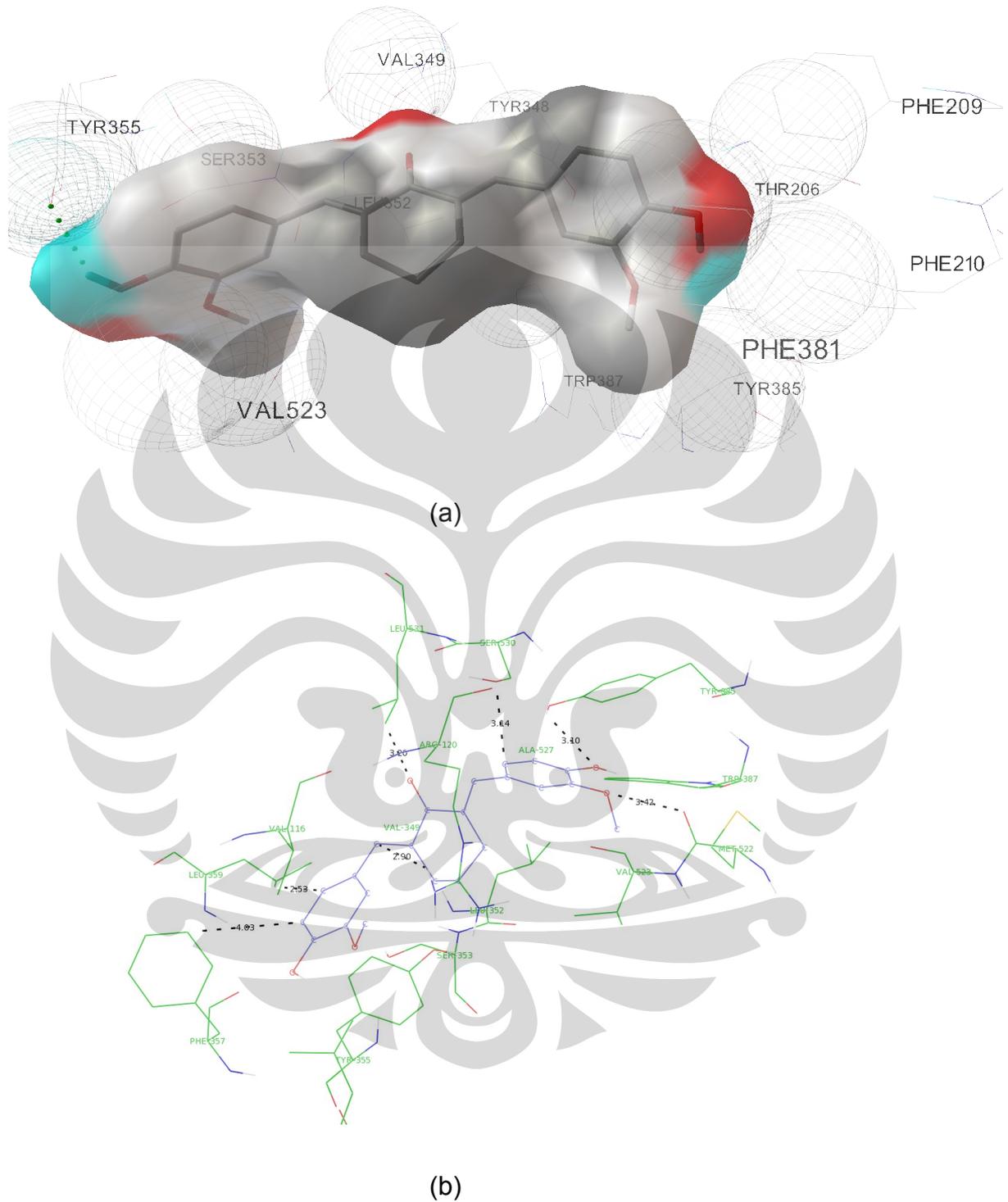


(a)

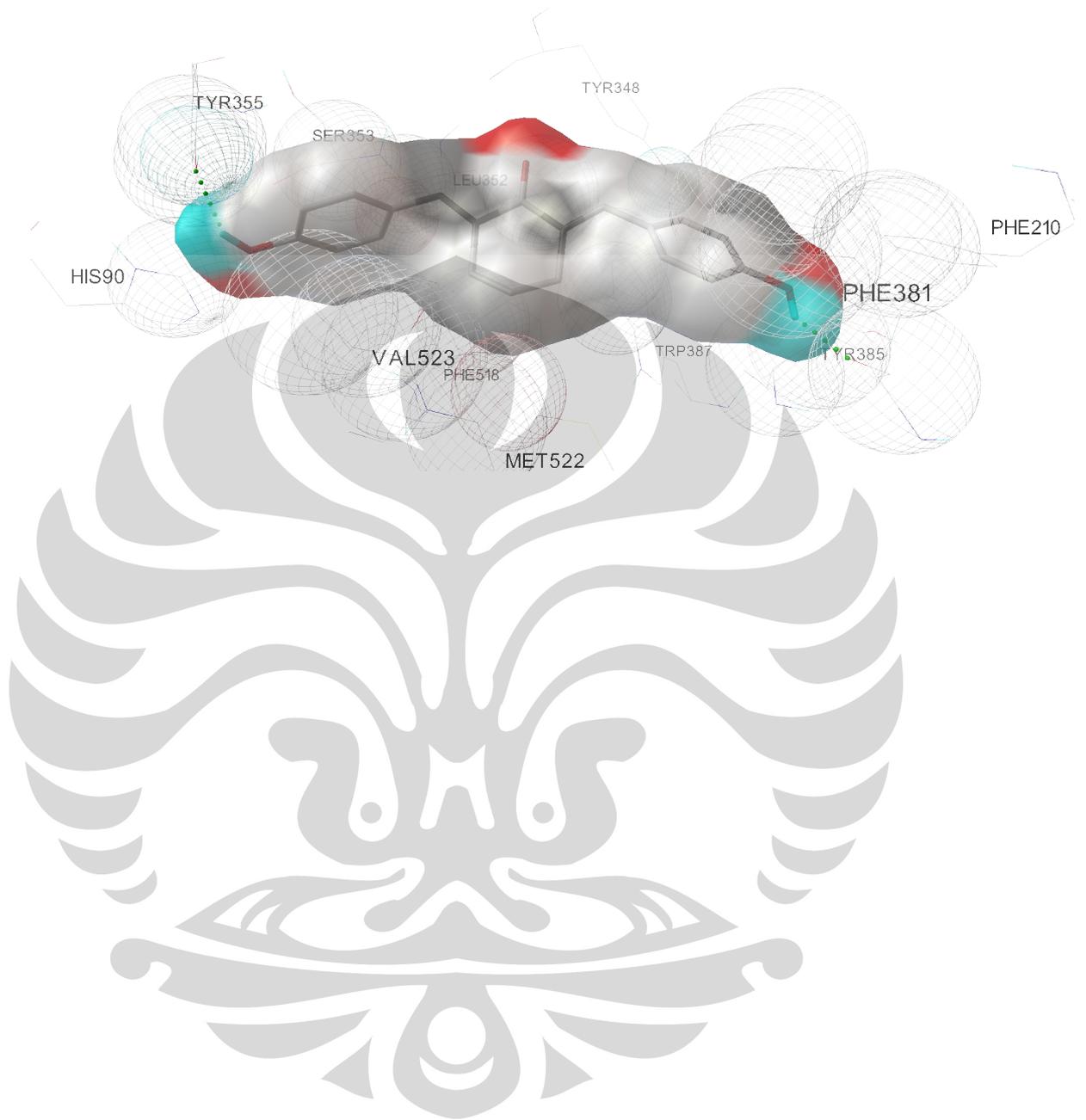


(b)

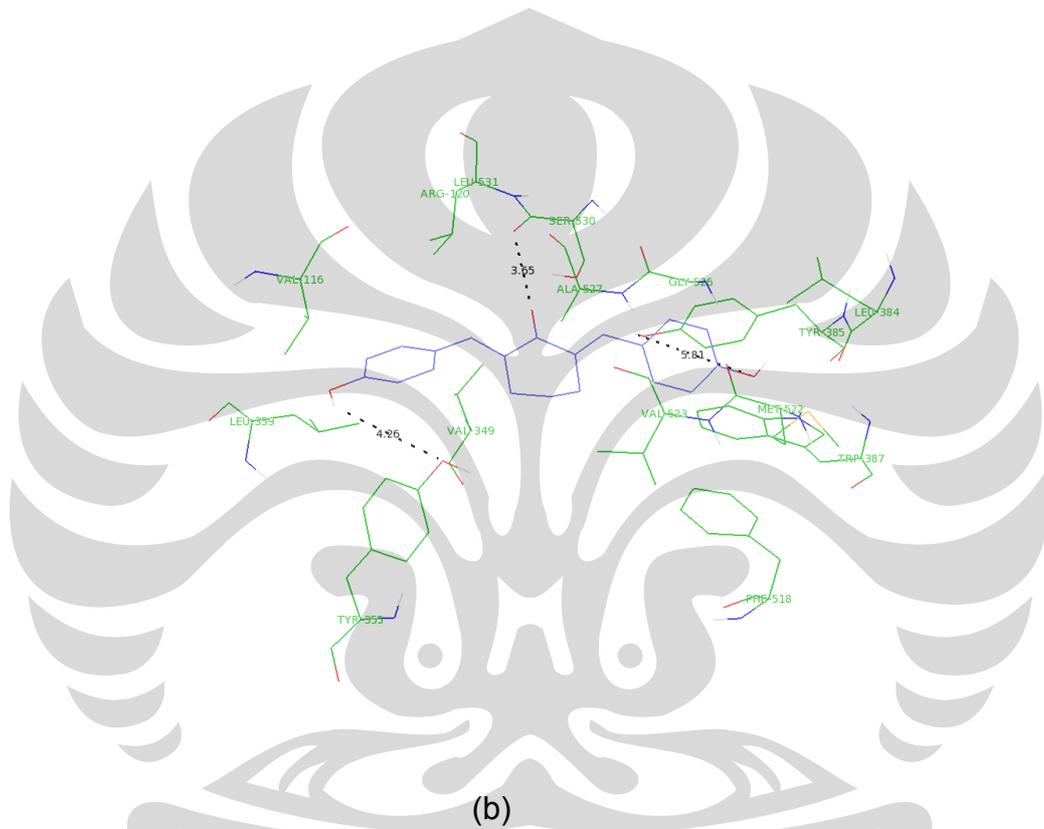
Gambar 7. Struktur kristal PDB siklooksigenase-2 1CX2 (a) dan 1ddx (b). Keduanya memiliki empat rantai, rantai A (hijau), B (merah), C (biru), dan D (kuning). 1CX2 memiliki gugus heme (sferik warna oranye).



Gambar 8. Visualisasi hasil penambatan molekuler ligan analog I dengan protein target 1CX2 menggunakan ADT (a) dan PyMOL (b)

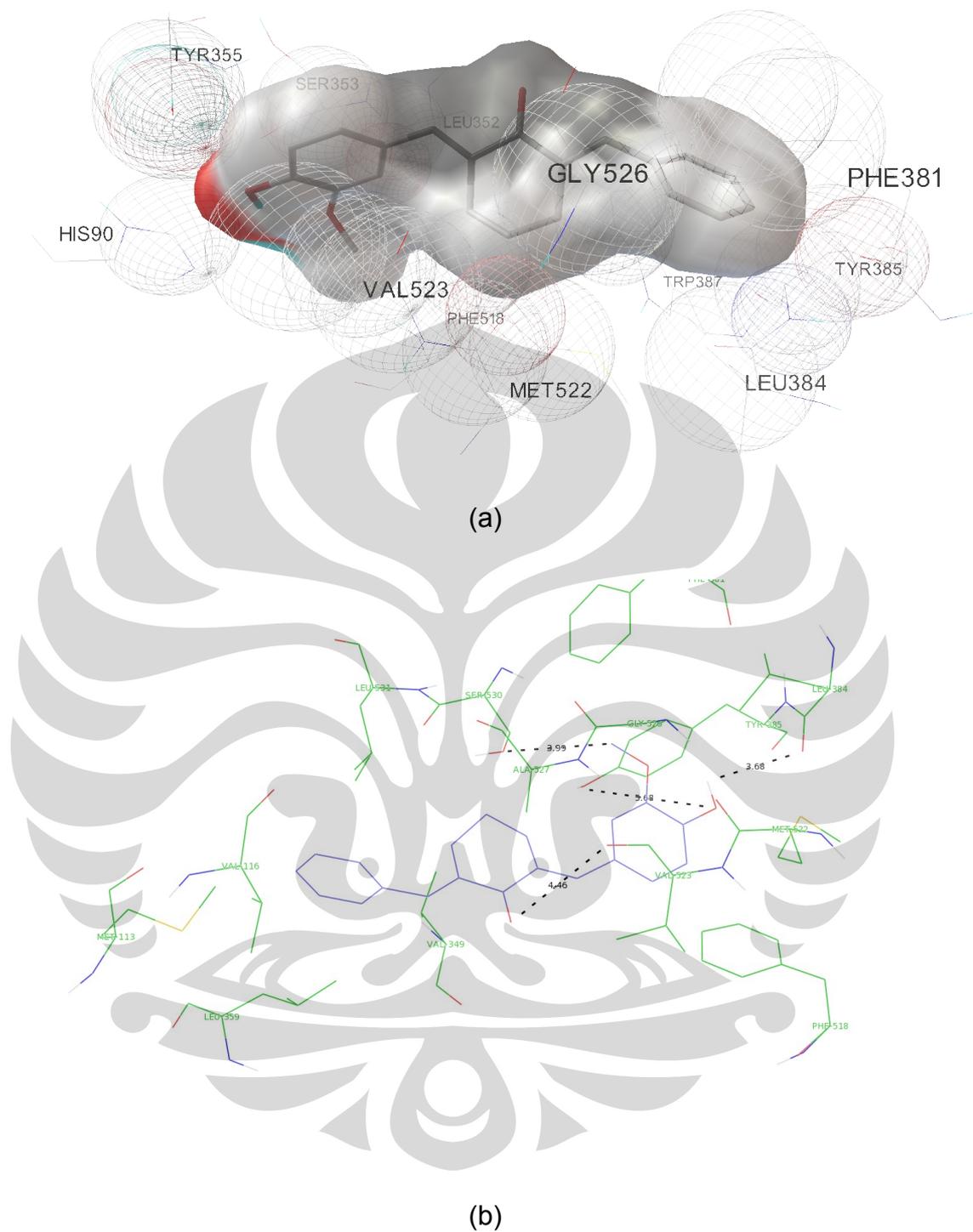


(a)

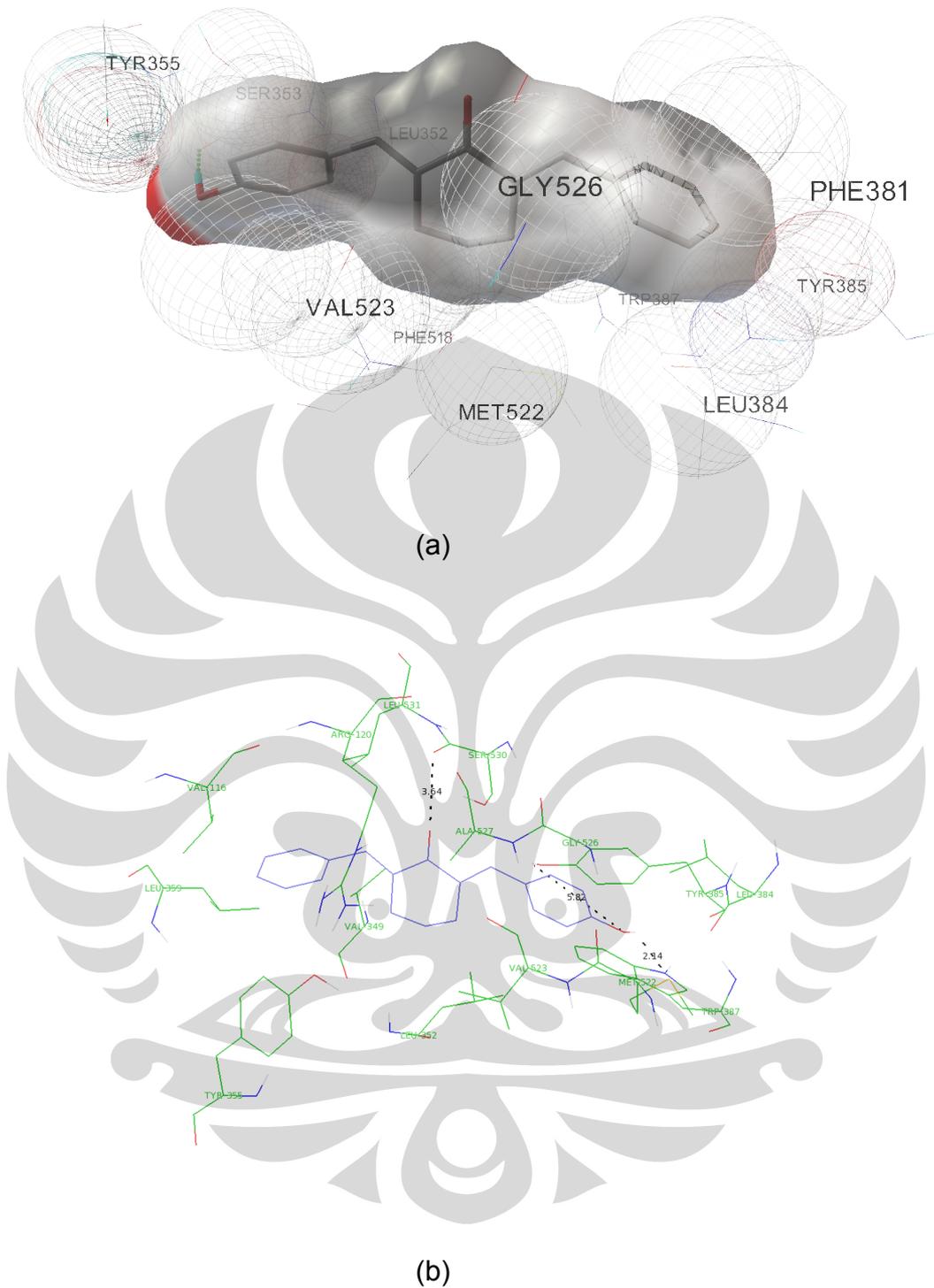


(b)

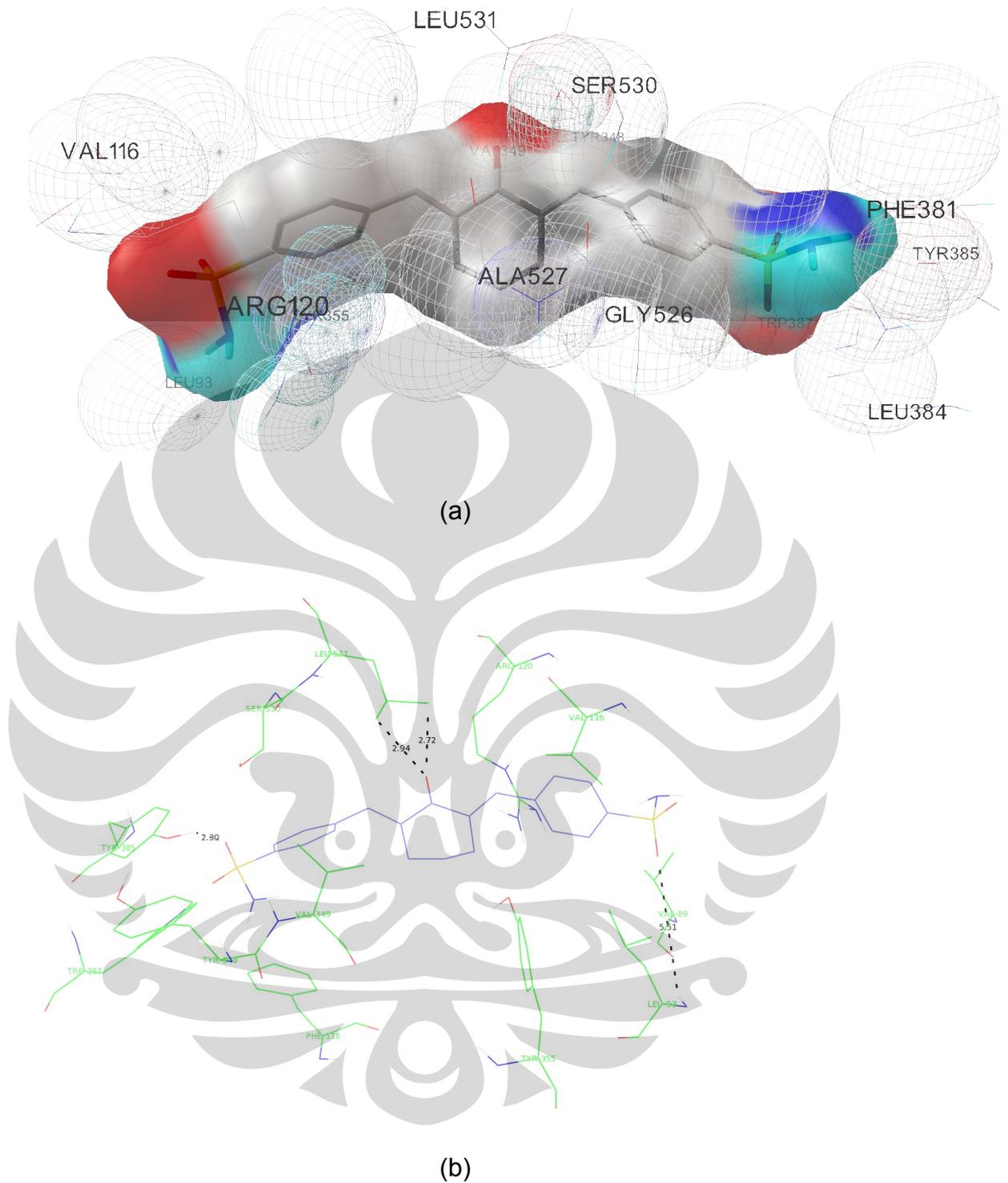
Gambar 9. Visualisasi hasil penambatan molekuler ligan analog II dengan protein target 1CX2 menggunakan ADT (a) dan PyMOL (b)



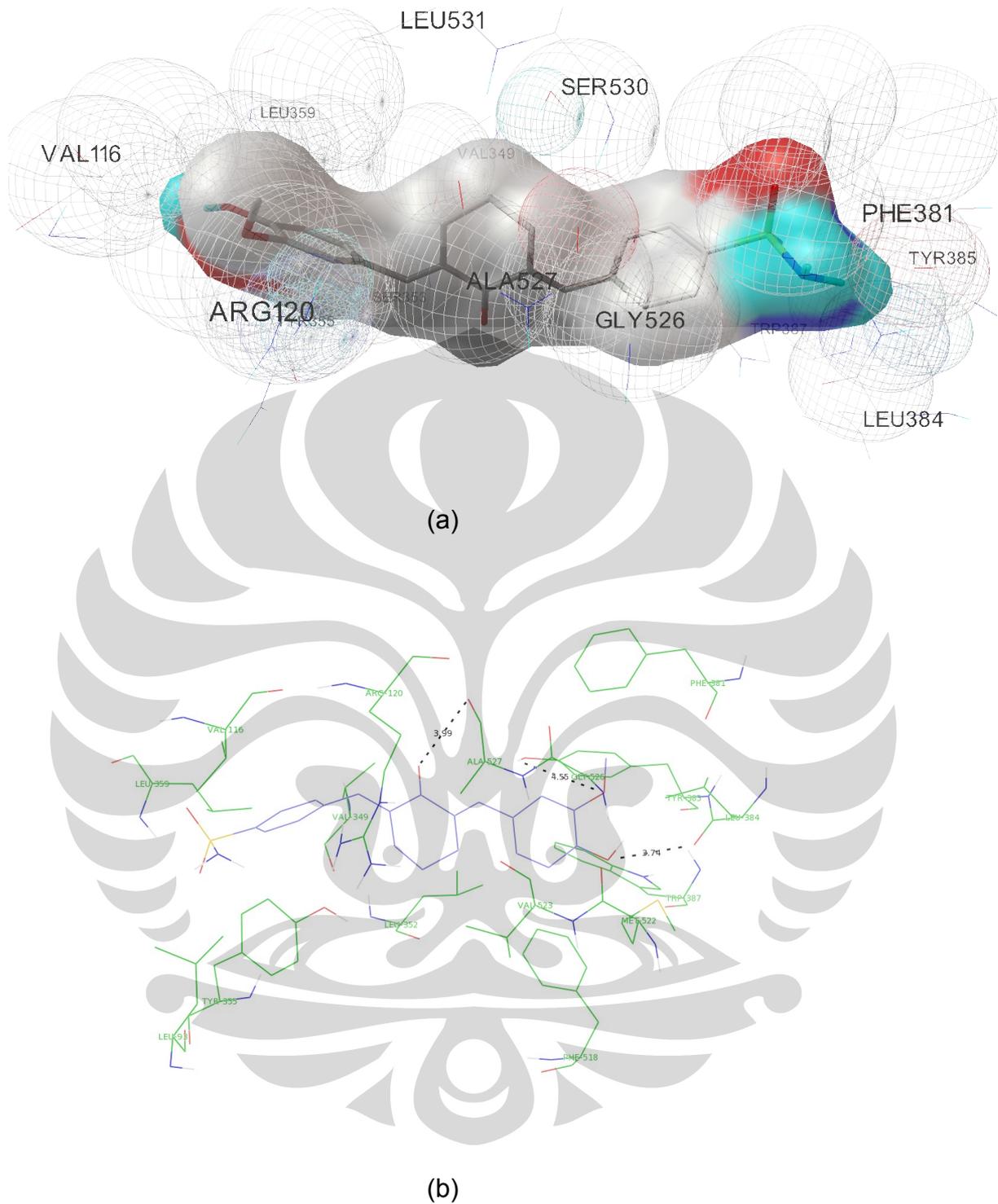
Gambar 10. Visualisasi hasil penambatan molekuler ligan analog III dengan protein target 1CX2 menggunakan ADT (a) dan PyMOL (b)



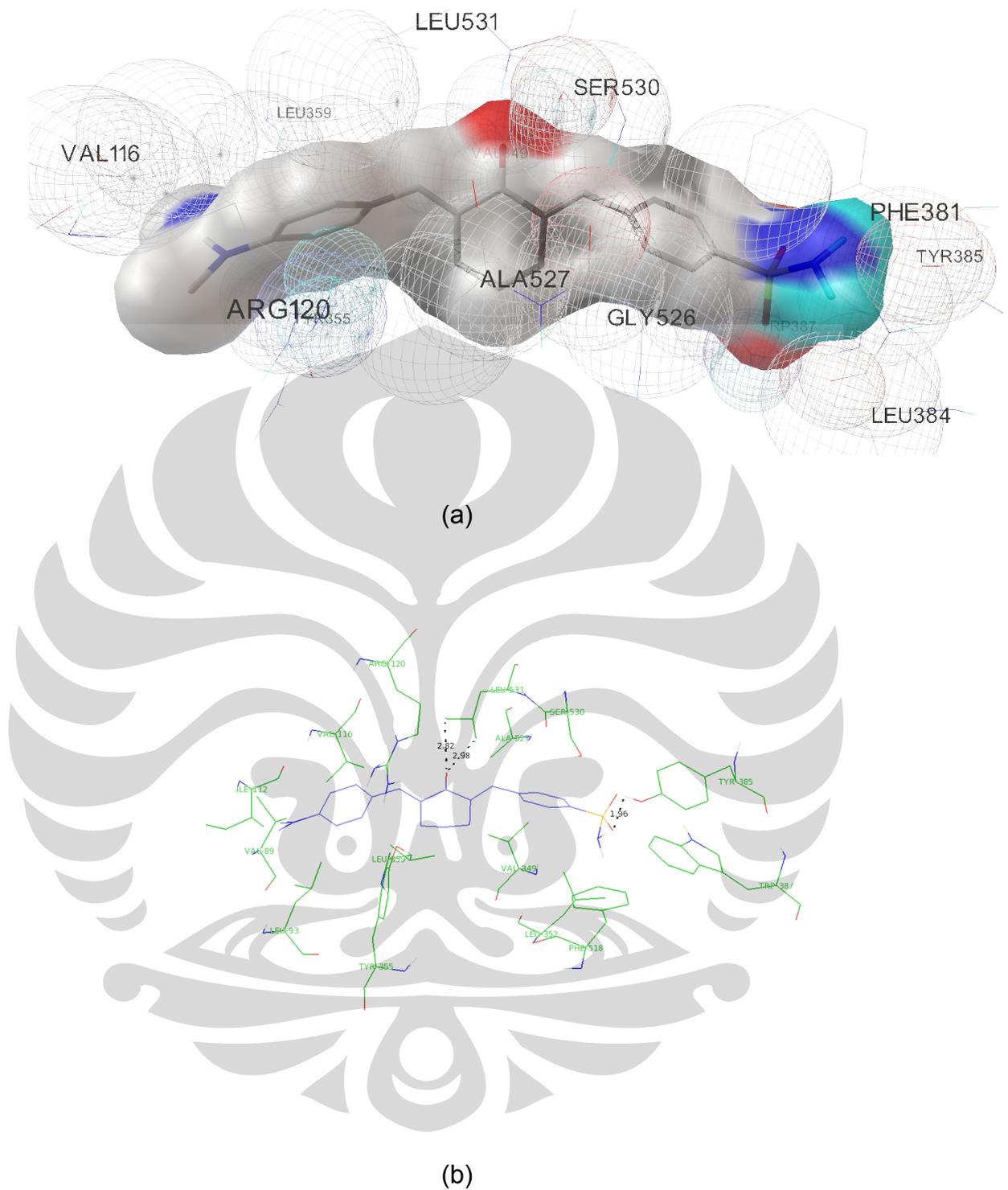
Gambar 11. Visualisasi hasil penambatan molekuler ligan analog IV dengan protein target 1CX2 menggunakan ADT (a) dan PyMOL (b)



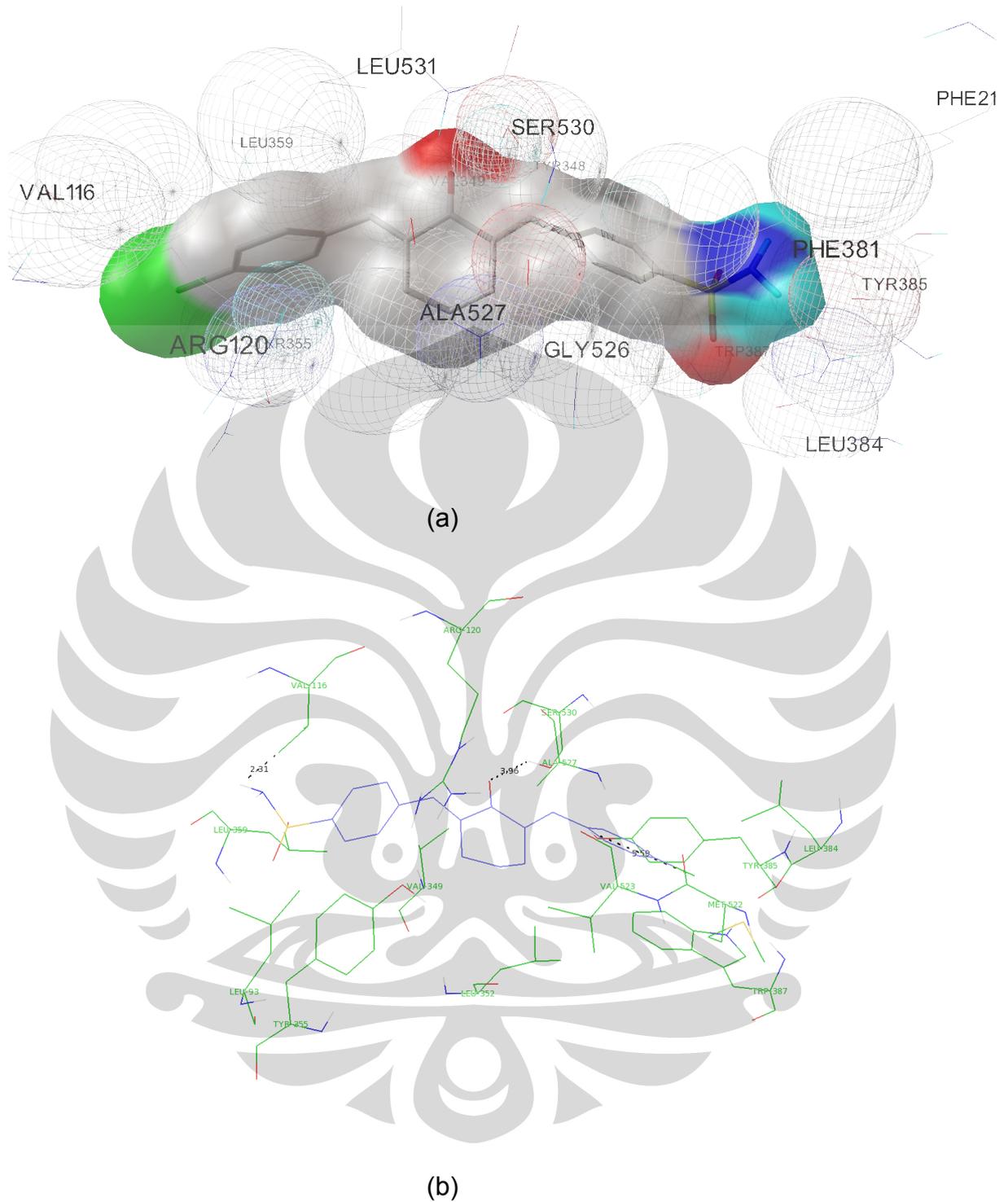
Gambar 12. Visualisasi hasil penambatan molekuler ligan analog V dengan protein target 1CX2 menggunakan ADT (a) dan PyMOL (b)



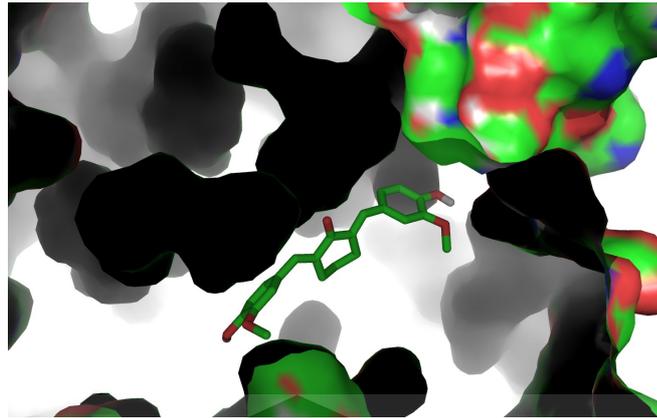
Gambar 13. Visualisasi hasil penambatan molekuler ligan analog VI dengan protein target 1CX2 menggunakan ADT (a) dan PyMOL (b)



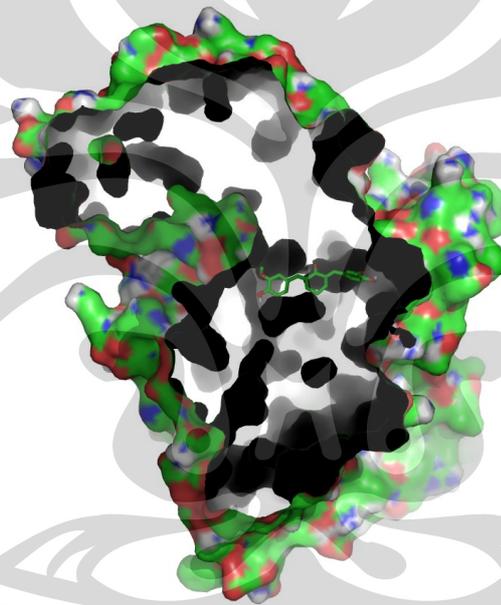
Gambar 14. Visualisasi hasil penambatan molekuler ligan analog VII dengan protein target 1CX2 menggunakan ADT (a) dan PyMOL (b)



Gambar 15. Visualisasi hasil penambatan molekuler ligan analog VIII dengan protein target 1CX2 menggunakan ADT (a) dan PyMOL (b)



(a)



(b)

Gambar 16. Simulasi analog yang berikatan pada sisi aktif tampak dekat (a) dan tampak jauh (b)

Tabel 2.

Daftar struktur kristal siklooksigenase yang tersedia pada *PDB*

| No | Kode | Ligan yang mengikat | Jenis Enzim | Spesies |
|----|------|----------------------------------|---|---------------|
| 1 | 1igx | Asam Eikosapentanoat | Prostaglandin Endoperoksida H Sintase-1 | Domba |
| 2 | 1igz | Asam Linoleat | Prostaglandin Endoperoksida H Sintase-1 | Domba |
| 3 | 1diy | Asam Arakidonat | Prostaglandin Endoperoksida H Sintase-1 | Domba |
| 4 | 1pge | Iodosuprofen | Prostaglandin Endoperoksida H Sintase-1 | Domba |
| 5 | 1pgf | iodoindometacin cis model | Prostaglandin Endoperoksida H Sintase-1 | Domba |
| 6 | 1pgg | iodoindometacin trans model | Prostaglandin Endoperoksida H Sintase-1 | Domba |
| 7 | 1fe2 | asam dihomogamma-linoleat | Prostaglandin Endoperoksida H Sintase-1 | Domba |
| 8 | 1prh | - | Prostaglandin Endoperoksida H Sintase-1 | Domba |
| 9 | 1cvu | Asam Arakidonat | Prostaglandin Endoperoksida H2 Sintase-2 | Mencit |
| 10 | 1ddx | Prostaglandin & Asam Arakidonat | Prostaglandin Endoperoksida H2 Sintase-2 | Mencit |
| 11 | 1cqe | Flurbiprofen | Prostaglandin Endoperoksida H Sintase-1 | Domba |
| 12 | 1q4g | Asam alfa-metil-4-bifenilasetat | Prostaglandin Endoperoksida H Sintase-1 | Domba |
| 13 | 6cox | SC-558 | Prostaglandin Endoperoksida H2 Sintase-2 | Mencit |
| 14 | 1pxx | Diklofenak | Prostaglandin Endoperoksida H2 Sintase-2 | Mencit |
| 15 | 2oye | Indometasin-alfa-etil-etanolamid | Prostaglandin Endoperoksida H Sintase-1 | Domba |
| 16 | 1cx2 | SC-558 | Prostaglandin Endoperoksida H2 Sintase-2 | Mencit |
| 17 | 3pgh | Flurbiprofen | Prostaglandin Endoperoksida H2 Sintase-2 | Mencit |
| 18 | 4cox | Indometasin | Prostaglandin Endoperoksida H2 Sintase-2 | Mencit |
| 19 | 5cox | - | Prostaglandin Endoperoksida H2 Sintase-2 | Mencit |
| 20 | 1pth | Aspirin | Prostaglandin Endoperoksida H Sintase-1 | Domba |
| 21 | 1eqg | Ibuprofen | Prostaglandin Endoperoksida H Sintase-1 | Domba |
| 22 | 1eqh | Flurbiprofen | Prostaglandin Endoperoksida H Sintase-1 | Domba |
| 23 | 2ayl | Flurbiprofen | Prostaglandin Endoperoksida H Sintase-1 | Domba |

Tabel 3

Peringkat analog berdasarkan rata-rata ΔG terendah dari kluster terbaik. Penambatan dengan 1DDX.

| Peringkat kluster terbaik | Analog | Rata-rata ΔG (kkal/mol) | SD ΔG (kkal/mol) |
|---------------------------|--------|---------------------------------|--------------------------|
| 1 | III | -10.287 | 0,25660 |
| 2 | I | -10.279 | 0,00851 |
| 3 | VII | -10.233 | 0,00466 |
| 4 | VI | -10.040 | 0,03477 |
| 5 | V | -9.959 | 0,07662 |
| 6 | IV | -9.622 | 0,06620 |
| 7 | VIII | -9.362 | 0,00468 |
| 8 | II | -9.220 | 0,02551 |

Tabel 4

Peringkat analog berdasarkan rata-rata K_i terendah dari kluster terbaik. Penambatan dengan 1DDX.

| Peringkat kluster terbaik | Analog | Rata-rata k_i (nM) | SD K_i (nM) |
|---------------------------|--------|----------------------|---------------|
| 1 | VII | 22.997 | 0,34567 |
| 2 | III | 24.975 | 3.27980 |
| 3 | V | 28.090 | 0,14533 |
| 4 | I | 30.326 | 3.32572 |
| 5 | VI | 31.432 | 1.56949 |
| 6 | IV | 75.555 | 0.91057 |
| 7 | VIII | 100.876 | 0.24566 |
| 8 | II | 130.744 | 1.50063 |

Tabel 5

Data ΔG kluster dan penambatan terbaik hasil penambatan pada 1DDX.

| Analog | | Triplo I | | | | Triplo II | | | | Triplo III | | | |
|-------------|-----------|----------------------|----|-------------------------|----|----------------------|----|-------------------------|----|----------------------|----|-------------------------|----|
| | | Best dock (kkal/mol) | % | Best Cluster (kkal/mol) | % | Best dock (kkal/mol) | % | Best Cluster (kkal/mol) | % | Best dock (kkal/mol) | % | Best Cluster (kkal/mol) | % |
| Analog I | Terendah | -11.06 | 4 | -10.26 | 18 | -10.99 | | | 10 | -10.95 | 8 | -10.25 | 11 |
| | Rata-rata | -10.90 | | -10.13 | | -10.71 | | | | -10.71 | | -10.13 | |
| Analog II | Terendah | -9.58 | 8 | -9.41 | 41 | -9.62 | 10 | -9.40 | 51 | -9.61 | 13 | -9.37 | 54 |
| | Rata-rata | -9.37 | | -9.22 | | -9.247 | | -9.21 | | -9.34 | | -9.23 | |
| Analog III | Terendah | -10.37 | | | 17 | -10.38 | | | 15 | -10.37 | | | 17 |
| | Rata-rata | -10.29 | | | | -10.28 | | | | -10.29 | | | |
| Analog IV | Terendah | -9.75 | 16 | -9.75 | 41 | -9.73 | 22 | -9.70 | 37 | -9.76 | 16 | -9.64 | 34 |
| | Rata-rata | -9.65 | | -9.64 | | -9.64 | | -9.65 | | -9.64 | | -9.57 | |
| Analog V | Terendah | -10.34 | | | 20 | -10.26 | 12 | -10.26 | 18 | -10.30 | | | 24 |
| | Rata-rata | -9.93 | | | | -9.92 | | -9.87 | | -10.05 | | | |
| Analog VI | Terendah | -10.38 | 5 | -10.26 | 7 | -10.37 | 6 | -10.23 | 8 | -10.47 | 6 | -10.22 | 9 |
| | Rata-rata | -10.20 | | -10.13 | | -10.09 | | -10.04 | | -10.29 | | -9.97 | |
| Analog VII | Terendah | -10.42 | | | 57 | -10.43 | | | 55 | -10.42 | | | 60 |
| | Rata-rata | -10.23 | | | | -10.24 | | | | -10.23 | | | |
| Analog VIII | Terendah | -9.61 | 16 | -9.55 | 30 | -9.57 | 21 | -9.53 | 31 | 9.62 | 16 | 9.55 | 38 |
| | Rata-rata | -9.42 | | -9.40 | | -9.35 | | -9.34 | | 9.45 | | 9.35 | |

Tabel 6

Data Ki kluster dan penambatan terbaik hasil penambatan pada 1DDX

| Analog | Triplo I | | | | Triplo II | | | | Triplo III | | | |
|--------|----------------|--------|-------------------|--------|----------------|--------|-------------------|--------|----------------|--------|-------------------|----|
| | Best dock (nM) | % | Best Cluster (nM) | % | Best dock (nM) | % | Best Cluster (nM) | % | Best dock (nM) | % | Best Cluster (nM) | % |
| I | 7.86 | 4 | 30.06 | 1 8 | 8.78 | | | 1 0 | 9.37 | 8 | 30.76 | 11 |
| II | 95.41 | 8 | 127.45 | 4 1 | 89.43 | 1 0 | 128.95 | 5 1 | 90.12 | 1 3 | 134.94 | 54 |
| III | 25.09 | | | 1 7 | 24.76 | | | 1 5 | 25.05 | | | 17 |
| IV | 71.11 | 1 6 | 71.4 | 4 1 | 73.61 | 2 2 | 78.15 | 3 7 | 70.55 | 1 6 | 78.40 | 34 |
| V | 26.16 | | | 2 0 | 29.95 | | | 1 2 | 30.14 | 1 8 | 28.16 | 24 |
| VI | 24.48 | 5 | 30.07 | 7 | 25.00 | 6 | 31.77 | 8 | 21.28 | 6 | 32.19 | 9 |
| VII | 23.16 | | | 5 7 | 22.64 | | | 5 5 | 23.17 | | | 60 |
| VIII | 90.57 | 1 6 | 99.55 | 3 0 | 96.71 | 2 1 | 103.06 | 3 1 | 88.78 | 1 6 | 100.14 | 38 |

Tabel 7

Data ΔG kluster dan penambatan terbaik hasil penambatan pada 1CX2

| Analog | | Triplo I | | | | Triplo II | | | | Triplo III | | | |
|------------|-----------|-----------|---|--------------|---|-----------|---|--------------|---|------------|---|--------------|----|
| | | Best dock | % | Best Cluster | % | Best dock | % | Best Cluster | % | Best dock | % | Best Cluster | % |
| Analog I | Terendah | -9,18 | 3 | -4,18 | 1 | -9,50 | 2 | -4,17 | 1 | -9,49 | 6 | -4,20 | 23 |
| | Rata-rata | -9,09 | | -3,81 | 6 | -9,29 | | -3,73 | 6 | -9,20 | | -3,81 | |
| Analog II | Terendah | -7,57 | | | 1 | -7,62 | | | 1 | -7,64 | | | 14 |
| | Rata-rata | -7,06 | | | 1 | -7,32 | | | 6 | -7,22 | | | |
| Analog III | Terendah | -8,43 | | | 1 | -8,44 | 1 | -8,27 | 1 | -8,43 | | | 28 |
| | Rata-rata | -8,33 | | | 7 | -8,39 | 0 | -8,18 | 6 | -8,32 | | | |
| Analog IV | Terendah | -7,47 | 6 | -7,10 | 4 | -7,40 | 4 | -7,10 | 1 | -7,46 | 4 | -7,32 | 22 |
| | Rata-rata | -7,34 | | -7,00 | | -7,29 | | -7,04 | 9 | -7,40 | | -7,25 | |
| Analog V | Terendah | -7,65 | 1 | -6,76 | 1 | -7,51 | 2 | -6,72 | 1 | -7,59 | 3 | -6,72 | 12 |
| | Rata-rata | -7,65 | | -6,52 | 3 | -7,51 | | -6,23 | 2 | -7,55 | | -5,86 | |
| Analog VI | Terendah | -8,11 | 5 | 0,4 | 6 | -8,16 | 2 | -0,4 | 7 | -8,25 | 3 | 0,07 | 5 |
| | Rata-rata | -8,06 | | 1,1 | | -8,07 | | 0,17 | | -8,09 | | 1,25 | |
| Analog | Terendah | -7,11 | 2 | -6,38 | 1 | -7,14 | 1 | -6,37 | 1 | -6,95 | 1 | -6,37 | 12 |

| | | | | | | | | | | | | | |
|-------------|-----------|-------|--|-------|---|-------|--|-------|---|-------|--|-------|----|
| VII | Rata-rata | -6,98 | | -6,27 | 0 | | | -6,29 | 0 | | | -6,28 | |
| Analog VIII | Terendah | -7,54 | | | 1 | -7,53 | | | 7 | -7,53 | | | 12 |
| | Rata-rata | -7,46 | | | 2 | -7,45 | | | | -7,41 | | | |

Tabel 8

Data Ki kluster dan penambatan terbaik hasil penambatan pada 1CX2

| Senyawa | Triplo I | | | | Triplo II | | | | Triplo III | | | |
|-------------|-----------|---|--------------|--------|-----------|--------|--------------|--------|------------|---|--------------|----|
| | Best dock | % | Best Cluster | % | Best dock | % | Best Cluster | % | Best dock | % | Best Cluster | % |
| Analog I | 0,19 | 3 | 857,72 | 1 6 | 0,11 | 2 | 873,39 | 1 6 | 0,11 | 6 | 831,89 | 23 |
| Analog II | 2,82 | | | 1 1 | 2,60 | | | 1 6 | 2,49 | | | 14 |
| Analog III | 0,67 | | | 1 7 | 0,65 | 1 0 | 0,86 | 1 6 | 0,66 | | | 28 |
| Analog IV | 3,32 | 6 | 6,25 | 2 3 | 3,74 | 4 | 6,26 | 1 9 | 3,42 | 4 | 4,28 | 22 |
| Analog V | 2,48 | 1 | 11,05 | 1 3 | 3,15 | 2 | 11,84 | 1 2 | 2,72 | 1 | 11,89 | 12 |
| Analog VI | 0,89 | 3 | - | | 1,14 | 5 | - | | 0,89 | 3 | - | |
| Analog VII | 6,19 | 2 | 21,11 | 1 0 | 5,84 | 1 | 21,33 | 1 0 | 8,07 | 1 | 21,29 | 12 |
| Analog VIII | 3,01 | | | 1 | 2,98 | | | 1 | 3,04 | | | 7 |

| | | | | | | | | | | | | |
|-------------|--------|----|------|--------|--------|---|------|--------|------|----|------|----|
| | | 2 | | 2 | | | | | | | | |
| Aspirin | 573,52 | | 51 | 557,50 | | | 61 | 419,67 | | | 57 | |
| Celecoxib | 0,43 | 20 | 0,68 | 26 | 0,54 | 8 | 0,71 | 27 | 0,43 | 21 | 0,81 | 30 |
| Tetrasiklin | 64,05 | 2 | - | - | 116,48 | 2 | - | - | - | - | - | |
| Diklofenak | 23,15 | | 59 | 24,27 | | | 63 | 25,11 | | | 62 | |

Tabel 9

Data rata-rata dan SD Ki penambatan dengan 1CX2

| Senyawa | Kluster terbaik | |
|---------|--------------------------|----------------------|
| | Rataan (μM) | SD (μM) |
| I | 851,48 | 17,81 |
| II | 2,62 | 0,231 |
| III | 0,72 | 0,087 |
| IV | 5,58 | 0,945 |
| V | 11,58 | 0,295 |

| | | |
|-------------|--------|-------|
| VI | - | - |
| VII | 21,25 | 0,095 |
| VIII | 3,01 | 0,023 |
| Aspirin | 515,60 | 69,25 |
| Celecoxib | 0,74 | 0,057 |
| Tetrasiklin | - | - |
| Diklofenak | 24,19 | 0,799 |

Tabel 10

Peringkat analog berdasarkan rata-rata Ki terendah dari kluster terbaik. Penambatan dengan 1CX2.

| Peringkat kluster terbaik | Analog | Rataan Ki kluster terbaik (μM) | SD Ki kluster terbaik (μM) |
|---------------------------|--------|---|---|
| 1 | III | 0,72 | 0,087 |
| 2 | II | 2,62 | 0,231 |
| 3 | VIII | 3,01 | 0,023 |

| | | | |
|---|-----|--------|-------|
| 4 | IV | 5,58 | 0,945 |
| 5 | V | 11,58 | 0,295 |
| 6 | VII | 21,25 | 0,095 |
| 7 | I | 851,48 | 17,81 |
| 8 | VI | - | - |

Tabel 11

Data ΔG Kontrol positif dan negatif

| Senyawa | | Triplo I | | | | Triplo II | | | | Triplo III | | | |
|-----------|----------|----------------------|----|-------------------------|---|----------------------|---|-------------------------|---|----------------------|---|-------------------------|----|
| | | Best dock (kkal/mol) | % | Best Cluster (kkal/mol) | % | Best dock (kkal/mol) | % | Best Cluster (kkal/mol) | % | Best dock (kkal/mol) | % | Best Cluster (kkal/mol) | % |
| Celecoxib | Terendah | -8.68 | 20 | -8.41 | 2 | -8.55 | 2 | -8.39 | 2 | -8.68 | 2 | -8.31 | 30 |

| | | | | | | | | | | | | | |
|-------------|-----------|-------|----|-------|---|-------|---|-------|---|-------|---|-------|--|
| | Rata-rata | -8.45 | | -8.20 | 6 | -8.43 | 7 | -8.14 | 7 | -8.47 | 1 | -8.19 | |
| Aspirin | Terendah | -4.46 | 51 | | | -4.44 | 6 | | | -4.61 | 5 | | |
| | Rata-rata | -4.44 | | | | -4.41 | 1 | | | -4.59 | 7 | | |
| Tetrasiklin | Terendah | -5.72 | 2 | 0.53 | 8 | -5.37 | 2 | 0.54 | 8 | - | | - | |
| | Rata-rata | -5.69 | | 0.89 | 2 | -5.32 | | 0.93 | 4 | | | | |

Tabel 12

Data Ki Kontrol positif dan negatif

| Senyawa | Triplio I | | | | Triplio II | | | | Triplio III | | | |
|---------|-----------------------------|---|--------------------------------|---|-----------------------------|---|--------------------------------|---|-----------------------------|---|--------------------------------|---|
| | Best dock (μM) | % | Best Cluster (μM) | % | Best dock (μM) | % | Best Cluster (μM) | % | Best dock (μM) | % | Best Cluster (μM) | % |
| Aspirin | 537.520 | 5 | | | 557.5 | 6 | | | 419.67 | 5 | | |

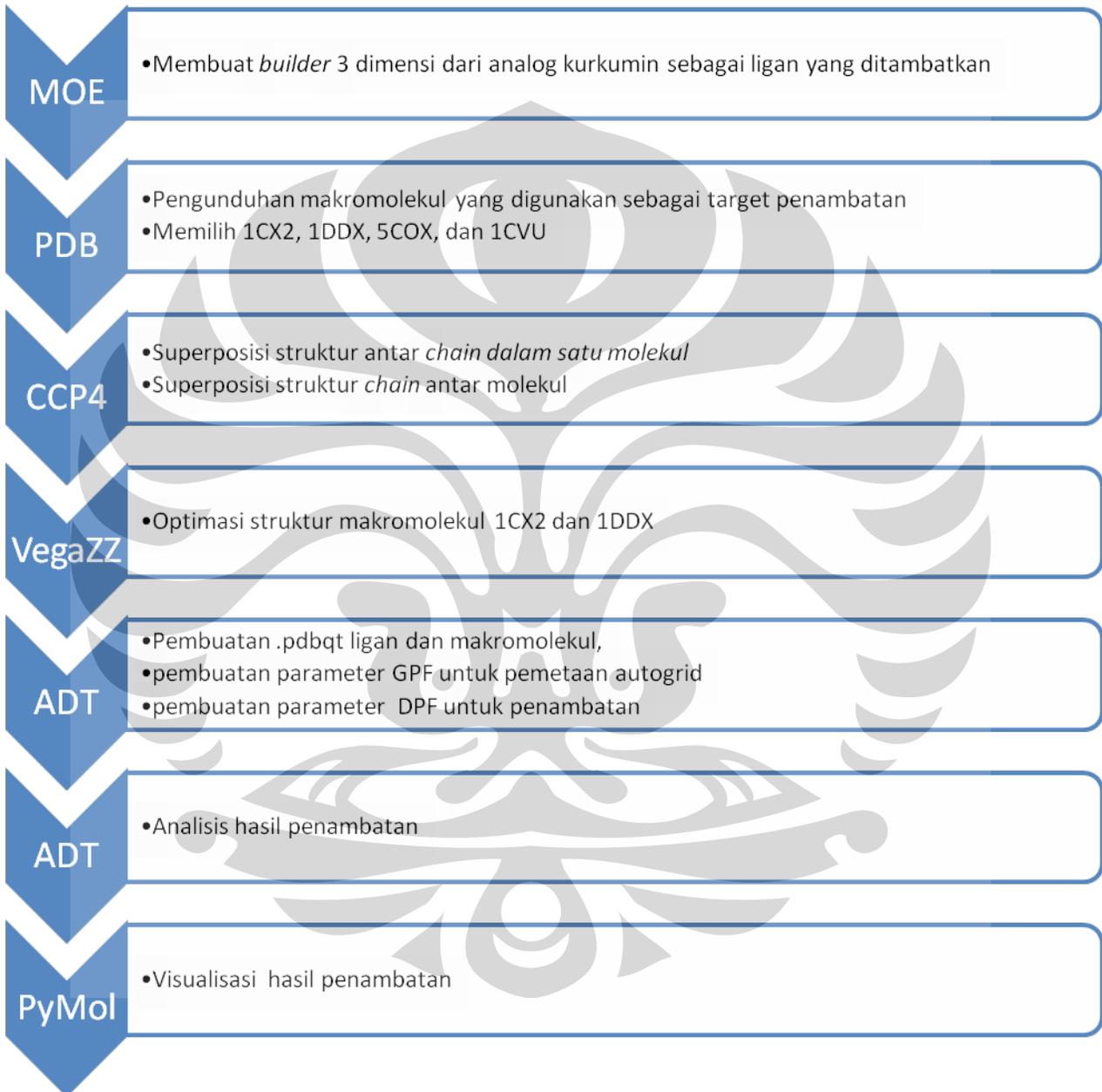
| | | | | | | | | | | | | |
|-------------|--------|--------|-------|--------|--------|--------|------|--------|-------|--------|-------|----|
| | | 1 | | | | 1 | | | | 7 | | |
| Celecoxib | 0.432 | 2 0 | 0.679 | 2 6 | 0.538 | 2 7 | 0.71 | 2 7 | 0.433 | 2 1 | 0.816 | 30 |
| Tetrasiklin | 64.050 | 2 | - | | 116.18 | 2 | - | | | | - | |

Tabel 13

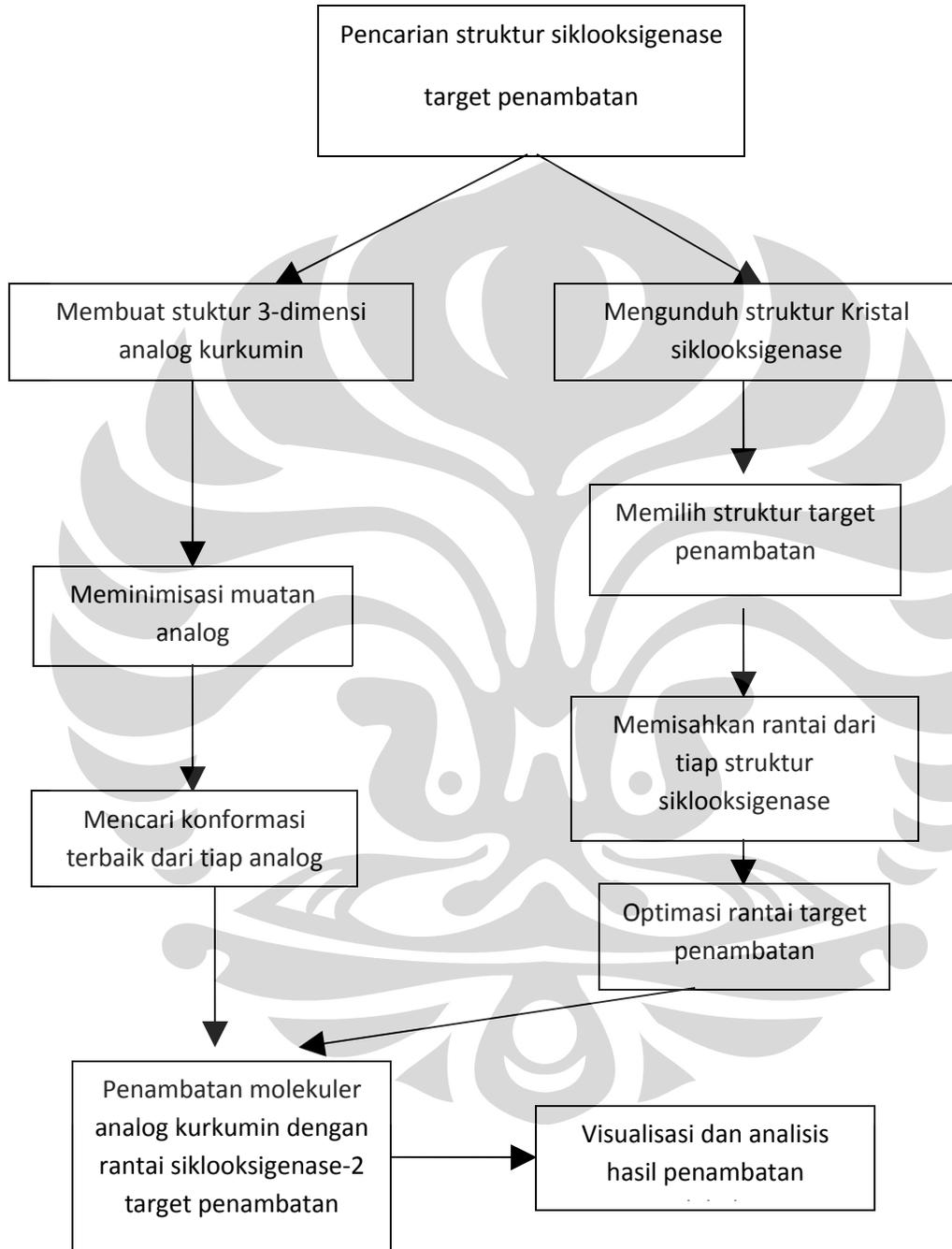
Residu asam amino hasil penambatan molekuler dengan analog kurkumin turunan benzilidena sikloheksanon

| Analog | Tyr 355 | Ser 353 | Val 523 | Leu 352 | Val 349 | Tyr 348 | Trp 387 | Phe 381 | Tyr 385 | Phe 209 | Phe 210 | His 90 | Met 522 | Leu 384 | Phe 518 | Val 523 | Gly 526 | Val 116 | Arg 120 | Ala 527 | Leu 93 | Ser 530 | Leu 359 | Leu 531 |
|--------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|-----------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|-----------|------------|------------|------------|
| I | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | | | | | | | | | | | | | |
| II | V | V | V | V | | V | V | V | V | | V | V | V | | | | | | | | | | | |
| III | V | V | V | V | | | V | V | V | | | V | V | V | V | | | | | | | | | |
| IV | V | V | V | V | | | V | V | V | | | V | V | V | V | V | V | | | | | | | |
| V | V | | | | V | V | | V | V | | | | | V | | | V | V | V | V | V | V | | |
| VI | V | | | | V | | V | V | V | | | | | V | | | V | V | V | V | | V | | |
| VII | V | | | | | | | V | V | | | | | V | | | V | V | V | V | | V | V | V |
| VIII | V | | | | | V | | V | V | | V | | | V | | | | V | V | V | | V | V | V |

Lampiran 1. Urutan tahap cara kerja penelitian dan program yang digunakan



Lampiran 2. Skema cara kerja penelitian



Lampiran 3. Perintah LINUX yang digunakan pada penelitian ini

1. `cd nama_folder`

Masuk ke direktori pada satu tingkat

2. `cd ..`

Naik satu tingkat direktori

3. `autogrid4 -p parameter_grid.gpf -l output.glg &`
menjalankan program autogrid4 untuk pemetaan dan memproses *file* parameter grid

4. `autodock4 -p parameter_docking.dpf -l output.dlg &`
Menjalankan program autodock4 untuk penambatan molekuler dengan parameter penambatan tertentu

Lampiran 4. Tampilan situs *Protein Data Bank*

RCSB PDB: Structure Summary for 1CX2 - CYCLOOXYGENASE-2 (PROSTAGLANDIN SYNTHASE-2) COMPLEXED WITH A SELECTIVE INHIBITOR, SC-558

File Edit View Bookmarks Widgets Tools Help

Open Save Print Find Home Tile Cascade Voice

http://www.medscape.c... RCSB PDB - Structure S... KI Constant of inhibition ... Transfers RCSB Protein Data Bank

http://www.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?structureId=1CX2

MyPDB Login A MEMBER OF THE **PDB**

An Information Portal to Biological Macromolecular Structures

As of Tuesday Nov 17, 2009 at 4 PM PST there are 61577 Structures | PDB Statistics

WHAT'S NEW | HELP | PRINT

PDB ID or keyword Search Advanced Search

Home Hide

News & Publications
Policies
FAQ
Contact
Feedback
About Us

Deposition Hide

All Deposit Services
Electron Microscopy
NMR
Validation Server
BioSync Beamline
Related Tools

Search Hide

Advanced Search
Latest Release
Latest Publications
Sequence Search
Ligand Search
Unreleased Entries
Browse Database
Histograms

Explorer:

Last Structure: 1CX2

Tools Hide

File Downloads
FTP Services
File Formats
Services: RESTful | SOAP
Widgets
Compare Structures

Education Hide

Looking at Structures
Molecule of the Month
Educational Resources

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

CYCLOOXYGENASE-2 (PROSTAGLANDIN SYNTHASE-2) COMPLEXED WITH A SELECTIVE INHIBITOR, SC-558

DOI: 10.2210/pdb/1cx2/pdb

Primary Citation

Structural basis for selective inhibition of cyclooxygenase-2 by anti-inflammatory agents.
Kurumbail, R.G., Stevens, A.M., Gierse, J.K., McDonald, J.J., Stegeman, R.A., Pak, J.Y., Gildehaus, D., Miyashiro, J.M., Penning, T.D., Seibert, K., Isakson, P.C., Stallings, W.C.

PubMed: 8967954 DOI: 10.1038/384644a0 Search Related Articles in PubMed

PubMed Abstract:
Prostaglandins and glucocorticoids are potent mediators of inflammation. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) exert their effects by inhibition of prostaglandin production. The pharmacological target of NSAIDs is cyclooxygenase (COX, also known as PGIH synthase), which catalyses the first committed step in arachidonic-acid metabolism. Two isoforms of the membrane protein COX are known: COX-1, which is constitutively expressed in most tissues, is responsible for the physiological production of prostaglandins; and COX-2, which is induced by cytokines, mitogens and endotoxins in inflammatory cells, is responsible for the elevated production of prostaglandins during inflammation. The structure of ovine COX-1 complexed with several NSAIDs has been determined. Here we report the structures of unliganded murine COX-2 and complexes with flurbiprofen, indomethacin and SC-558, a selective COX-2 inhibitor, determined at 3.0 to 2.5 Å resolution. These structures explain the structural basis for the selective inhibition of COX-2, and demonstrate some of the conformational changes associated with time-dependent inhibition.

Keywords:
Animals Anti-Inflammatory Agents Non-Steroidal Cell Line Cloning Molecular Crystallography X-Ray Cyclooxygenase 2 Cyclooxygenase 2 Inhibitors Cyclooxygenase Inhibitors Flurbiprofen Indomethacin Isoenzymes Mice Models Molecular Prostaglandin-Endoperoxide Synthases Protein Conformation Pyrazoles Structure-Activity Relationship

Related Structures:
Primary Citation of: 1CX2 3PGH 4COX 5COX 6COX

Organizational Affiliation:
G.D. Searle, St Louis, Missouri 63198, USA. rgkuru@punchiri.monsanto.com

Journal:
(1996) Nature 384: 644-648

Click on abstract words and keywords to add them to the search box. Search PubMed Abstracts [Hide Abstract]

Biological Assembly 1

Display Files Download Files Print Page Share this Page

View in Jmol SimpleViewer Other Viewers Protein Workshop

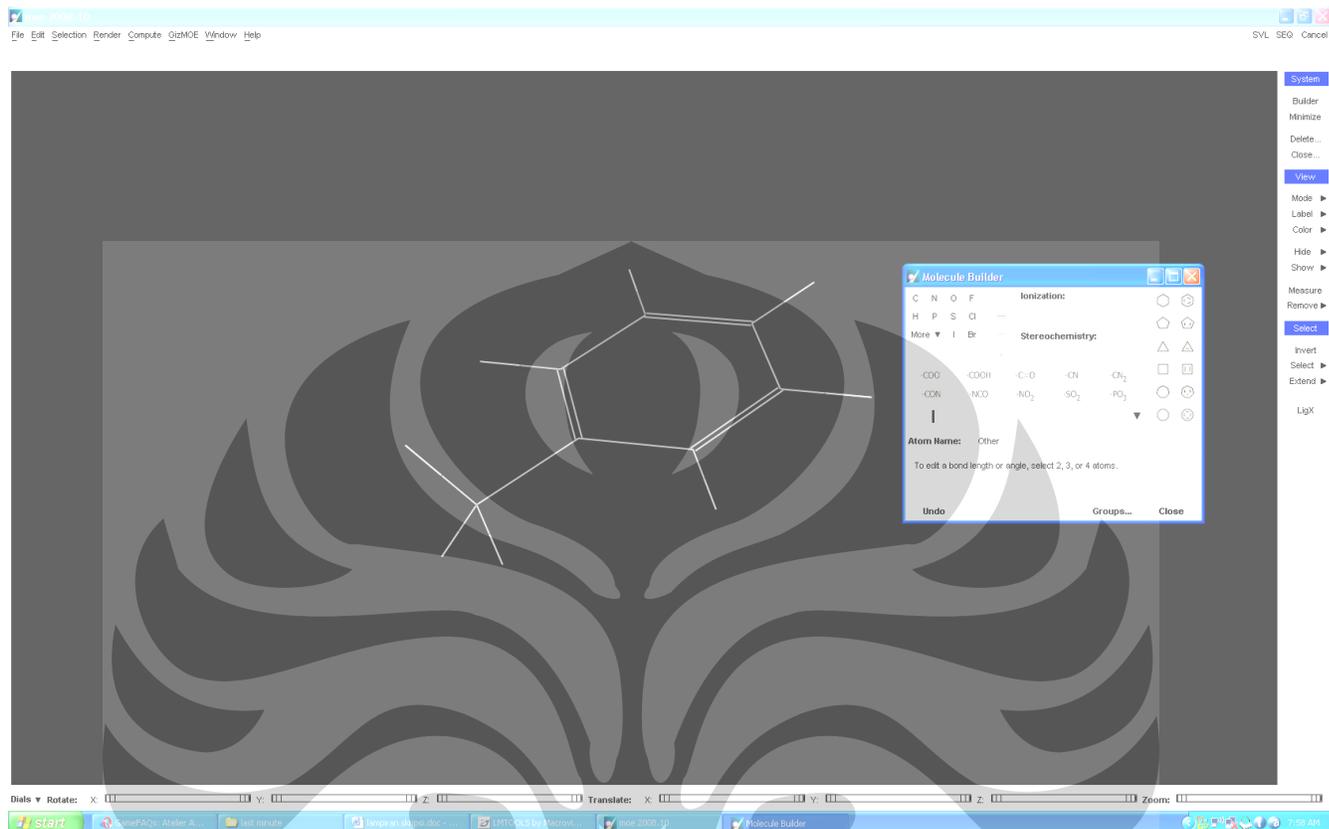
Biological assembly 1 assigned by authors and generated by PISA (software)

Deposition Summary

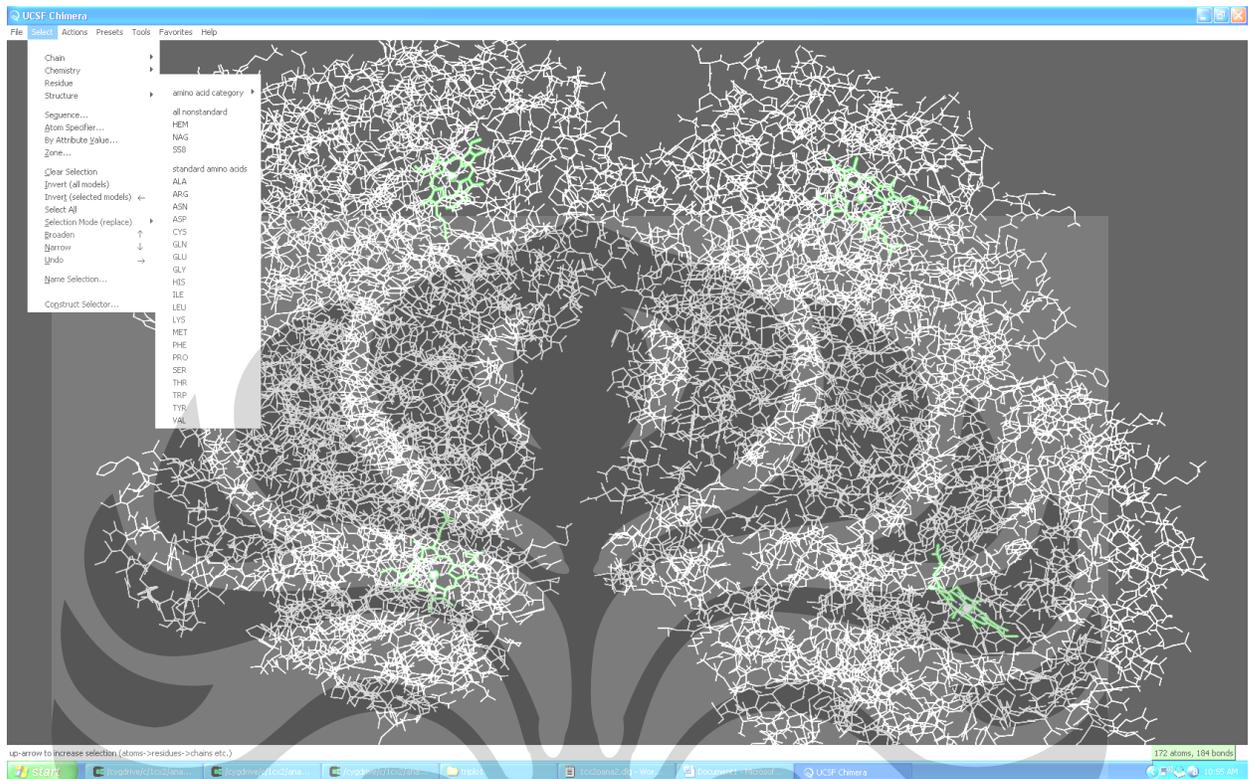
Authors: Kurumbail, R., Stallings, W.
Deposition: 1996-12-17
Release: 1997-12-24
Last Modified (REVDAT): 2009-02-24

Molecular Description

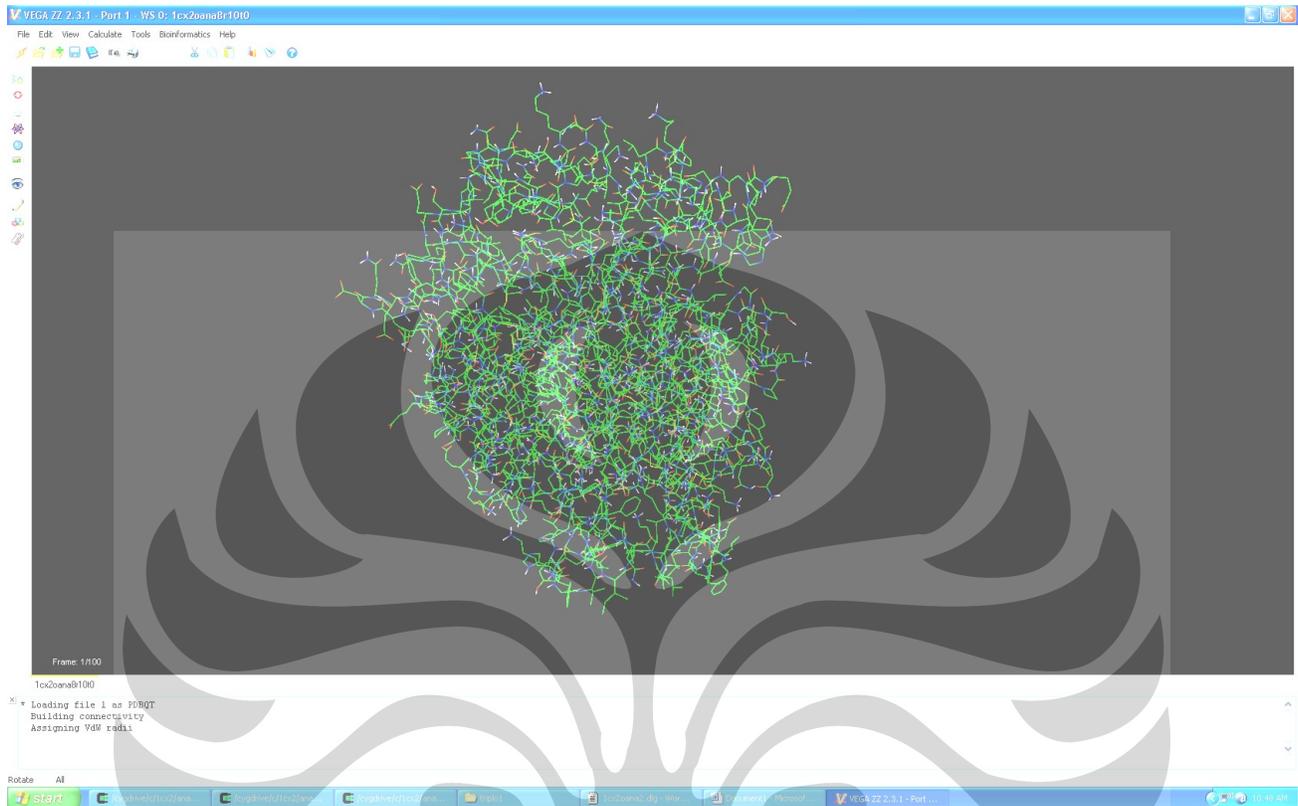
Lampiran 5. Tampilan program MOE



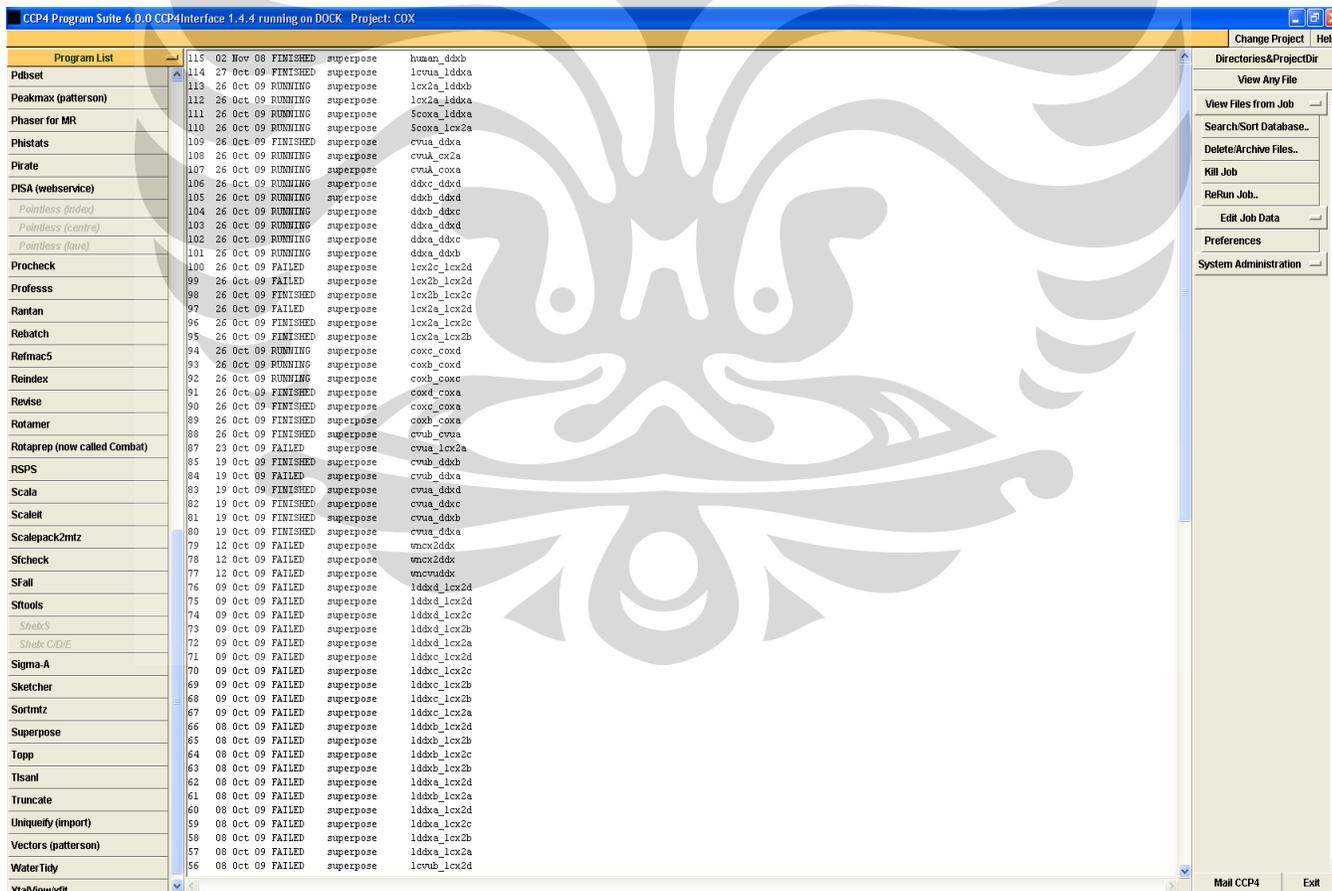
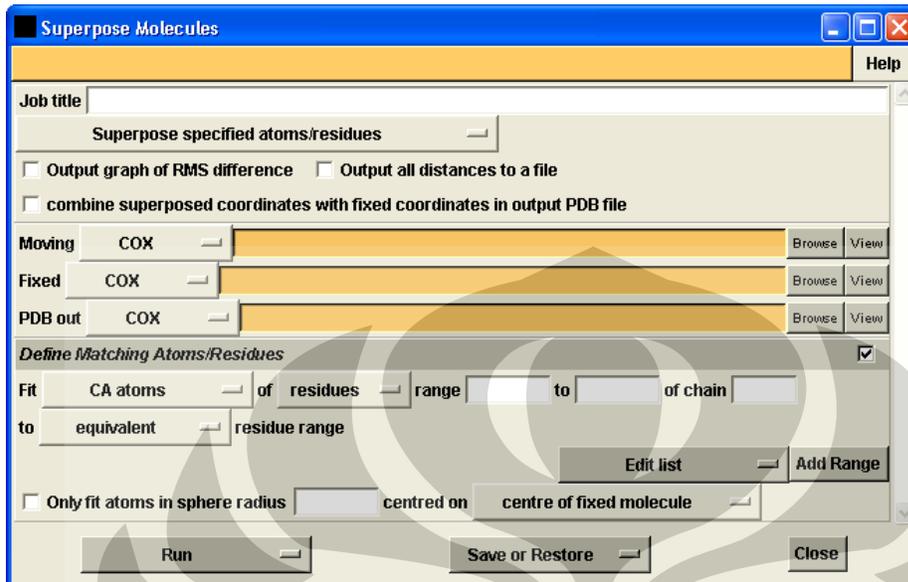
Lampiran 6. Tampilan program UCSF Chimera



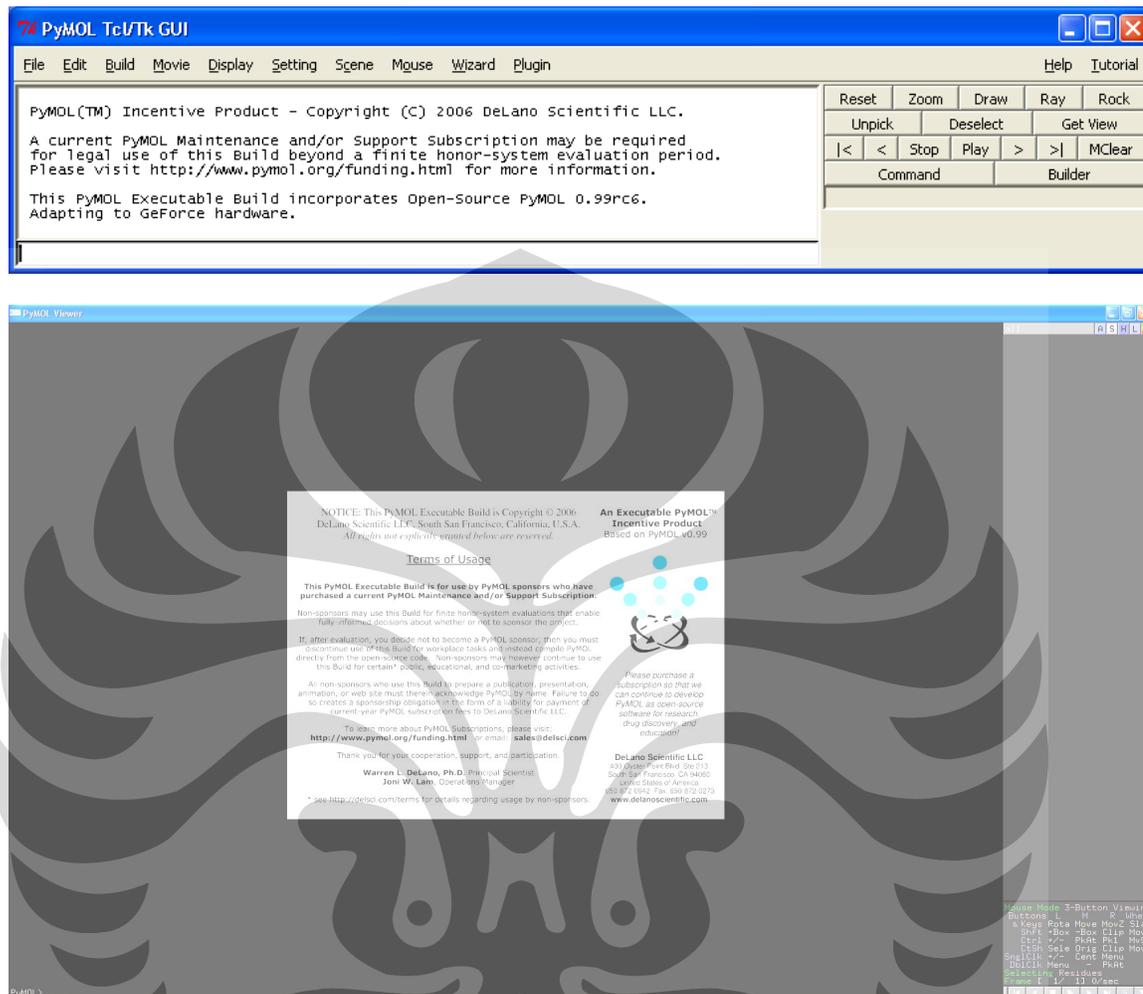
Lampiran 7. Tampilan program VegaZZ



Lampiran 8. Tampilan program CCP4i Superpose

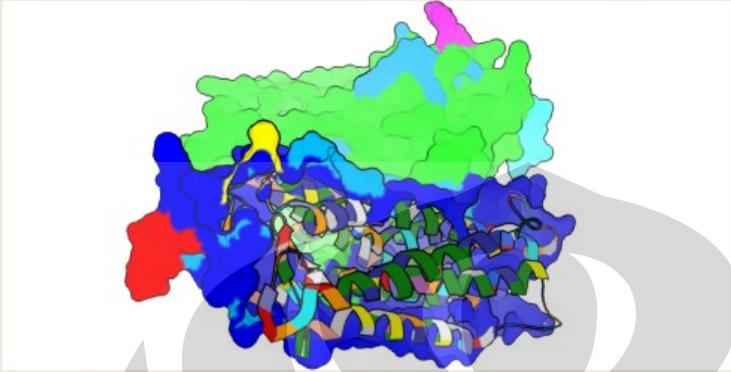


Lampiran 9. Tampilan program PyMOL



Lampiran 10. Tampilan program Autodock

AutoDockTools
Version 1.4.5



(c) 1999-2006 Molecular Graphics Laboratory, The Scripps Research Institute
ALL RIGHTS RESERVED

AutoDockTools Authors



Authors: Michel F. Sanner, Ruth Huey, Sargis Dallakyan, Sowjanya Karnati, William (Lindy) Lindstrom, Garrett M. Morris, Brian Norledge, Anna Omelchenko, Daniel Stoffler, Guillaume Vareille

Third party software components

Fast Isocontouring, Volume Rendering -- Chandrait Bajaj, UT Austin
Adaptive Poisson Boltzman Solver (APBS) -- Nathan Baker Wash. Univ. St Louis
GL extrusion Library (GLE) -- Linas Vepstas
Secondary Structure Assignment (Stride) -- Patrick Argos EMBL
Mesh Decimation (QSlm 2.0) -- Micheal Garland, University of Illinois
Tiled Rendering (TR 1.3) -- Brian Paul

Path information

Python executable : C:\Python24\python.exe
 ADT script : C:\Program Files\MGLTools 1.4.5\MGLToolsPckgs\AutoDockTools\bin\runAdt.py
 MGLTool packages
 1.4.5: C:\Program Files\MGLTools 1.4.5\MGLToolsPckgs

Please wait 100%

Please Register! It helps us secure funding for supporting development and you won't have to click these buttons again in the future. Thanks.

[Register Now](#) [Remind Me Later](#)

Lampiran 11. Tampilan program Cygwin

```

/cygdrive/c/1cx2/analog8/triplo1
Your group is currently "mkpasswd". This indicates that
the /etc/passwd (and possibly /etc/group) files should be rebuilt.
See the man pages for mkpasswd and mkgroup then, for example, run
mkpasswd -l [-dl] > /etc/passwd
mkgroup -l [-dl] > /etc/group
Note that the -d switch is necessary for domain users.

Rezi@DOCK ~
$ cd C:/1cx2/analog1/triplo1

Rezi@DOCK /cygdrive/c/1cx2/analog1/triplo1
$ autodock4 -p 1cx2oana1.dpf -l 1cx2oana1r10t2.dlg &
[1] 3896

Rezi@DOCK /cygdrive/c/1cx2/analog1/triplo1
$

Rezi@DOCK /cygdrive/c/1cx2/analog1/triplo1
$

autodock4: Successful Completion on "DOCK"

cd c:/1cx2/analog8/triplo1
[1]+  Done                  autodock4 -p 1cx2oana1.dpf -l 1cx2oana1r10t2.dlg
(wd: /cygdrive/c/1cx2/analog1/triplo1)
(wd now: /cygdrive/c/1cx2/analog8/triplo1)

Rezi@DOCK /cygdrive/c/1cx2/analog8/triplo1
$ autodock4 -p 1cx2oana8.dpf -l 1cx2oana8r15t3.dlg &
[1] 3404

Rezi@DOCK /cygdrive/c/1cx2/analog8/triplo1
$ autodock4 -p 1cx2oana8.dpf -l 1cx2oana8r15t4.dlg &
[2] 2220

Rezi@DOCK /cygdrive/c/1cx2/analog8/triplo1
$ -

```

Lampiran 12. Berkas parameter *grid* (.gpf)



Lampiran 13. Berkas parameter penambatan (.dpf)

