

**PERANCANGAN PEPTIDA SIKLIS DISULFIDA SEBAGAI  
INHIBITOR POTENSIAL ENZIM NS3-NS2B PROTEASE VIRUS  
DENGUE MELALUI *MOLECULAR DOCKING***

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

**KATARINA TETRA WURIYANI  
030403026X**



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

**PERANCANGAN PEPTIDA SIKLIS DISULFIDA SEBAGAI INHIBITOR  
POTENSIAL ENZIM NS3-NS2B PROTEASE VIRUS DENGUE MELALUI  
*MOLECULAR DOCKING***

**KATARINA TETRA WURIYANI  
030403026X**



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

SKRIPSI : PERANCANGAN PEPTIDA SIKLIS DISULFIDA SEBAGAI  
INHIBITOR POTENSIAL ENZIM NS3-NS2B PROTEASE  
VIRUS DENGUE MELALUI *MOLECULAR DOCKING*  
NAMA : KATARINA TETRA WURIYANI  
NPM : 030403026X

SKRIPSI INI TELAH DIPERIKSA DAN DISETUJUI  
DEPOK, 07 DESEMBER 2009

PROF. DR. USMAN SUMO FRIEND TAMBUNAN, M.Sc

PEMBIMBING

Tanggal lulus ujian sarjana : .....

Penguji I : Prof. Dr. Sumi Hudyono PWS .....

Penguji II : Dr.rer.nat Budiawan .....

Penguji III : Dr. Arry Yanuar, M.Si .....

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa yang senantiasa memberikan berkat dalam kehidupan penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini.

Penulis mempersembahkan karya ini untuk ibu, bapak, kakak-kakak tersayang mas Nanang, mbak Wiwik, dan mas Tomo atas ketulusan, kesabaran, dan kasih sayang yang luar biasa indah sehingga mengantarkan penulis sampai pada jenjang ini. Semoga apa yang telah penulis lakukan dapat memberikan kebanggaan bagi keluarga.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Prof. Dr. Usman Sumo F.T., M.Sc selaku pembimbing akademis dan juga pembimbing penelitian yang telah membimbing penulis selama kuliah dan penelitian dengan penuh kesabaran, kepatutan, dan perhatian. Terima kasih telah menjadi dosen, bapak, dan sahabat yang selalu memberikan pencerahan, pendapat, ide, berbagai pandangan hidup dan pengalaman dengan penulis.

Pada kesempatan ini pula, penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. Ridla Bakri selaku Ketua Departemen Kimia FMIPA UI
2. Ir. Widyastuti Samadi, M.Si selaku Koordinator Pendidikan yang selalu menebarkan aura bahagia
3. Dra. Tresye Utari, M.Si selaku Koordinator Penelitian
4. Prof. Dr. Sumi Hudoyono, PWS selaku Kepala KBI Biokimia

5. Seluruh dosen departemen kimia yang telah membagikan ilmunya, Bu Widajanti Wibowo, Bu Siswati, Pak Riwandi, Bu Endang, Pak Badjri, Pak Sholeh, Bu Yani, Pak Jar, dan semua yang tidak dapat disebutkan satu persatu. Semoga senantiasa mendapat rahmat dan keberkahan dariNya
  6. Teman-teman seperjuangan dan seruangan, Agus, Ely dan Egi yang telah bersama-sama menghempas kerikil selama penelitian
  7. Sahabat-sahabat terbaik Qin-qin, Tina, Alex, Kurnia, Ruth, Vero, Riri, Samira, Jiro yang selalu menemani dalam suka maupun duka.
  8. Ka Irwan yang baik hati, mba Fitri, mba Ina, mba Cucu, mba Indri, mba Ati, mba Ema, mba Tri, mas Hadi, pak Marji, babe Tris, pak Kiri atas segala kebaikannya
  9. Teman-teman KMKUI, PMKAJ US, TERAS 531 dan Dancesport UI atas segala kenangan indah nya
  10. Seluruh pihak yang membantu penulis dalam penyelesaian skripsi.
- Penulis mengucapkan selamat membaca skripsi ini, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan dan masyarakat.
- Amin.

Penulis

2009

## ABSTRAK

Penyakit demam berdarah dengue merupakan penyakit yang telah menjadi endemik di lebih dari 100 negara, dengan lebih dari 2,5 miliar orang dalam kondisi beresiko untuk terjangkit penyakit ini secara epidemik. Hingga saat ini belum tersedia vaksin atau pengobatan yang efektif. Pada penelitian ini dilakukan studi *in silico* untuk merancang ligan peptida siklis disulfida yang dapat berperan sebagai inhibitor potensial untuk enzim NS3-NS2B protease virus *dengue* sehingga diharapkan dapat menghambat replikasi virus tersebut dalam tubuh. Struktur tiga dimensi enzim diperoleh dari *Protein Data Bank* dengan kode PDB 2FOM. Analisis terhadap *binding site* dan sekuens asam amino substrat pada sisi pemotongan enzim menghasilkan 49 buah rancangan ligan siklopentapeptida yang disiklisasi melalui ikatan disulfida sistein lalu dimodelkan ke dalam bentuk tiga dimensi. Optimasi geometri dan minimasi energi dilakukan untuk menghilangkan *bad contact*. Analisis kekuatan afinitas ligan terhadap enzim melalui hasil *molecular docking* didapatkan 2 ligan peptida siklis yang memiliki  $\Delta G_{\text{binding}}$  rendah dan lebih baik daripada ligan standar Bz-Nle-K-R-R-H dan ligan pembanding KRK dengan hasil terbaik adalah ligan RKR dengan  $\Delta G_{\text{binding}} -22,6955$  kkal/mol. Analisis *drug scan* memberikan hasil yang terbaik untuk ligan RKR, dimana berdasarkan aturan Lipinsky, ligan RKR masuk kriteria sebagai obat yakni memiliki nilai  $\text{LogP } -8,05 < 5$ , donor H  $4 < 5$  dan acceptor H  $2 < 10$ . *Molecular dynamic* dilakukan untuk melihat perubahan dari pergerakan konformasi

kompleks enzim-ligan. Didapatkan per satuan waktu (0, 25, 50, 75, 100 piko detik) yang menunjukkan adanya perubahan pergerakan, namun tidak memperlihatkan perpindahan ligan dari sisi aktif enzim.

Kata kunci: inhibitor, *molecular docking*, *molecular dynamic*, NS3-NS2B protease, peptida, virus *dengue*

Xii + 101 hlm; gbr 17.; lamp 13.; tab 6

Bibliografi: 34 (1990-2009)




## DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR.....	i
ABSTRAK.....	iii
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Demam Berdarah.....	7
2.2 Virus <i>Dengue</i> .....	8
2.2.1 Pemetaan Genom Virus.....	9
2.2.2 Daur Hidup Virus <i>Dengue</i> .....	10
2.3 Enzim.....	12
2.4 Inhibitor Enzim.....	14
2.5 Protease.....	16
2.5.1 NS3 Protease.....	16
2.6 <i>Drug Development</i> dan <i>Drug Design</i> .....	18
2.6.1 Pengertian <i>Drug Development</i> .....	18
2.6.2 Pengertian <i>Drug Design</i> .....	19
2.6.3 Peptida Dalam <i>Drug Design</i> .....	20



2.7	Bioinformatika.....	22
2.8	<i>Molecular Modelling</i> .....	23
2.9	<i>Molecular Docking</i> .....	24
2.10	<i>Molecular Dynamic</i> .....	27
BAB III. METODE PENELITIAN.....		29
3.1	Pengambilan Data PDB Struktur Tiga Dimensi Enzim NS3 Protease Virus Dengue.....	29
3.2	Visualisasi Sisi Aktif dan <i>Binding Site</i> Enzim NS3-NS2B Protease.....	29
3.2.1	Sisi Aktif dan Kofaktor Enzim.....	29
3.2.2	<i>Binding Site</i> Enzim.....	30
3.3	Penentuan Sekuens Asam Amino Peptida sebagai Inhibitor..	30
3.4	Perancangan Struktur Tiga Dimensi Peptida Siklis Sebagai Ligan.....	30
3.5	Preparasi <i>File Docking</i> .....	31
3.5.1	Optimasi Geometri dan Minimisasi Energi Struktur Tiga Dimensi Enzim NS3-NS2B Protease.....	31
3.5.2	Optimasi Geometri dan Minimisasi Energi Struktur Tiga Dimensi Peptida Siklis.....	32
3.6	<i>Docking</i> .....	33
3.7	<i>Analisis Docking</i> .....	33
3.7.1	Nilai Energi Bebas Ikatan ( $\Delta G_{\text{binding}}$ ).....	33
3.7.2	Ikatan Hidrogen.....	34

3.7.3	Kontak Residu.....	34
3.8	Analisis <i>Drug Scan</i> .....	34
3.9	Preparasi <i>File Molecular Dynamic</i> .....	35
3.10	<i>Molecular Dynamic</i> .....	35
3.11	Analisis <i>Molecular Dynamic</i> .....	36
3.11.1	Visualisasi Konformasi Kompleks Enzim-Ligan Hasil <i>Molecular Dynamic</i> .....	36
3.11.2	Interaksi Enzim-Ligan.....	36
BAB IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	37
4.1	Pengambilan Data PDB Struktur Tiga Dimensi Enzim NS3 Protease Virus Dengue.....	37
4.2	Visualisasi Sisi Aktif dan <i>Binding Site</i> Enzim NS3-NS2B Protease.....	38
4.2.1	Sisi Aktif dan Kofaktor Enzim.....	38
4.2.2	<i>Binding Site</i> Enzim.....	39
4.3	Penentuan Sekuens Asam Amino Peptida sebagai Inhibitor..	41
4.4	Perancangan Struktur Tiga Dimensi Peptida Siklis Sebagai Ligan.....	44
4.5	Preparasi File <i>Docking</i> .....	45
4.5.1	Optimasi Geometri dan Minimisasi Energi Struktur Tiga Dimensi Enzim NS3-NS2B Protease.....	45
4.5.2	Optimasi Geometri dan Minimisasi Energi Struktur Tiga Dimensi Peptida Siklis.....	46



4.6 <i>Docking</i> .....	48
4.7 Analisis <i>Docking</i> .....	50
4.7.1 Nilai Energi Bebas Ikatan ( $\Delta G_{\text{binding}}$ ).....	50
4.7.2 Ikatan Hidrogen.....	53
4.7.3 Kontak Residu.....	55
4.8 Analisis <i>Drug Scan</i> .....	60
4.9 <i>Molecular Dynamic</i> .....	62
4.10 Analisis <i>Molecular Dynamic</i> .....	63
4.10.1 Visualisasi Konformasi Kompleks Enzim-Ligan Hasil <i>Molecular Dynamic</i> .....	63
4.10.2 Interaksi Enzim-Ligan.....	65
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	69
5.1 Kesimpulan.....	69
5.2 Saran.....	70
DAFTAR PUSTAKA.....	71
LAMPIRAN.....	75

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Morfologi virus dengue immature (A) dan mature (B).....	9
Gambar 2.	Pemetaan genome dari virus dengue.....	10
Gambar 3.	Skema replikasi virus dengue.....	11
Gambar 4.	Skema perbandingan energi bebas reaksi tanpa dan dengan enzim.....	13
Gambar 5.	Skema persamaan reaksi inhibitor <i>reversible</i> .....	15
Gambar 6.	NS3 protease dengan kofaktor NS2B.....	17
Gambar 7 .	Proses <i>Drug Development</i> .....	19
Gambar 8.	Bentuk ikatan peptida.....	20
Gambar 9.	Peranan Bioinformatika dalam proses <i>drug development</i> ....	22
Gambar 10.	<i>Docking</i> antara enzim dengan inhibitor.....	25
Gambar 11.	Visualisasi permukaan enzim NS3 protease berdasarkan spektrum potensial elektrostatisnya.....	40
Gambar 12.	Ikatan hidrogen yang terjadi antara ligan ARR dengan enzim.....	54
Gambar 13.	(a). Interaksi Ligan RKR; (b). Interaksi Ligan KRK.....	56
Gambar 14.	Hasil <i>superimpose</i> antara ligan RKR (warna merah) dengan ligan KRK (warna kuning).....	58
Gambar 15.	Hasil <i>superimpose</i> antara ligan RKR (warna merah) dengan ligan standar (warna kuning).....	59

Gambar 16. Konformasi pergerakan dinamis kompleks enzim-ligan  
RKR..... 63

Gambar 17. Konformasi intraksi ligan RKR-enzim secara tiga dimensi (kiri)  
dan dua dimensi (kanan)..... 65



## DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Kelebihan dan kekurangan peptida sebagai <i>drug</i> .....	21
Tabel 2.	Sisi pemotongan sekuens asam amino substrat oleh NS3-NS2B protease.....	41
Tabel 3.	Data energi hasil docking.....	51
Tabel 4.	Data ikatan hidrogen ligan dengan residu asam amino enzim NS3-NS2B protease.....	53
Tabel 5.	Residu asam amino enzim NS3-NS2B protease yang berinteraksi dengan ligan standar, KRK, RKR dan ARR.....	56
Tabel 6.	Nilai log P, berat molekul, donor H dan acceptor H peptida siklis.....	60

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Fisikokimia Residu Asam Amino Sisi Aktif NS3 Protease.....	75
Lampiran 2. Posisi Sisi Aktif dan kofaktor NS3 Protease.....	76
Lampiran 3. Struktur Asam Amino Arginin dan Lisin.....	77
Lampiran 4. Daftar <i>Official Codes</i> Dua Puluh Asam Amino.....	78
Lampiran 5. Bentuk 7 buah Ligan Pembanding.....	79
Lampiran 6. Struktur dua dimensi ligan standar Bz-Nle-K-R-R-H.....	80
Lampiran 7. Struktur tiga dimensi ligan hasil optimasi geometri dan minimisasi energi.....	81
Lampiran 8. Struktur enzim NS3-NS2B hasil optimasi geometri dan minimisasi energi.....	83
Lampiran 9. Data Hasil <i>Docking</i> .....	84
Lampiran 10. Data Ligan Interaction Hasil Docking.....	86
Lampiran 11. Gambar Interaksi Ligan.....	97
Lampiran 12. Gambar <i>Superimpose</i> Ligan.....	99
Lampiran 13. Bagan kerja penelitian.....	101

## BAB I

### PENDAHULUAN

Penyakit demam berdarah dengue merupakan penyakit yang telah menjadi endemik di lebih dari 100 negara, dengan lebih dari 2,5 miliar orang dalam kondisi beresiko untuk terjangkit penyakit ini secara epidemik (Kee, *et al.*, 2007). Di Indonesia penyakit demam berdarah dengue pertama kali ditemukan pada tahun 1968 di Surabaya dan sekarang menyebar ke seluruh propinsi di Indonesia ([www.infeksi.com/articles.php](http://www.infeksi.com/articles.php), 11 November 2009, 11.56 WIB).

Penyakit demam berdarah dengue ini disebabkan oleh infeksi dari virus dengue (DENV) yang merupakan salah satu patogen penting yang dihadapi oleh dunia dan dapat mewakili terjadinya pandemik secara global (Tomlinson, *et al.*, 2009). *World Health Organization* memperkirakan terjadi 100 juta kasus tiap tahun dan sebanyak 2,5 miliar orang atau 40% dari populasi dunia berisiko terjangkit infeksi virus ini (Kee, *et al.*, 2007).

Virus dengue ditransmisikan oleh nyamuk tipe *Aedes* (Wichapong, *et al.*, 2009). Nyamuk betina *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus* merupakan vektor virus dengue yang utama. Nyamuk betina ini menghisap darah seseorang yang terjangkit penyakit demam berdarah pada waktu antara hari pertama sampai hari kelima penyakit ini diderita, selama waktu inilah virus dengue dapat ditransmisikan ke orang sehat lainnya. Selanjutnya, virus dengue mengalami masa inkubasinya selama 8-10 hari dalam tubuh vektor,



lalu kemudian virus dengue ini dapat ditransmisikan oleh nyamuk yang telah terinfeksi ke dalam tubuh manusia melalui penghisapan darah (Kee, *et al.*, 2007).

Infeksi virus dengue memiliki berbagai tingkatan gejala yang dapat diamati. *Dengue fever* (DF) merupakan gejala paling umum terjadi, gejala ini dikarakterisasi hampir sama dengan gejala flu yakni demam, mati rasa, sakit kepala (pusing), muntah-muntah. Tingkat selanjutnya disebut dengan *dengue hemorrhagic fever* (DHF) yang dikarakterisasikan dengan pecahnya plasma yang mengakibatkan *hemoconcentration* dan *thrombocytopenia*. Pada kasus yang lebih ekstrem, pasien dapat mengalami *shock hipovolemia* dan disebut dengan *dengue shock syndrome* (DSS) yang dapat mengakibatkan kematian (Tomlinson, *et al.*, 2009). Sampai saat ini, belum ada vaksin, terapi antiviral, maupun obat molekul kecil yang tersedia untuk mencegah atau mengobati infeksi virus dengue (Wichapong, *et al.*, 2009).

Virus dengue termasuk ke dalam famili *Flaviviridae* dan genus *Flavivirus*. Virus ini memiliki empat *serotypes* berdasarkan persamaan sekuens dan perbedaan sifat antigen yakni DEN1, DEN2, DEN3, DEN4. Infeksi oleh salah satu *serotypes* tidak melindungi dari infeksi *serotypes* lain, tetapi dapat meningkatkan patogenitas dari infeksi selanjutnya oleh ketiga *serotypes* lainnya (Qi, *et al.*, 2007).

Dewasa ini perkembangan ilmu virulogi dan biologi molekuler telah memberikan informasi mengenai mekanisme molekuler dari daur replikasi virus dengue. Setiap tahapannya, mulai dari infeksi sel inang hingga

perakitan partikel virus baru, dapat menjadi target dalam pengembangan molekul inhibitor (*drug design*) yang dapat menghambat aktivitas enzim-enzim yang berperan vital dalam replikasi virus dengue (Kirsten, 2008). Akhir-akhir ini molekul peptida telah dikembangkan dalam *drug design* karena walaupun memiliki kestabilan yang rendah, peptida memiliki aktivitas dan spesifitas yang tinggi, toksisitas yang rendah serta relatif tidak terakumulasi dalam tubuh (Sehgal, 2006). Peningkatan kemampuan dari struktur peptida protein dalam bentuk tiga dimensi dan database senyawaan kimia telah memperluas peranan komputasi *high throughput screening* (HTS) dalam pencarian obat antiviral dengue (Tomlinson, *et al.*, 2009)

Sejumlah studi telah meneliti pendekatan untuk menghentikan infeksi virus dengue ini dengan memberi rintangan saat virus masuk. Protein kunci pada interaksi ini adalah E (envelope), prM (premembran), dan C (capsid) protein struktural. Penggabungan inhibitor potensial yang telah diteliti termasuk molekul-molekul kecil dan inhibitor peptida (Tomlinson, *et al.*, 2009).

Enzim nonstruktural (NS) dari kompleks replikasi beberapa diantaranya termasuk NS3 protease dengan kofaktor NS2B, NS3 helikase/nukleosida triphosfatase (NTPase)/RNA 5' triphosfatase (RTPase), NS5 metiltransferase, dan NS5 RNA-dependen RNA polimerase (RdRp). Beberapa protein ini dapat digunakan sebagai target inhibitor potensial untuk agen antiviral sejak protein-protein ini dibutuhkan saat replikasi virus (Tomlinson, *et al.*, 2009).

Enzim protease NS3 merupakan target primer untuk pengembangan dari obat antiviral dengue sejak NS3-NS2B protease dibutuhkan untuk replikasi virus (Kee, *et al.*, 2007) dan inhibitor protease memiliki sejarah yang baik pada saat dikembangkan dalam obat antiviral (Hsu, *et al.*, 2006). Berdasarkan perbandingan sekuens protease yang telah dikenal, serin protease dengan sisi aktif His51, Asp75, dan Ser135 teridentifikasi dalam 180 residu asam amino dari NS3. Enzim protease NS3 membutuhkan NS2B sebagai kofaktor untuk mengaktifkan kerja dari protease (Qi, *et al.*, 2007). Beberapa studi tentang substrat khusus untuk virus dengue NS3 protease telah menjelaskan bahwa enzim ini mengenali pasangan residu baik itu lisin atau arginin pada posisi P2 dan P1 dari substrat peptida yang diikuti oleh asam amino kecil yang tidak bercabang seperti glisin, serin, threonin dan alanin pada posisi P1' (Chanprapaph, *et al.*, 2005).

Penelitian yang dilakukan oleh Zheng Yin, *et al.*, 2005 adalah untuk mencari inhibitor NS3 protease yang potensial dan selektif berdasarkan hasil evaluasi dari sintesis rangkaian aldehid tetra peptida yang linier. Dari hasil evaluasi sintesis didapatkan hasil bahwa bentuk inhibitor Bz-Nle-Lys-Arg-Arg-H merupakan inhibitor terbaik karena memiliki nilai  $K_i$  yang rendah ( $5.8 \mu\text{M}$ ) dan aktif pada protein NS3 protease dengue.

Penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Samira secara *molecular modelling* adalah perancangan 7 buah ligan peptida siklis sebagai inhibitor potensial untuk enzim NS3-NS2B protease virus dengue.

Perancangan ligan sebagai inhibitor ini didasarkan pada sisi aktif enzim NS3-

NS2B protease yang terdiri atas tiga asam amino fungsional yaitu His51, Asp75, dan Ser135 (Qi, *et al.*, 2008). Perlakuan siklisasi dalam perancangan ligan dimaksudkan untuk meningkatkan kestabilan ligan tersebut.

Berdasarkan keterangan di atas dan beberapa penelitian terdahulu, tujuan penelitian ini adalah merancang peptida siklis disulfida berdasarkan dari sisi aktif enzim NS3-NS2B protease virus dengue dengan rangkaian asam amino yang dikenali oleh sisi aktif tersebut yakni lysin, arginin, glisin, serin, alanin, threonin, dan sistein sehingga didapatkan inhibitor potensial bagi enzim NS3-NS2B protease virus dengue dengan metode *molecular docking* dan *molecular dynamic*.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Demam Berdarah

Demam Berdarah Dengue ( DBD ) merupakan salah satu penyakit menular yang disebabkan oleh infeksi virus dengue. Penyakit ini sering menimbulkan wabah dan menyebabkan kematian terutama pada anak, khususnya di daerah tropis dan subtropis (Wichapong, *et al.*, 2009). Vektor pembantu penyebaran virus dengue adalah nyamuk *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus*, kedua jenis nyamuk ini terdapat hampir diseluruh daerah tropis dan subtropis (Qi, *et al.*, 2008).

Penyakit demam berdarah dengue merupakan penyakit yang telah menjadi endemik di lebih dari 100 negara, dengan lebih dari 2,5 miliar orang dalam kondisi beresiko untuk terjangkit penyakit ini secara epidemik (Kee, *et al.*, 2007). Berkisar antara 50-100 miliar infeksi dengue diestimasikan terjadi setiap tahunnya, dengan kenaikan 1,5 miliar individu yang terinfeksi dengan gejala klinik dan 500.000 individu dengan tingkatan infeksi yang lebih serius yaitu dalam kondisi *dengue hemorrhagic fever* (DHF) yang dikarakterisasikan dengan pecahnya pembuluh kapiler darah dan *thrombocytopenia*. Pada kasus yang lebih ekstrem, pasien dapat mengalami *shock hipovolemia* dan disebut dengan *dengue shock syndrome* (DSS). Tiap tahunnya, infeksi

dengue ini mengakibatkan angka kematian sebesar 25.000, dan data terbesar terjadi pada anak-anak (Tomlinson, *et al.*, 2009).

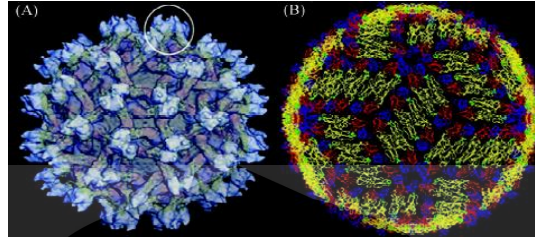
Wabah demam berdarah dengue di Indonesia yang menyebabkan banyak kematian terjadi untuk pertama kalinya pada tahun 1968 di kota Jakarta dan Surabaya. Sejak saat itu penyakit ini menyebar ke berbagai daerah, sehingga sampai tahun 1980 penyebarannya mencakup seluruh propinsi di Indonesia dan menimbulkan kejadian luar biasa ([www.infeksi.com/articles.php](http://www.infeksi.com/articles.php), 11 November 2009, 11.56 WIB).

## 2.2 Virus Dengue

Virus dengue termasuk ke dalam famili *Flaviviridae* dan genus *Flavivirus*. Virus ini memiliki empat *serotypes* yakni DEN1, DEN2, DEN3, DEN4 yang klasifikasinya didasarkan pada jenis antibodi yang dihasilkan di dalam tubuh manusia setelah terinfeksi. Keempat *serotype* ini memiliki morfologi dan genom yang sama tetapi menunjukkan antigen yang berbeda. Infeksi oleh salah satu *serotypes* tidak melindungi dari infeksi *serotypes* lain, tetapi dapat meningkatkan patogenitas dari infeksi selanjutnya oleh ketiga *serotypes* lainnya (J.Lescar, *et al.*, 2008).

Virus dengue merupakan jenis *virus* RNA berantai tunggal dengan *strand* positif, oleh karena itu dapat bermutasi lebih cepat karena RNA polimerase memiliki tingkat kesalahan lebih besar daripada DNA polimerase (Qi, *et al.*, 2008). Bentuk morfologinya dapat dilihat pada **Gambar 1** adalah

bola dengan diameter 40-60 nm (<http://athena.bioc.uvic.ca>, di akses 1 Juli 2009, 20.00 WIB).



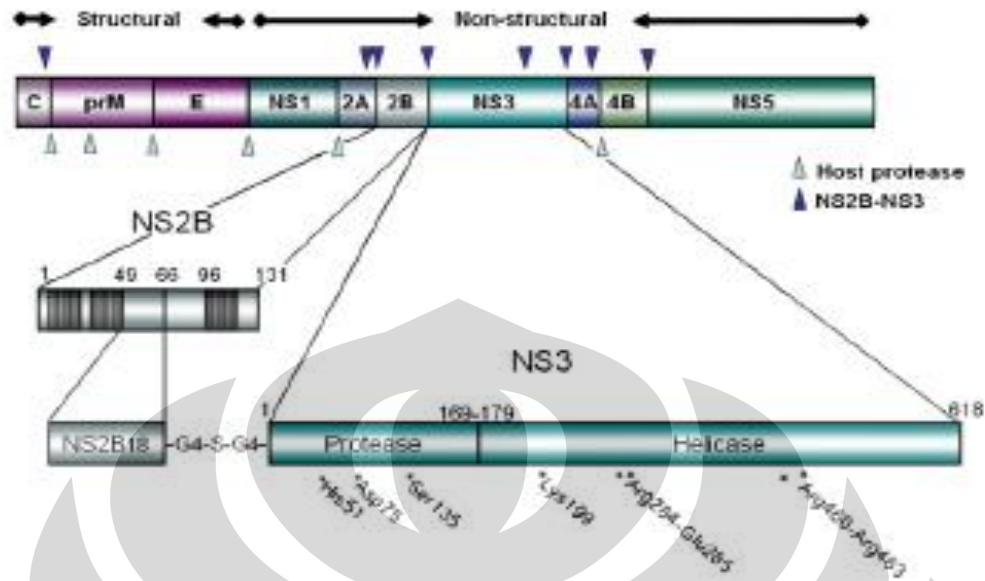
**Gambar 1.** Morfologi virus dengue immature (A) dan mature (B)

Sumber: Rui-feng Qi, *et al.*, 2008

### 2.2.1 Pemetaan Genom Virus

Genom RNA virus dengue merupakan satu untai *open reading frame* (ORF) yang memiliki tipe 1 cap pada ujung 5', tetapi pada ujung 3' tidak memiliki *poly-adenilate (poly-A) tail*. Genom RNA virus dengue ini mengkode tiga protein struktural pada ujung 5' yang terbagi atas capsid (C), prekursor membran (prM) dan protein envelope (E). Selanjutnya terdiri atas tujuh protein nonstruktural NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B dan NS5 hingga ujung 3' (Tomlinson, *et al.*, 2009). Sehingga susunan protein yang dikodekan oleh genom RNA virus dengue ini seperti pada **Gambar 2** adalah 5'-C-prM-E-NS1-NS2A-NS2B-NS3-NS4A-NS4B-NS5-3' (Qi, *et al.*, 2008).

Pada ujung-ujung ORF terdapat kode 5'UTR dan 3'UTR yang berperan penting dalam proses inisiasi dan regulasi pada proses translasi, transkripsi dan replikasi virus. (Chiu, *et al.*, 2005).



**Gambar 2.** Pemetaan genom dari virus dengue

Sumber: J.Lescar, *et al.*, 2008

### 2.2.2 Daur Hidup Virus Dengue

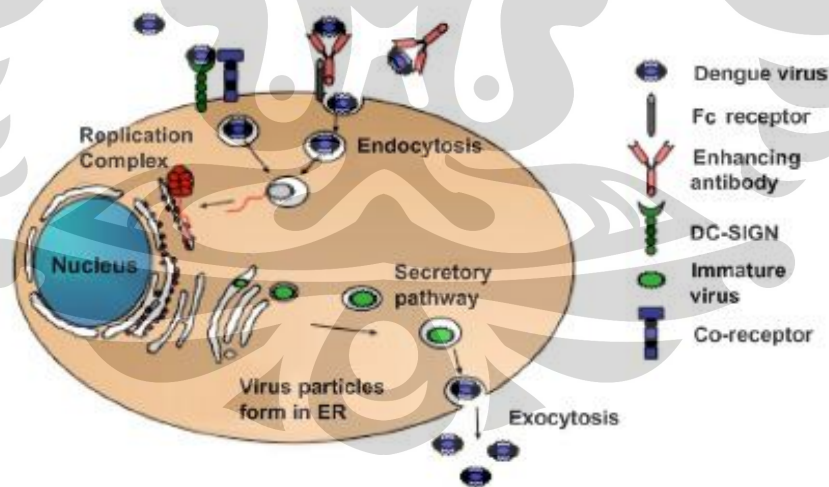
Proses infeksi virus dimulai ketika terjadi interaksi antara protein E virus dengan reseptor permukaan sel inang (**Gambar 3**). Partikel virus masuk ke dalam sel melalui reseptor yang termediasi endositosis. Ketika gelembung endositosis memiliki kadar asam yang cukup, nukleokapsid masuk ke dalam sitoplasma dimana genom virus dilepaskan. Genom ini kemudian mengalami translasi ke dalam bentuk single polipeptida (Tomlinson, *et al.*, 2009).

Translasi ini kemudian dilanjutkan di RE sehingga menghasilkan satu untaian poliprotein yang akan diproses menjadi unit-unit protein fungsional



bagi virus. Pemotongan pada sisi NS1-NS2A langsung terjadi setelah poliprotein terbentuk oleh protease yang belum teridentifikasi yang terdapat pada RE. Selanjutnya terjadi pemotongan pada konjugasi C-prM, prM-E, E-NS1 dan NS4A-NS4B oleh enzim peptidase RE inang, dan pemotongan pada NS2A-NS2B, NS2B-NS3, NS3-NS4A dan NS4B-NS5 oleh enzim protease virus (Melino, *et al.*, 2007).

RNA virus mengalami replikasi dan mensintesis RNA negatif yang kemudian menjadi *template* untuk sintesis RNA positif virus. RNA hasil replikasi ini lalu berasosiasi dengan protein C hasil translasi membentuk virion *immature* di permukaan RE. Virion lalu bergerak menuju badan golgi untuk maturasi sehingga membentuk virion yang fungsional dalam jumlah banyak dan menyebabkan sel inang lisis (Melino, *et al.*, 2007).



**Gambar 3.** Skema replikasi virus dengue

Sumber: J.Lescar, *et al.*, 2008

### 2.3 Enzim

Enzim merupakan katalis biologis yang berfungsi sebagai pemercepat dan pengarah reaksi biokimia (metabolisme) dalam sistem hidup. Di luar molekul kecil katalitik RNA, semua enzim adalah protein yang memiliki berat molekul sekitar 12.000 hingga satu juta g/mol dan sebagian besar berbentuk globular. Dalam fungsi katalitiknya, beberapa enzim membutuhkan komponen kimia non-protein tambahan yang disebut kofaktor. Kofaktor dapat berupa molekul organik, biasa disebut koenzim, atau ion logam seperti  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ , dan  $\text{Zn}^{2+}$ . (Lehninger, 2005).

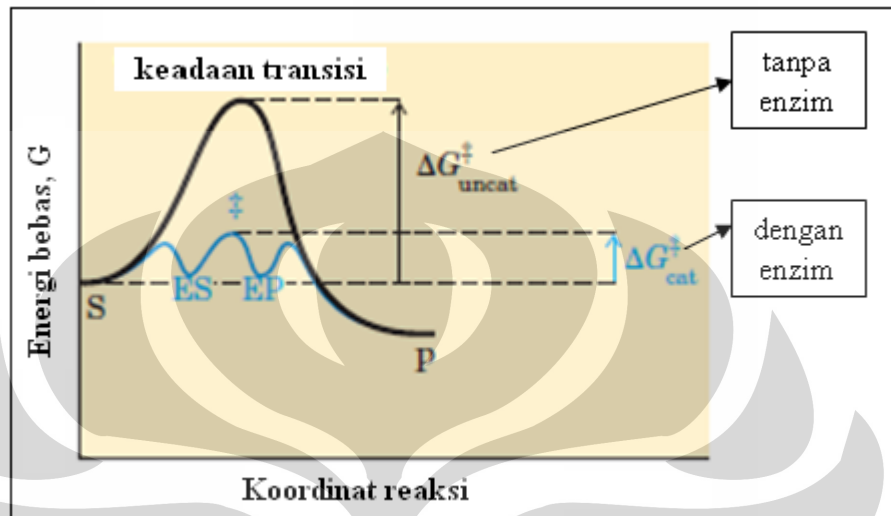
Masing-masing enzim memiliki sisi aktif dan sisi ikatan yang berbeda. Pada permukaan sisi aktif terdapat residu asam amino yang dapat berikatan dengan substrat sehingga enzim memiliki sifat selektif dan spesifik. Konsep kompleks enzim-substrat ini pertama kali dirumuskan oleh Charles-Adolphe Wurtz pada tahun 1880. Reaksi enzimatik secara sederhana dapat dituliskan sebagai berikut:



dimana E, S, dan P adalah enzim, substrat, dan produk. ES adalah keadaan transisi kompleks enzim dengan substrat dan EP adalah keadaan transisi kompleks enzim dengan produk (Lehninger, 2005).

Berdasarkan hukum Gibbs, harga  $\Delta G$  menunjukkan bagaimana reaksi berlangsung, kecenderungan arah reaksi atau kesetimbangan. Dengan

adanya enzim, energi yang dibutuhkan untuk mencapai keadaan transisi menjadi lebih kecil sehingga reaksi berlangsung lebih cepat (**Gambar 4**).



**Gambar 4.** Skema perbandingan energi bebas reaksi tanpa dan dengan enzim

Sumber : Lehninger, 2005

Kerja enzim dipengaruhi antara lain oleh konsentrasi enzim, konsentrasi substrar, pH, temperatur dan inhibitor.

Struktur dan fungsi enzim dipengaruhi oleh interaksi nonkovalen yang terdiri atas ikatan hidrogen, ikatan ionik, interaksi van der Waals, dan interaksi hidrofobik. Akumulasi dari keempat jenis interaksi ini memberikan kontribusi terhadap kestabilan struktur tiga dimensi dan aktivitas katalitik enzim (Lehninger, 2005).

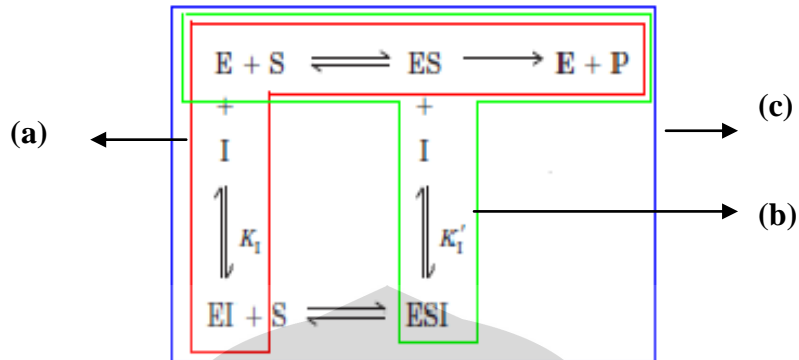
## 2.4 Inhibitor Enzim

Inhibitor adalah suatu senyawa yang dapat menurunkan laju reaksi. Inhibitor dapat bekerja pada enzim atau pada kofaktor. Inhibitor enzim adalah molekul yang dapat mengganggu sifat katalitik enzim atau menurunkan aktivitas katalitiknya. Berdasarkan sifatnya, inhibitor enzim terbagi menjadi inhibitor *reversible* dan *irreversible*.

### 1. Inhibitor *reversible*

Inhibitor *reversible* berikatan dengan enzim melalui interaksi nonkovalen seperti ikatan hidrogen, ikatan ionik dan interaksi hidrofobik. Inhibitor ini membentuk kompleks EI (inhibitor-enzim) tetapi tidak mengalami katalisis sehingga dapat menurunkan efisiensi aktivitas enzim. Ada tiga jenis inhibitor *reversible*, yaitu:

- Inhibitor kompetitif (**Gambar 5a**)  
Inhibitor yang berkompetisi dengan substrat dengan membentuk ikatan reversible ke sisi aktif enzim, namun tidak ada perubahan bentuk dari inhibitor oleh enzim.
- Inhibitor nonkompetitif (**Gambar 5b**)  
Inhibitor yang terikat terhadap kompleks enzim-substrat pada sisi yang berbeda dengan sisi aktif enzim.
- Inhibitor campuran (**Gambar 5c**)  
Inhibitor yang terikat baik terhadap enzim maupun kompleks enzim-substrat pada sisi yang berbeda dengan sisi aktif enzim.



**Gambar 5.** Skema persamaan reaksi inhibitor *reversible*

Sumber : Lehninger, 2005

## 2. Inhibitor *irreversible*

Inhibitor ini dapat membentuk ikatan kovalen dengan enzim atau merusak residu gugus fungsional enzim yang vital bagi aktivitas enzim sehingga enzim menjadi inaktif (Lehninger, 2005). Reaksi yang terjadi dapat berupa ikatan antara gugus nukleofilik enzim, seperti hidrosil dan sulfhidril pada residu serin, sistein, threonin atau tirosin, dengan gugus elektrofilik inhibitor (Lundblad, R. L., 2004).

Kemampuan inhibitor dalam menghambat kerja suatu enzim seringkali ditinjau dari nilai konstanta inhibitor ( $K_i$ ).

$$K_i = \frac{[E][I]}{[EI]}$$

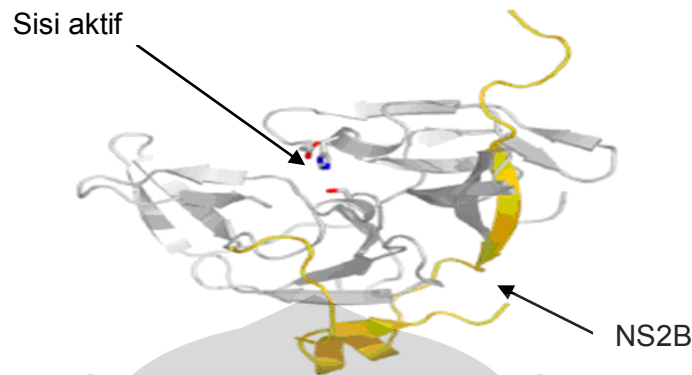
Persamaan di atas menunjukkan bahwa semakin kecil nilai  $K_i$ , maka afinitas inhibitor untuk membentuk kompleks dengan enzim menjadi sangat tinggi sehingga menunjukkan bahwa kompleks enzim-inhibitor yang terbentuk cukup stabil (Hudiyono dan Handayani, 2006).

## 2.5 Protease

Protease atau biasa disebut juga proteinase atau peptidase, merupakan enzim proteolisis yakni enzim yang mengkatalisis reaksi hidrolisis pemutusan ikatan kovalen peptida sehingga menghasilkan ujung N dan C yang bebas (Lehninger, 2005). Berdasarkan gugus fungsional dari sisi aktifnya, protease terbagi menjadi empat kelompok, yaitu serin protease, sistein protease, aspartat protease, dan metallo protease (<http://www.oswego.edu/>, 2 Juli 2009, 14.40 WIB).

### 2.5.1 NS3 Protease

NS3 protease pada virus *dengue* termasuk dalam jenis serin protease yang terdiri dari 184 residu asam amino pada terminal N (Tomlinson, *et al.*, 2009). Studi terhadap sekuens virus *dengue* menunjukkan bahwa sisi aktif NS3 protease terdiri atas tiga asam amino fungsional yaitu His51, Asp75, dan Ser135. Enzim NS3 protease ini membutuhkan NS2B sebagai kofaktor yang berperan dalam aktivitas katalitik NS3 protease (Qi, *et al.*, 2007). Pada **Gambar 6** dapat dilihat bahwa posisi NS2B sebagai kofaktor berada jauh dari posisi sisi aktif enzim NS3 protease. Konjugasi NS3-NS2B berperan dalam pemotongan prekursor poliprotein pada NS2A- NS2B, NS2B- NS3, NS3- NS4A, dan NS4B-NS5, serta pada sisi pemotongan internal protein C, NS2A, NS3, dan NS4A (Tomlinson, *et al.*, 2009).



**Gambar 6.** NS3 protease dengan kofaktor NS2B

Sumber : J.Lescar, *et al.*, 2008

NS3 protease mengenali substratnya pada residu yang bersifat basa yang terletak di posisi P1 dan P2 (Jun Li, *et al.*, 2005). Merujuk pada metode Schechter dan Berger, huruf P digunakan untuk menandai substrat sedangkan huruf S digunakan untuk menandai *subsiste* pada protease yang berinteraksi dengan substrat tersebut. Posisi P1, P2,..., Pn menunjukkan residu substrat pada N terminal setelah sisi pemotongan enzim sedangkan P1', P2',...,Pn' menunjukkan residu pada C terminal setelah sisi pemotongan enzim. Secara berurutan keduanya bereaksi dengan *subsiste* S1, S2,...,Sn dan S1', S2',...,S3' pada protease (Samira, 2009). Beberapa studi tentang substrat khusus untuk virus dengue NS3 protease telah menjelaskan bahwa enzim ini mengenali pasangan residu baik itu lisin atau arginin pada posisi P2 dan P1 dari substrat peptida yang diikuti oleh asam amino kecil yang tidak

bercabang seperti glisin, serin, threonin dan alanin pada posisi P1' (Chanprapaph, *et al.*, 2005).

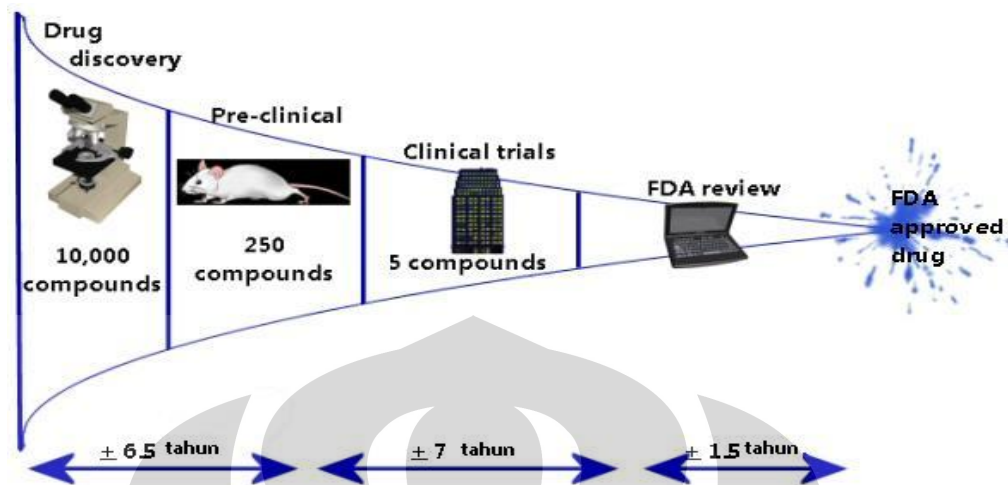
Inhibisi terhadap enzim NS3-NS2B protease dapat menyebabkan terhambatnya aktivitas enzimatis NS3-NS2B protease. Poliprotein yang terbentuk dari translasi RNA menjadi tidak dapat dipotong-potong dan poliprotein tetap berada dalam bentuk satu untai panjang yang utuh. Akibatnya protein-protein lain yang vital bagi keberlangsungan replikasi virus *dengue* tidak dapat terbentuk (Samira, 2009).

## **2.6 Drug Development dan Drug Design**

### **2.6.1 Pengertian Drug Development**

*Drug Development* merupakan suatu proses panjang dalam penentuan, perancangan, pembuatan dan penjualan suatu obat. Proses ini termasuk di dalamnya adalah proses penelitian pra-klinis yakni pengujian terhadap mikroorganisme atau hewan dan proses percobaan klinis terhadap manusia (<http://en.wikipedia.org/wiki/drug-development> , diakses 1 November 2009, 19.15 WIB). Suatu proses pembuatan obat hingga obat tersebut dapat diproduksi memakan waktu sekitar 10 hingga 15 tahun (**Gambar 7**). Total rata-rata biaya per *drug development* berkisar antara US\$ 897 juta hingga US\$ 1.9 milyar. (<http://www.combichemistry.com/drug-discovery.html> , diakses 1 November 2009, 19.00 WIB ).





**Gambar 7.** Proses *Drug Development*

Sumber : [www.drug-discovery-11.com](http://www.drug-discovery-11.com)

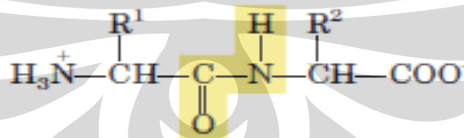
### 2.6.2 Pengertian *Drug Design*

*Drug design* adalah suatu metode perancangan obat (*drug*) yang didasarkan pada analisis biologis dan fisik dari targetnya. Target merupakan molekul-molekul atau bagian dari makromolekul yang berperan vital dalam proses metabolik dari kondisi patologis seseorang akibat penyakit yang disebabkan oleh mikroba patogen. Umumnya *drug* ini dirancang untuk menghambat atau menghentikan jalur metabolisme dari molekul-molekul utama penyebab penyakit dengan cara membentuk ikatan terhadap sisi aktif dari molekul-molekul tersebut sehingga molekul *drug* dapat berperan sebagai inhibitor (<http://www.techfak.uni-bielefeld.de/bcd/ForAll/Introd/drugdesign.html>, diakses 1 Juli 2009, 20.00 WIB).

Sebelum teknologi informasi berkembang pesat, metode yang digunakan untuk menemukan inhibitor yang tepat adalah dengan melakukan *screening* berbagai komponen lalu mengujikannya ke enzim target secara *trial-and-error* (Samira, 2009). Tetapi kini, dengan mengetahui sisi aktif dan struktur tiga dimensi enzim target, perancangan *drug* dapat dilakukan secara komputasional atau *in silico*. Selain itu, dapat pula diprediksikan molekul yang dapat berperan sebagai inhibitor sehingga proses *screening* dan pengujian secara eksperimental menjadi lebih efisien (Scapin, 2006).

### 2.6.3 Peptida Dalam *Drug Design*

Peptida merupakan gabungan dari dua molekul asam amino dapat berikatan secara kovalen melalui ikatan amida (ikatan peptida). Ikatan peptida ini terjadi akibat reaksi kondensasi hilangnya molekul air yang berasal dari gugus karboksil satu asam amino dan gugus amino asam amino lain (Lehninger, 2005).



**Gambar 8.** Bentuk ikatan peptida

Sumber : Lehninger, 2005

Tiga asam amino dapat bergabung dengan dua ikatan peptida untuk membentuk tripeptida, sama halnya dengan empat atau lebih asam amino yang bergabung dengan ikatan peptida di antara asam amino tersebut.

Akhir-akhir ini molekul peptida telah dikembangkan dalam *drug design* karena walaupun memiliki kestabilan yang rendah, peptida memiliki aktivitas dan spesifitas yang tinggi, toksisitas yang rendah serta relatif tidak terakumulasi dalam tubuh (Sehgal, 2006). Beberapa kelebihan dan kekurangan peptida sebagai *drug* dapat dilihat pada **Tabel 1**.

**Tabel 1.** Kelebihan dan kekurangan peptida sebagai *drug*

<b>Kelebihan</b>	<b>Kekurangan</b>
Aktivitas tinggi	kurang stabil
spesifisitas tinggi	mudah terdegradasi oleh protease
cenderung tidak terakumulasi dalam tubuh	proses sintesis membutuhkan biaya yang tinggi
Toksisitas rendah	Bioavailabilitas oral rendah
efisiensi tinggi	Harus disintesis dalam jumlah besar
tidak ada <i>drug-drug interaction</i>	

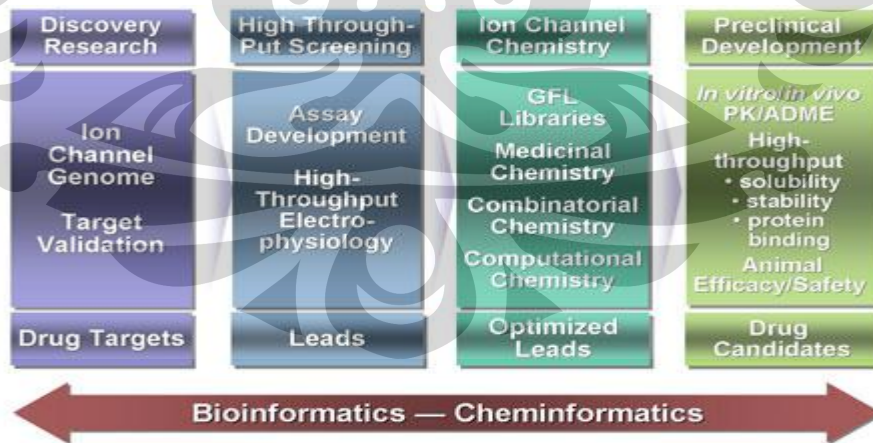
Sumber : (Sehgal, 2006)

Peningkatan kemampuan dari struktur peptida protein dalam bentuk tiga dimensi dan database senyawaan kimia telah memperluas peranan komputasi *high throughput screening* (HTS) dalam pencarian obat antiviral dengue (Tomlinson, *et al.*, 2009).

## 2.7 Bioinformatika

Bioinformatika adalah suatu bidang ilmu yang menggunakan pendekatan teknik informatika atau komputasional dalam mengaplikasikan dan menyelesaikan persoalan molekular biologi (Gerstein, Mark. 1999. Yale, bioinfo.mbb.yale.edu.). Salah satu fungsi bioinformatika meliputi pengelolaan informasi biologis yang diperoleh dari berbagai penelitian yang menghasilkan data dalam jumlah banyak dan kompleks, seperti pemetaan genom manusia.

Pada *database* bioinformatika, data yang diatur merupakan data sekuen DNA atau protein yang didapat melalui percobaan laboratorium yang biasanya disimpan dalam *file* komputer. Setiap *file* dari suatu sekuen berisi informasi mengenai asal organisme, nama sekuen, dan juga nomor akses yang digunakan untuk mengidentifikasi sekuen tersebut (Mount, 2004).



**Gambar 9.** Peranan Bioinformatika dalam proses *drug development*

Sumber : [www.tech\\_platform.com](http://www.tech_platform.com)

Dari **Gambar 9**, dapat terlihat kemajuan bioinformatika sangat berperan dalam kemajuan bidang ilmu virulogi dan *drug development*. Dengan adanya peranan ilmu bioinformatika dalam proses dari *drug development*, produksi obat untuk target virus menjadi lebih efisien karena dalam setiap tahapannya dapat divisualisasikan dan dianalisa terlebih dahulu dalam media komputasi 2 dimensi maupun 3 dimensi.

## 2.8 ***Molecular Modeling***

*Molecular modeling* merupakan suatu metode untuk merancang dan menganalisis struktur dan sifat-sifat molekul tertentu dengan menggunakan teknik kimia komputasional dan teknik visualisasi grafis yang bertujuan untuk menyediakan struktur geometri tiga dimensi yang sesuai dengan parameter kondisi yang telah ditentukan. *Molecular modeling* merupakan gabungan dari data empiris dan teknik komputasional untuk menirukan dan memodelkan perilaku molekul sehingga dapat digunakan untuk mempelajari sistem molekular tertentu (Leach, 2001).

Salah satu kunci utama dari *molecular modeling* adalah penghitungan energi konformasi dan interaksi. Energi ini dapat dihitung dengan berbagai metode mulai dari penghitungan mekanika kuantum hingga fungsi empiris energi (Teodoro, *et al.*, 2001).

Salah satu aplikasi dari *molecular modeling* adalah *molecular docking*, yang dalam kaitannya dengan *docking*, evaluasi energi dapat

diselesaikan dengan bantuan fungsi *scoring*. Berbagai fungsi *scoring* yang umum biasanya berdasarkan atas *forcefield* yang dirancang untuk mensimulasikan fungsi dari protein. *Forcefield* merupakan fungsi empiris energi potensial permukaan dari suatu protein. *Forcefield* ini didapatkan dengan mengembangkan model melalui kombinasi antara bentuk ikatan (jarak ikatan, sudut ikatan, sudut torsi, dan lain-lain) dan bentuk tanpa ikatan (van der waals dan elektrostatik) (Teodoro, *et al.*, 2001).

Dengan demikian energi total (disebut *force field*) molekul dapat ditentukan oleh hukum Hooke yang secara umum dinyatakan sebagai:

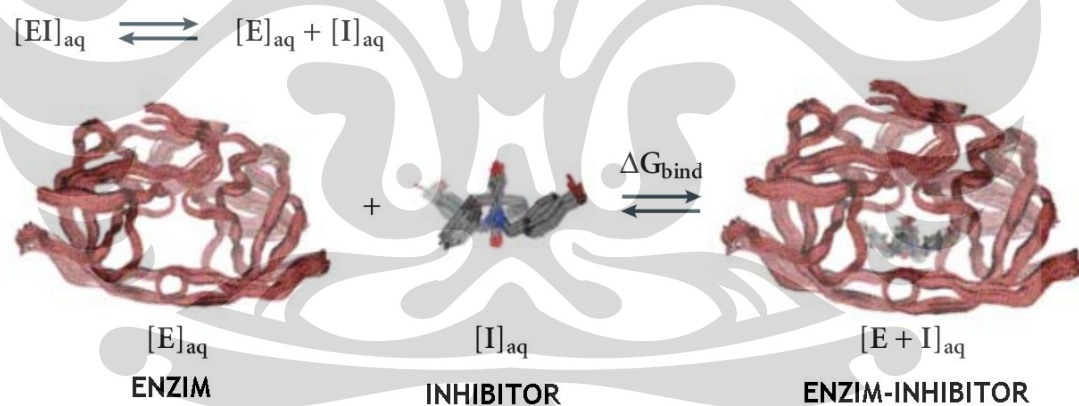
$$E_T = E_{\text{str}} + E_{\text{bend}} + E_{\text{tor}} + E_{\text{oop}} + E_{\text{vdw}} + E_{\text{elec}}$$

dimana  $E_T$  adalah energi total molekul,  $E_{\text{str}}$  adalah energi *bond stretching*,  $E_{\text{bend}}$  energi *angle bending*,  $E_{\text{tor}}$  energi torsional,  $E_{\text{oop}}$  energi *out-of-plane*,  $E_{\text{vdw}}$  energi van der Waals dan  $E_{\text{elec}}$  adalah energi elektrostatik (Sutarto, 2008).

## 2.9 *Molecular Docking*

*Molecular docking* merupakan suatu proses komputasi dalam mencari sebuah ligan yang dapat terikat baik secara geometris dan energisitas terhadap *binding site* dari sebuah protein (Teodoro, *et al.*, 2001). *Molecular docking* bertujuan mencoba untuk memprediksikan struktur dari kompleks intermolekuler yang terbentuk antara dua atau lebih konstituen molekul.

Terdapat dua aspek penting dalam *molecular docking* yaitu, *posing* dan *scoring*. *Posing* merupakan proses dalam menentukan konformasi dan orientasi ligan dapat tepat berikatan dengan sisi aktif enzim. Proses ini merupakan prosedur yang dapat memberikan beberapa alternatif hasil. Sedangkan, *scoring*, merupakan nilai dari posisi yang terukur pada saat ligan tepat berikatan dengan sisi aktif enzim. Proses *scoring* selama fase posisi biasanya melibatkan perhitungan energi (elektrostatik, van der Waals, dan ketegangan rantai ligan). Untuk proses *re-scoring* selanjutnya dapat digunakan untuk mengestimasi secara lebih akurat energi bebas ikatan ( $\Delta G_{\text{binding}}$  dan  $K_A$ ) dan mungkin termasuk entropi dan pelarutan (Eldemiro Moman, *Pharmaceutical and Medicinal Chemistry, Saarland University*).



**Gambar 10.** Docking antara enzim dengan inhibitor

Sumber : *Nature Reviews Drug Discovery*, 2004, 3, 935

Berdasarkan **Gambar 10** dapat dilihat simulasi proses docking antara enzim dan inhibitor yang memberikan suatu fungsi *scoring*  $\Delta G_{\text{binding}}$ .

Hubungan antara enzim dan inhibitor dalam suatu fungsi scoring  $\Delta G_{\text{binding}}$  dapat dilihat dari persamaan berikut di bawah ini (Kitchen, *et al.*, 2004):

$$\Delta G = -RT \ln K_A \qquad K_A = K_i^{-1} = \frac{[EI]}{[E][I]}$$

Berdasarkan interaksi yang terjadi, terdapat beberapa jenis *molecular docking*, yaitu:

1. *Docking* protein-protein
2. *Docking* ligan-protein
3. *Docking* ligan-DNA

Saat ini *molecular docking* banyak diaplikasikan di dalam *drug design* untuk memprediksikan orientasi ikatan antara kandidat molekul *drug* dengan protein target sehingga dapat diketahui afinitas dari molekul *drug* tersebut. Untuk melakukan *molecular docking*, hal pertama yang dibutuhkan adalah struktur tiga dimensi dari ligan (*drug*) dan protein target. Struktur tiga dimensi ligan dapat dimodelkan dengan menggunakan teknik *molecular modelling* sedangkan struktur tiga dimensi protein target dapat ditentukan secara empiris dengan menggunakan teknik *NMR spectroscopy* dan *X-ray crystallography* yang terdapat pada *database Protein Data Bank* dan secara *in silico* dengan teknik *homology modelling* (Lucientes, 2004).



## 2.10 *Molecular Dynamic*

*Molecular dynamic* merupakan tahapan lebih lanjut dari pendekatan *molecular mechanic* dan didasari dari ide bahwa atom dari suatu molekul merasakan kekuatan untuk bergerak.

Simulasi *Molecular dynamic* telah digunakan pada beberapa aplikasi bimolekular. *Molecular dynamic* menyediakan pendekatan yang baik untuk menentukan konformasi molekul terbaik. Hal ini didapatkan dengan melakukan simulasi dari pergerakan dinamik suatu molekul yang bervibrasi dan berotasi.

Teknik dari *molecular dynamic* ini telah digunakan untuk melihat struktur 3 dimensi dari peptida dan protein kecil. Sebagai tambahan, data struktur, dinamika, dan termodinamika dari *molecular dynamic* telah disediakan untuk melihat ke dalam fungsi hubungan antara afinitas ikatan, mobilitas, dan stabilitas dari protein, asam nukleat dan makromolekul lainnya (Radendla, 2004)

Simulasi *molecular dynamic* dapat digunakan untuk menentukan konformasi pada energi rendah. Simulasi ini dapat berjalan dengan temperatur yang berbeda-beda untuk mendapatkan konformasi yang berbeda untuk setiap temperatur.

## BAB III

### METODOLOGI PENELITIAN

#### 3.1 Pengambilan Data PDB Struktur Tiga Dimensi Enzim NS3-NS2B Protease Virus Dengue

Data PDB struktur tiga dimensi enzim NS3-NS2B protease virus dengue PDB ID 2FOM diunduh dari *database* PDB yang ada di *Research Collaboratory for Structural Bioinformatics Protein Data Bank* melalui alamat situs <http://www.rcsb.org/pdb/> dengan menggunakan perangkat komputer yang terhubung dengan *internet*. Sistem operasi yang digunakan adalah *Microsoft Windows XP* dengan *browser Mozilla Firefox*.

#### 3.2 Visualisasi Sisi Aktif dan *Binding Site* Enzim NS3-NS2B Protease

##### 3.2.1 Sisi Aktif dan Kofaktor Enzim

Struktur tiga dimensi enzim NS3-NS2B protease divisualisasikan dengan *software MOE 2008.10* untuk melihat lokasi sisi aktif dan kofaktornya. *Input* yang dimasukkan adalah data PDB enzim NS3-NS2B protease dalam format *.pdb* yang kemudian diubah dalam format *.moe*.

### 3.2.2 *Binding Site* Enzim

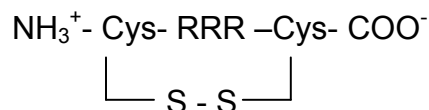
Permukaan enzim divisualisasikan dengan menggunakan *software MOE 2008.10* untuk melihat bentuk *binding site* enzim. Visualisasi didasarkan pada spektrum potensial elektrostatisnya.

### 3.3 Penentuan Sekuens Asam Amino Peptida sebagai Inhibitor

Penentuan sekuens asam amino peptida didasarkan pada sekuens asam amino substrat alami enzim NS3-NS2B protease yang dikenali oleh sisi aktifnya. Asam amino yang digunakan adalah arginin, lisin, glisin, serin, threonin dan alanin. Dalam penelitian ini digunakan peptida dengan sekuens asam amino Bz-Nle-K-R-R-H sebagai standar dan C-K-R-R-C sebagai pembanding.

### 3.4 Perancangan Struktur Tiga Dimensi Peptida Siklis Sebagai Ligan

Sekuens asam amino peptida siklis dirancang lalu dimodelkan ke dalam struktur tiga dimensi dengan menggunakan *software ACDlabs*. Peptida dirancang dalam bentuk siklis melalui ikatan disulfida dari asam amino sistein dan dibuat dalam bentuk *zwitter ionnya*.



Hasil perancangan peptida siklis tiga dimensi kemudian disimpan dalam format *MDL Molfile*. Format penyimpanan peptida siklis kemudian dirubah menjadi *MDL Mol* dengan menggunakan *software Vegazz*. Dalam penyimpanan data dilakukan pada *software MOE 2008.10* dengan memasukkan semua rancangan peptida siklis ke dalam *MOE database viewer (dv)* dengan format *.mdb*.

### **3.5 Preparasi File Docking**

Preparasi *file docking* dilakukan optimasi geometri dan minimisasi energi struktur tiga dimensi pada enzim NS3-NS2B protease dan peptida siklis dengan menggunakan *software MOE 2008.10* yang dijalankan pada *single computer Intel Pentium Dual Core*. Algoritma yang digunakan adalah *Alpha Sphere*

#### **3.5.1 Optimasi Geometri dan Minimisasi Energi Struktur Tiga Dimensi Enzim NS3-NS2B Protease**

Proses optimasi geometri dan minimisasi energi enzim NS3-NS2B protease dilakukan diawali dengan menghilangkan molekul air dan ion klorin. Lalu selanjutnya dilakukan protonasi dengan *protonate3D*. Kemudian dilakukan penambahan atom hidrogen pada struktur enzim dengan *hydrogen fix* dan pengaturan muatan parsial enzim menggunakan *partial charge*,

dengan parameter *method* yang digunakan adalah *current forcefield*.

Selanjutnya dilakukan minimisasi energi dengan *force field* MMFF94x, solvasi yang digunakan selama proses optimasi adalah *gas phase*, dan RMS gradient 0,05 kcal/Å mol. Parameter yang lainnya menggunakan *default* dan *file output* dalam format *.moe*.

### 3.5.2 Optimasi Geometri dan Minimisasi Energi Struktur Tiga Dimensi Peptida Siklis

Optimasi peptida siklis dilakukan pada *MOE database viewer (dv)*. Proses optimasi diawali dengan melakukan *wash* untuk seluruh peptida siklis (yang selanjutnya disebut ligan). Kemudian dilakukan pengaturan muatan parsial ligan menggunakan *partial charge*, dengan parameter *method* yang digunakan adalah MMFF94. Solvasi yang digunakan selama proses optimasi ligan adalah dalam bentuk *gas phase*. Lalu selanjutnya dilakukan proses minimisasi energi dengan RMS gradient 0,001 kcal/Å mol dan proses pengaturan interaksi ligan dengan enzim menggunakan *Protein-Ligand Interaction Fingerprint (PLIF)* yang dilakukan pada ligan. Parameter yang lainnya menggunakan *default* dan *file output* dalam format *.mdb*.

### 3.6 *Docking*

Proses *docking* dilakukan dengan *software MOE 2008.10* program *MOE-dock*. *Placement method* yang digunakan adalah *triangle matcher* dengan banyaknya jumlah putaran 2.500.000. Fungsi *scoring* yang digunakan adalah London dG dengan menampilkan data terbaik (*retain*) sebesar 100. Selanjutnya dari 100 tampilan data terbaik tersebut dilakukan pengukuran ulang (*refinement*) dengan menggunakan *refinement force field* dengan konfigurasi ukuran pengulangan populasi sebesar 1.000 sesuai dengan *default* dari *MOE*. Tampilan (*retain*) hasil keseluruhan proses *docking* yang dipilih adalah 1 data terbaik. Parameter lainnya sesuai dengan *default* dari *MOE* dan *file output* hasil *docking* dalam format *.mdb*. Simulasi *docking* ini dilakukan dengan menggunakan komputer yang menggunakan sistem operasi *Microsoft Windows XP*.

### 3.7 *Analisis Docking*

#### 3.7.1 Nilai Energi Bebas Ikatan ( $\Delta G_{\text{binding}}$ )

Energi bebas ikatan hasil *docking* dilihat pada *output* dalam format *.mdb* dengan simbol *s* pada tabel data hasil *docking*. Kompleks enzim-ligan yang dipilih adalah kompleks yang memiliki nilai energi bebas ikatan terkecil untuk kemudian dilakukan analisis lebih lanjut.

### 3.7.2 Ikatan Hidrogen

Ikatan hidrogen yang terjadi pada kompleks enzim-ligan terbaik hasil *docking* diidentifikasi dan dianalisis dalam media tiga dimensi dengan menggunakan *software MOE 2008.10*. Format *file input* yang digunakan untuk identifikasi dan analisis adalah *.mdb*.

### 3.7.3 Kontak Residu

Kontak residu kompleks enzim-ligan hasil *docking* diidentifikasi dan kemudian dilakukan visualisasi dengan menggunakan *software MOE 2008.10* dan program *ligan interaction*. Format *file input* yang digunakan adalah *.moe*.

## 3.8 Analisis Drug Scan

Analisis *drug scan* dilakukan terhadap hasil analisis *docking* ligan yang memiliki  $\Delta G_{\text{binding}}$  rendah sesuai distribusi normal, yaitu 20% dari energi terendah. Analisis *drug scan* ini dilakukan dengan membandingkan ligan terbaik hasil analisis *docking* terhadap aturan obat yang baik (*Lipinsky's Rule of Five*).

### 3.9 Preparasi *File Molecular Dynamic*

Preparasi *file molecular dynamic* dilakukan optimasi geometri dan minimisasi energi struktur tiga dimensi pada kompleks enzim NS3-NS2B protease dan ligan dengan menggunakan *software MOE 2008.10* yang dijalankan pada *single computer Intel Pentium Dual Core*. Optimasi geometri *partial charge* kompleks enzim-ligan dilakukan dengan parameter *method* yang digunakan adalah *current forcefield*. Selanjutnya dilakukan minimisasi energi dengan *force field* MMFF94x, solvasi yang digunakan adalah *born*, dan RMS gradient 0,05. Parameter yang lainnya menggunakan *default* dan *file output* dalam format *.moe*.

### 3.10 *Molecular Dynamic*

Proses *molecular dynamic* terhadap ligan yang terbaik dan memiliki kemiripan dengan obat, dilakukan dengan *software MOE 2008.10* program *MOE-dynamic*. Proses *molecular dynamic* ini dilakukan hanya pada tahap inisialisasi, yakni tahap awal dari keseluruhan proses *molecular dynamic*. Parameter yang digunakan sesuai dengan *default* pada *MOE-dynamic* yaitu *ensemble* NVT (N: jumlah atom; V: volume; T: temperatur) dengan algoritma NPA. Parameter yang lainnya dilakukan sesuai dengan *default MOE-dynamic*. Selanjutnya dilakukan analisis hasil dinamik kompleks enzim inhibitor berdasarkan hasil perhitungan simulasi dinamik. Simulasi dinamik ini



dilakukan dengan perangkat komputer yang menggunakan Microsoft Windows XP sebagai sistem operasinya.

### 3.11 Analisis *Molecular Dynamic*

#### 3.11.1 Visualisasi Konformasi Kompleks Enzim-Ligan Hasil *Molecular Dynamic*

Hasil kalkulasi *molecular dynamic* dilihat pada *output database viewer MOE* dalam format *.mdb*. Visualisasi pergerakan konformasi protein-ligan hasil *molecular dynamic* dilakukan dengan memilih konformasi ligan pada tiap jangka waktu (*t*) 0, 25, 50, 75, dan 100 piko detik. Visualisasi dilakukan pada *software MOE 2008.10* dalam format *.moe*.

#### 3.11.2 Interaksi Enzim-Ligan

Interaksi kompleks enzim-ligan selama proses *molecular dynamic* dapat dilihat pada *output database viewer MOE* dalam format *.mdb*. Kemudian, dilakukan analisis hubungan antara waktu dengan interaksi kompleks enzim-ligan.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMAHASAN

#### 4.1 Pengambilan Data PDB Struktur Tiga Dimensi Enzim NS3-NS2B Protease Virus *Dengue*

Pengambilan struktur tiga dimensi enzim NS3-NS2B protease virus *dengue* dilakukan pada *database Research Collaboratory for Structural Bioinformatics Protein Data Bank* yang dapat diakses melalui internet dengan alamat <http://www.rcsb.org/pdb/>. *Database* pada PDB ini berisi data dalam format .pdb yang sesuai sebagai *input* dalam tahap *molecular docking* dan *molecular dynamic*. Untuk mendapatkan data PDB, dibutuhkan kode PDB dari enzim tersebut. Struktur kristal enzim NS3-NS2B protease virus *dengue* pada data PDB memiliki kode 2FOM (Wichapong, *et al.*, 2009). Sehingga pengambilan data PDB struktur tiga dimensi enzim NS3-NS2B protease virus *dengue* dilakukan dengan memasukkan kode 2FOM pada kolom *PDB ID or keyword* di tampilan awal *website*. Hasilnya didapatkan struktur tiga dimensi kristal enzim NS3 protease yang berasosiasi dengan kofaktor NS2B. Data PDB dari 2FOM menyebutkan bahwa struktur tiga dimensi kristal enzim ini ditentukan dengan metode *X-ray crystallography* dan dipublikasikan pada tahun 2006 oleh Erbel, *et al.* Enzim yang dikristalkan berasal dari virus *dengue* dengan *serotype* DEN2.

## 4.2 Visualisasi Sisi Aktif dan *Binding Site* Enzim NS3-NS2B Protease

### 4.2.1 Sisi Aktif dan Kofaktor Enzim

Struktur tiga dimensi enzim dengan kode 2FOM divisualisasikan dengan *software MOE 2008.10* untuk melihat lokasi sisi aktif dan kofaktornya. Berdasarkan studi terhadap sekuens protease pada virus *dengue*, serin protease dengan sisi aktif yang terdiri dari tiga asam amino fungsional yaitu His51, Asp75, dan Ser135 teridentifikasi dalam 180 residu asam amino dari enzim NS3-NS2B (Qi, *et al.*, 2007). Ketiga residu asam amino ini sama-sama bersifat polar dan hidrofilik (**Lampiran 1**). Hal ini sesuai dengan teori bahwa dalam struktur tersier protein atau enzim, residu asam amino yang bersifat hidrofilik terdapat di bagian permukaan atau eksterior protein (Lehninger, 2005).

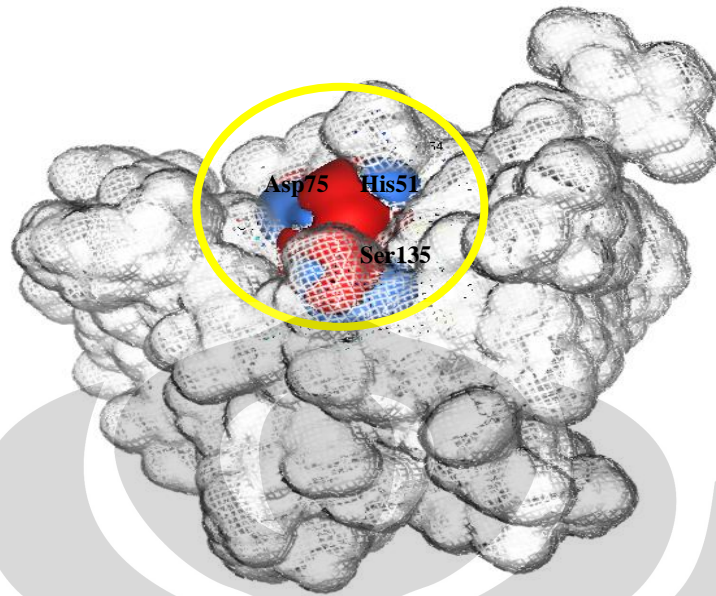
Dari hasil visualisasi terlihat bahwa residu sisi aktif terletak di permukaan enzim dan berada relatif jauh dari kofaktor (**Lampiran 2**). Lokasi kofaktor yang relatif jauh dengan sisi aktif menunjukkan bahwa kofaktor NS2B tidak berperan secara langsung terhadap reaksi katalitik enzim. Tidak seperti yang terjadi pada kofaktor logam, yang umumnya berada pada sisi aktif enzim dan ikut serta membentuk ikatan dengan substrat. Walaupun lokasi kofaktor NS2B relatif jauh dengan sisi aktif, namun peranan kofaktor NS2B terhadap aktifitas katalitik enzim dapat dijelaskan oleh J. Lescar, *et al.*, 2009 dan Erbel, *et al.*, 2006. Asam amino

Arg78-Leu87 dari kofaktor NS2B mempengaruhi formasi dari sisi aktif dengan melibatkan  $\beta$ -*hairpin* yang masuk ke dalam ujung C-terminal  $\beta$ -*barrel* sehingga residu sisi aktif lebih memusatkan pada pengenalan substrat (J. Lescar, *et al.*, 2009). Selain itu, posisi ujung N-terminal dari kofaktor NS2B membentuk  $\beta$ -*strand* yang masuk ke dalam ujung N-terminal  $\beta$ -*barrel* dari protease yang dapat melindungi residu hidrofobik dari pelarut dan memberikan kestabilan terhadap enzim protease (J. Lescar, *et al.*, 2009; Erbel, *et al.*, 2006).

#### 4.2.2 *Binding Site* Enzim

Visualisasi permukaan enzim dilakukan dengan menggunakan *software MOE 2008.10* untuk melihat bentuk *binding site* sisi aktif enzim. Warna permukaan sisi aktif pada gambar menunjukkan kecenderungan potensial elektrostatik dari residu asam amino enzim.

Pada **Gambar 11** menunjukkan daerah sisi aktif yang memiliki *binding site* yang spesifik, warna merah menunjukkan muatan negatif sedangkan biru menunjukkan muatan positif. Hasil visualisasi tiga dimensi ini menunjukkan bahwa *binding site* di sekitar Asp75 dan Ser135 bermuatan negatif yang ditunjukkan dengan warna merah, sehingga lebih menyukai residu substrat yang memiliki gugus positif.



**Gambar 11.** Visualisasi permukaan enzim NS3 protease berdasarkan spektrum potensial elektrostatisnya

Selain itu di sekitar daerah dekat residu Asp75 dan Ser135 memiliki bentuk *binding pocket* yang cekung ke dalam, sempit dan bermuatan negatif ditunjukkan dengan warna merah. Sehingga berdasarkan bentuk *binding pocket* dan jenis muatan yang dimiliki di daerah *binding site*, dapat diindikasikan bahwa dibutuhkan substrat yang memiliki rantai cukup panjang dan bermuatan positif seperti arginin dan lisin (**Lampiran 3**).

Hal tersebut sesuai dengan sisi pemotongan sekuens asam amino substrat oleh NS3-NS2B protease serotype DEN2 yang dapat dilihat pada **Tabel 2**.

**Tabel 2.** Sisi pemotongan sekuens asam amino substrat oleh NS3-NS2B protease

DEN2	Protein C	NS2A/NS2B	NS2B/NS3	NS3/NS4A	NS4B/NS5
Urutan	97-104	1342-1349	1472-1479	2090-2097	2488-2495
Sekuens	RRRR SAGV	SKKR SWPL	KKQR AGVL	AGRK SLTL	NTRR GTGN

Sumber : Melino, *et al.*, 2007

Sisi pemotongan ditandai oleh simbol | dan residu P1 substrat ditandai dengan huruf tebal. Dari tabel di atas terlihat bahwa P1 substrat merupakan asam amino dengan gugus positif yaitu arginin (R) dan lisin (K). Selain itu beberapa studi tentang substrat khusus untuk virus dengue NS3 protease juga telah menjelaskan bahwa enzim ini mengenali pasangan residu baik itu lisin atau arginin pada posisi P2 dan P1 (Chanprapaph, *et al.*, 2005).

#### 4.3 Penentuan Sekuens Asam Amino Peptida sebagai Inhibitor

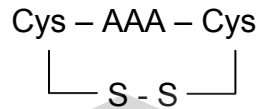
Penentuan sekuens asam amino peptida didasarkan pada sekuens asam amino substrat alami enzim NS3-NS2B protease yang dikenali oleh sisi aktifnya. Berdasarkan analisis sisi aktif dan *binding site* dari enzim NS3-NS2B protease didapatkan bahwa residu yang cocok untuk P1 substrat adalah asam amino arginin dan lisin. Beberapa studi tentang substrat khusus untuk virus dengue NS3 protease telah menjelaskan bahwa enzim ini

mengenali asam amino kecil yang tidak bercabang seperti glisin, serin, threonin dan alanin pada posisi P1' (Chanprapaph, *et al.*, 2005). Oleh karena itu sekuens peptida yang akan dirancang merupakan kombinasi dari asam amino arginin, lisin, glisin, serin, threonin dan alanin.

Peptida dengan siklisasi ikatan disulfida memiliki interaksi hidrofobik peptida yang cukup tinggi dan interaksi hidrogen dengan air (pelarut) yang kecil, sehingga mempengaruhi kestabilan dari peptida. Maka dari itu, perancangan peptida dilakukan dengan siklisasi melalui ikatan disulfida dari asam amino sistein karena dengan adanya siklisasi disulfida dapat meningkatkan kestabilan dan total entropi dari peptida.

Peptida yang dibentuk merupakan gabungan dari 5 asam amino membentuk pentapeptida siklis. Inhibitor dengan bentuk tripeptida dan dipeptida menunjukkan aktivitas mikromolar yang rendah (Yin, *et al.*, 2005), sehingga tidak dirancang peptida dengan bentuk tripeptida maupun dipeptida. Selain itu, tetrapeptida linear baik digunakan sebagai inhibitor, namun tidak bila dalam keadaan siklis karena faktor sterik sehingga tidak stabil, bahkan dapat dimungkinkan terjadinya kristalisasi pada saat sintesis (Binghe, *et al.*, 2005). Heksapeptida juga tidak dimungkinkan untuk dirancang karena berdasarkan syarat ketentuan perancangan obat, bahwa berat molekul dari suatu obat berkisar antara 500-600, maka heksapeptida yang memiliki berat molekul lebih dari 700 menjadi tidak mungkin untuk dirancang.

Berdasarkan keterangan di atas, maka didapat rancangan sekuens pentapeptida siklis yang terdiri dari dua sistein dan tiga asam amino lain dengan bentuk sebagai berikut:



Dengan tiga urutan asam amino lain dikombinasikan antara arginin, lisin, glisin, serin, threonin dan alanin. Didapatkan 49 bentuk kombinasi yakni : RKR, KKR, RKK, KRG, KGR, GKR, RRG, RKG, RGK, GRK, KKG, KGK, GKK, KRS, KSR, SKR, KSK, KRA, KAR, AKR, RRA, RAR, ARR, RKA, RAK, ARK, KKA, KAK, AKK, RKS, RSK, SRK, KKS, RRS, RSR, SRR, KRT, KTR, TKR, RRT, RRR, KKK, RKT, RTK, TRK, KKT, KTK, TKK, SKK. Huruf-huruf pada sekuens tersebut mewakili residu asam amino dengan ketentuan R untuk arginin, K untuk lisin, A untuk alanin, S untuk serin, G untuk glisin, dan T untuk threonin. **(Lampiran 4)**.

Dalam penelitian ini digunakan ligan terbaik hasil rancangan Samira, 2009 yakni ligan C-KRK-C sebagai pembanding dan peptida linear dengan sekuens asam amino Bz-Nle-K-R-R-H sebagai standar (Zheng Yin, 2005). Peptida pembanding dan standar ini akan mendapatkan perlakuan yang sama seperti pada peptida siklis. Bentuk peptida pembanding dapat dilihat pada **Lampiran 5** dan struktur dua dimensi peptida standar dapat dilihat pada **Lampiran 6**.



#### 4.4 Perancangan Struktur Tiga Dimensi Peptida Siklis Sebagai Ligan

Perancangan struktur tiga dimensi peptida siklis dilakukan dengan menggunakan *software ACDlabs*. Perancangan ini dilakukan untuk mempersiapkan struktur tiga dimensi peptida siklis sebagai ligan yang akan digunakan dalam *molecular docking*. Peptida dimodelkan dalam bentuk *zwitter ion* yang dilakukan tidak hanya terhadap N dan C terminal tetapi juga gugus-gugus pada rantai samping peptida. Hal ini dikarenakan di dalam darah dan jaringan lain dalam tubuh serta pada pH fisiologis (7,4), gugus karboksilat asam amino akan terdeprotonasi membentuk  $R-COO^-$  sedangkan gugus aminonya terprotonasi membentuk  $-NH_3^+$  (Murray, *et al.*, 2003). Selain itu pemodelan *zwitter ion* juga bertujuan agar gugus-gugus peptida dapat berinteraksi dengan residu asam amino dari enzim yang terdeprotonasi atau terprotonasi.

Semua kandidat ligan digambar secara 2 dimensi dengan *software ACDlabs*, kemudian hasil gambar kemudian diubah kedalam bentuk optimasi 3 dimensi pada program *3D viewer* dan disimpan dalam format *MDL Molfile*. Format penyimpanan ligan kemudian dirubah menjadi *MDL Mol* dengan menggunakan *software Vegazz*, hal ini dilakukan karena *software MOE 2008.10* hanya dapat membaca ligan dalam format *MDL Mol*. Setelah itu, semua ligan diimport pada *software MOE 2008.10* dengan memasukkan

semua rancangan ligan ke dalam *MOE database viewer (dv)* dengan format .mdb.

#### 4.5 Preparasi *File Docking*

##### 4.5.1 Optimasi Geometri dan Minimisasi Energi Struktur Tiga Dimensi Enzim NS3-NS2B Protease

Proses optimasi geometri dan minimisasi energi enzim NS3-NS2B protease dilakukan diawali dengan menghilangkan molekul air dan ion klorin melalui program *sequence editor* dari *MOE*. Molekul yang tersisa merupakan sekuen NS3 enzim protease dan kofaktor NSS2B. Lalu selanjutnya dilakukan protonasi dengan *protonate3D*, hal ini dilakukan untuk mengubah enzim menjadi keadaan terprotonasi. Aplikasi dari *protonate 3D* ini digunakan untuk mengubah keadaan enzim menjadi dalam tingkat ionisasi dan menampilkan posisi atom hidrogen pada struktur kristal. Keberadaan atom hidrogen ini diperlukan dalam proses *molecular mechanics, dynamics*, ataupun perhitungan interaksi elektrostatis.

Kemudian selanjutnya dilakukan optimasi enzim dengan *hydrogen fix* dan menambahkan muatan parsial (*partial charges*) pada enzim yang telah terprotonasi, dengan parameter *method* yang digunakan adalah *current forcefield*. *Hydrogen fix* perlu dilakukan untuk memperbaiki bila adanya hidrogen yang hilang, sedangkan tujuan menambahkan muatan parsial untuk

meyakinkan bahwa muatan enzim terprotonasi ini tepat dengan keadaan alaminya sehingga proses *docking* akan berjalan sesuai dengan keadaan alami (nyata). Selanjutnya dilakukan minimisasi energi dengan *forcefield* MMFF94x, jenis solvasi yang digunakan adalah *gas phase* karena pada saat *docking* perlu dihilangkan energi solvasinya, dan RMS gradient 0,05 kcal/Å. Penggunaan MMFF94X sebagai *force field* dinilai lebih baik dibandingkan *force field* yang lain. Hal ini dikarenakan kepekaannya terhadap optimasi geometri protein (enzim) dengan inhibitor cukup tinggi. *Force field* MMFF94X juga dapat menempatkan atom hidrogen pada posisi yang paling tepat sehingga sangat berguna juga untuk validasi posisi atom hidrogen dalam keadaan solvasi oleh molekul air (Panigrahi dan Desiraju, 2007).

Parameter yang lainnya menggunakan *default* dan *file output* dalam format .moe. Hasil optimasi geometri dan minimisasi energi struktur tiga dimensi dari enzim NS3-NS2B protease dapat dilihat pada **Lampiran 8**.

#### **4.5.2 Optimasi Geometri dan Minimisasi Energi Struktur Tiga Dimensi Peptida Siklis**

Optimasi peptida siklis dilakukan pada *MOE database viewer (dv)*. Proses optimasi diawali dengan melakukan *wash* untuk seluruh peptida siklis (yang selanjutnya disebut ligan). Proses *wash* dilakukan dengan tujuan memperbaiki struktur ligan dan memperbaiki posisi atom hidrogen pada ligan. Kemudian dilakukan *partial charge*, dengan parameter *method* yang

digunakan adalah MMFF94 yang dapat digunakan dalam validasi posisi dari atom hidrogen pada ligan. Proses minimisasi energi kemudian dilakukan dengan RMS gradient 0,001 kcal/Å.

Tahapan selanjutnya dari preparasi ligan adalah penggunaan *Protein-Ligand Interaction Fingerprint* (PLIF). PLIF merupakan *tool* MOE yang dapat menunjukkan interaksi ikatan antara protein dan ligan disertai dengan *fingerprint*. Skema *fingerprint* yang dihasilkan menampilkan 6 tipe interaksi. Ikatan hidrogen, interaksi ionik, dan kontak permukaan ditinjau berdasarkan sifat asli tiap residu (*backbone* dan rantai samping). Penggunaan PLIF menjadi sangat efektif apabila kita mempunyai data dalam jumlah yang cukup besar/banyak. Pemilihan ligan inhibitor terbaik nantinya juga akan dinilai dari modul PLIF tersebut. Akan tetapi, interaksi *phi-phi* tidak akan terhitung dalam PLIF (Vasanthanathan, *et al.*, 2009).

Parameter yang lainnya menggunakan *default* dan *file output* dalam format .mdb. Hasil optimasi geometri dan minimisasi energi struktur tiga dimensi dari ligan kandidat, perbandingan dan standar dapat dilihat pada **Lampiran 7**.

Dengan dilakukannya proses optimasi dan minimisasi pada enzim dan ligan ini diharapkan dapat menghilangkan *bad contact* dari struktur, yaitu interaksi yang bersifat tidak rasional yang muncul pada sistem molekular dengan mengacu pada keadaan riil suatu sistem tertentu sehingga akan didapatkan geometri struktur yang sesuai atau mendekati keadaan yang sebenarnya di alam.

#### 4.6 Docking

Proses *docking* dilakukan dengan *software MOE 2008.10* program *MOE-dock*. Proses *docking* ini dilakukan antara 49 kandidat ligan, 7 ligan pembanding dan 1 ligan standar terhadap enzim NS3-NS2B protease. Database ligan diatur untuk berinteraksi dengan residu sisi aktif enzim yang dipilih, yaitu His51, Asp 75 dan Ser135, yang diatur pada *sequence editor*. Pada *molecular docking*, enzim dibuat *rigid* dan ligan dibiarkan bebas bergerak (berotasi) karena jika keduanya dibuat fleksibel, proses *docking* dapat memakan waktu yang lama untuk satu perhitungan. *Placement method* yang digunakan adalah *triangle matcher* yang merupakan *default* dari program *MOE-dock* dengan banyaknya jumlah putaran 2.500.000. *Triangle Matcher* digunakan untuk mengorientasikan ligan dalam sisi aktif berdasarkan *charge group* dan *spatial fit*. *Triangle Matcher* menunjukkan gerakan acak (*random*) ligan dalam sisi aktif enzim untuk menghasilkan orientasi ikatan yang optimal (Cook, *et al.*, 2009).

Fungsi *scoring* yang digunakan adalah London dG dengan *retain* (tampilan) sebesar 100, tanpa duplikasi. London dG menunjukkan besarnya energi bebas Gibbs ikatan ( $\Delta G_{\text{binding}}$ ) dari tiap posisi antara ligan dengan enzim yang dihasilkan dengan persamaan:

$$\Delta G = c + E_{flex} + \sum_{h-bonds} c_{HB} f_{HB} + \sum_{m-lig} c_M f_M + \sum_{atoms\ i} \Delta D_i$$

dimana  $c$  = rata-rata entropy rotasi dan translasi yang didapat atau dilepaskan,  $E_{flex}$  = energi yang menyatakan berkurangnya fleksibilitas dari ligan,  $f_{HB}$  = ukuran ketidaksempurnaan geometri dari ikatan hidrogen,  $c_{HB}$  = energi dari ikatan hidrogen ideal,  $f_M$  = ukuran ketidaksempurnaan geometri dari *metal ligations*,  $c_M$  = energi dari *ideal metal ligation*; dan  $D_i$  = energi desolvasi atom ke- $i$  (MOE tutorial, 2008).

Selanjutnya hasil pose ligan setelah tahap penempatan dapat diperbaiki lebih lanjut pada tahap *refinement* (perbaikan). *Refinement* yang digunakan adalah *forcefield* dengan konfigurasi sesuai *default*. Konfigurasi *refinement* diatur dengan ukuran pengulangan populasi sebanyak 1.000. Pengaturan *default* dari *refinement force field* menggunakan *pocket cut off* 6Å, yaitu jarak reseptor yang diikutsertakan pada proses *docking*. *Retain* terakhir diatur hanya menampilkan satu konformasi yang paling sesuai dan yang terbaik. *Refinement* menggunakan *forcefield* memberikan hasil yang lebih akurat bila dibandingkan dengan *gridmin*. Hal ini karena *forcefield* menggunakan model *Generalized Born solvation* (GB/VI) pada tahap evaluasi energi akhir sedangkan *gridmin* menggunakan kalkulasi elektrostatik pada proses minimisasi.

Parameter lainnya sesuai dengan *default* dari MOE dan *file output* hasil *docking* dalam format .mdb. Simulasi *docking* ini dilakukan dengan menggunakan komputer yang menggunakan sistem operasi *Microsoft Windows XP*. Penggunaan algoritma  $\alpha$ -sphere pada *molecular docking* kali

ini dikarenakan *output* dari algoritma ini lebih baik dan cukup akurat untuk dibandingkan dengan keadaan yang ada di alam.

## 4.7 Analisis Docking

### 4.7.1 Nilai Energi Bebas Ikatan ( $\Delta G_{\text{binding}}$ )

Nilai energi bebas ikatan ( $\Delta G_{\text{binding}}$ ) terkuantifikasi oleh konstanta aktivitas biologis  $K_A$  dengan asumsi dalam kondisi termodinamika yang setimbang untuk formasi kompleks protein-ligan [EI] (Kitchen, *et al.*, 2004). Hubungan antara nilai energi ikatan ( $\Delta G^\circ$ ) dengan  $K_A$  dan [EI] adalah berbanding lurus dan nilainya mengikuti persamaan termodinamik yang dirumuskan sebagai:

$$\Delta G = -RT \ln K_A \qquad K_A = K_i^{-1} = \frac{[EI]}{[E][I]}$$

Harga S ( $\Delta G_{\text{binding}}$ ) menunjukkan total *score* akhir dari tahapan *docking*. Dalam *database viewer* MOE, terlihat bahwa nilai S sama dengan  $E_{\text{refine}}$ .  $E_{\text{refine}}$  ini merupakan total dari perhitungan energi yang lainnya dengan persamaan:

$$E(x) = E_{\text{str}} + E_{\text{ang}} + E_{\text{stb}} + E_{\text{oop}} + E_{\text{tor}} + E_{\text{vdw}} + E_{\text{ele}} + E_{\text{sol}} + E_{\text{res}}$$

dimana  $E_{str}$  = energi *stretching*,  $E_{ang}$  = energi *angular*,  $E_{stb}$  = energi *stretching* dan *bending*,  $E_{oop}$  = energi operasi,  $E_{tor}$  = energi bebas torsional,  $E_{vdw}$  = energi intermolecular vdw,  $E_{ele}$  = energi elektrostatis,  $E_{sol}$  = energi solvasi pelarut, dan  $E_{res}$  = energi tiap residu yang bergerak.

Dari hasil *docking* pertama kali didapatkan data pada **Lampiran 9** untuk semua ligan kandidat. Lalu kemudian diambil 10 ligan terbaik berdasarkan nilai  $\Delta G_{binding}$  terkecil, yang kembali di *docking* dan didapatkan data dari hasil *docking* pada **Tabel 3**.

**Tabel 3.** Data energi hasil docking

Ligan	$\Delta G_{binding}$ (Kkal/mol)
Standar	-20, 4984
KRK	-20, 6022
RKR	-22, 6955
ARR	-21, 3025
KRS	-19, 1319
SRR	-18, 3314
RKS	-18, 2412
RKA	-18, 0338
KTR	-17, 4445
RAR	-16, 779
TRK	-15, 8307



Data  $\Delta G_{\text{binding}}$  yang negatif dan relatif kecil menandakan bahwa konformasi ligan yang terbentuk pada kompleks enzim-ligan berada pada konformasi yang paling stabil (*favourable*). Data yang didapat menunjukkan ada dua ligan kandidat yakni RKR dan ARR yang memiliki energi bebas binding ( $\Delta G_{\text{binding}}$ ) relatif lebih kecil dibandingkan dengan ligan standar dan ligan pembanding KRK. Ligan RKR memiliki nilai  $\Delta G_{\text{binding}}$  -22, 6955 kkal/mol dan ligan ARR memiliki nilai  $\Delta G_{\text{binding}}$  -21, 3025 kkal/mol sedangkan ligan standar sebesar -20, 4984 kkal/mol dan ligan pembanding KRK sebesar -20, 6022 kkal/mol.

Berdasarkan fungsi termodinamik yang telah dijelaskan di atas bahwa hubungan antara  $\Delta G_{\text{binding}}$  dengan konstanta aktivitas  $K_A$  dan  $[EI]$  adalah berbanding lurus, namun karena adanya faktor ( $-RT$ ) menunjukkan bahwa dengan semakin kecilnya nilai  $\Delta G_{\text{binding}}$  maka nilai  $K_A$  dan  $[EI]$  menjadi semakin besar. Hal ini menunjukkan bahwa dengan semakin kecilnya  $\Delta G_{\text{binding}}$  maka kompleks enzim-inhibitor yang terbentuk semakin baik, sehingga dalam hal ini ligan kandidat RKR dan ARR merupakan ligan yang dapat membentuk konformasi kompleks enzim-inhibitor terbaik dibandingkan dengan standar dan KRK. Hal ini karena kestabilan dan kekuatan interaksi nonkovalen pada kompleks enzim-ligan dapat dilihat dari besarnya energi bebas yang dilepaskan saat interaksi pada kompleks enzim-ligan terbentuk (Gohlke, *et al.*, 2000).

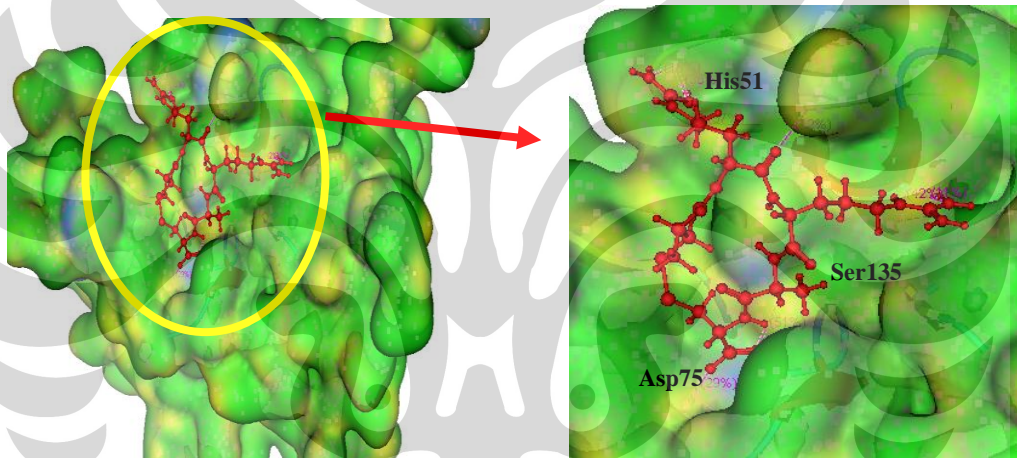
#### 4.7.2 Ikatan Hidrogen

Ikatan hidrogen didefinisikan sebagai gaya intermolekul/intramolekul yang terjadi antara atom yang memiliki keelektronegatifan tinggi dengan atom hidrogen yang terikat secara kovalen pada suatu atom elektronegatif (Nurbaiti, 2009). Ikatan hidrogen yang terjadi pada kompleks enzim-ligan terbaik hasil *docking* diidentifikasi dan dianalisis dalam program *ligand interaction* dengan menggunakan *software MOE 2008.10*. Dari data hasil identifikasi dan analisis pada ligan kandidat, ligan standar dan ligan pembanding didapatkan data ikatan hidrogen pada **Tabel 4**.

**Tabel 4.** Data ikatan hidrogen ligan dengan residu asam amino enzim NS3-NS2B protease

Residu	Ligan Standar	Ligan KRK	Ligan RKR	Ligan ARR
Gln35		√		
Ile36		√		
<b>His51</b>	√	√	√	
Val52	√			√
Arg54	√	√	√	√
Val72				√
<b>Asp75</b>			√	√
Glu92		√		
<b>Ser135</b>	√			√
Tyr150				√

Dari data di atas dapat dilihat bahwa ligan KRK dan ARR membentuk lebih banyak ikatan hidrogen dengan residu asam amino dibandingkan dengan ligan standar dan ligan RKR. Namun hanya ligan KRK yang memiliki sedikit ikatan hidrogen pada sisi aktif enzim, yakni hanya pada His51. Pada ligan RKR ikatan hidrogen terjadi pada sisi aktif His51 dan Asp75, pada ligan ARR ikatan hidrogen terjadi pada sisi aktif Asp75 dan Ser135, dan pada ligan standar ikatan hidrogen terjadi pada sisi aktif His51 dan Ser135.



**Gambar 12.** Ikatan hidrogen yang terjadi antara ligan RKR dengan enzim

Ikatan hidrogen ini memberikan kontribusi terhadap afinitas ligan terhadap enzim karena terjadinya interaksi elektrostatik antara atom oksigen atau nitrogen ligan dengan atom hidrogen residu asam amino enzim atau sebaliknya. Pada **Gambar 12**, ligan RKR ditunjukkan dengan *stick* berwarna merah dan ikatan hidrogen yang terbentuk ditunjukkan dengan garis putus-putus berwarna ungu. Pada ligan RKR membentuk ikatan

hidrogen dengan residu sisi aktif enzim His51 dan Asp75, bentuk konformasinya menutupi daerah *binding site* enzim, yang dapat dilihat pada **Gambar 12** diatas. Dari hasil analisis ikatan hidrogen ini, ligan RKR diajukan sebagai inhibitor kompetitif potensial karena dapat berikatan dengan *binding site* enzim dan mengganggu aktivitas sisi aktif enzim NS3-NS2B protease.

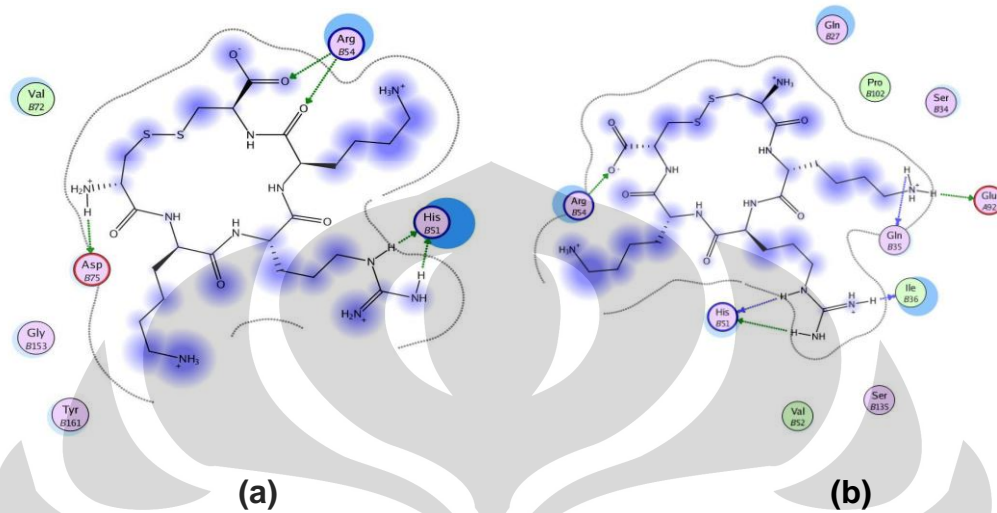
#### 4.7.3 Kontak Residu

Interaksi nonkovalen yang terjadi antara enzim dan ligan dapat meningkatkan afinitas ligan terhadap enzim. Maka dari itu, perlu dilakukan analisis terhadap kontak residu kompleks enzim-ligan hasil *docking*. Sehingga dapat diketahui residu-residu enzim yang berinteraksi dengan ligan selain sisi aktif dari enzim.

Kontak residu kompleks enzim-ligan hasil *docking* diidentifikasi dan kemudian dilakukan visualisasi dengan menggunakan *software MOE 2008.10* dan program *ligand interaction*. Format *file input* yang digunakan adalah *.moe*.

Dari hasil program *ligand interaction* didapatkan data-data interaksi ligan dengan residu asam amino dari enzim NS3-NS2B protease yang dapat dilihat pada **Lampiran 10**. Pada data interaksi ligan ditunjukkan residu asam amino yang berinteraksi dengan ligan beserta jarak diantara residu dengan ligan. Selain dari hasil data, kita juga dapat melihat interaksinya

secara 2 dimensi pada **Lampiran 11**. Interaksi ligan RKR dan KRK dapat dilihat melalui **Gambar 13**.



**Gambar 13.** (a). Interaksi Ligan RKR; (b). Interaksi Ligan KRK

Dari **Gambar 13** dapat dilihat adanya interaksi antara ligan dengan enzim selain dengan sisi aktif enzim. Pada gambar (a), yakni interaksi ligan RKR, dapat dilihat adanya interaksi dengan 6 residu asam amino. Sedangkan pada gambar (b), interaksi ligan KRK terjadi dengan 10 residu asam amino. Untuk lebih jelas mengenai banyaknya residu asam amino pada enzim yang mengalami interaksi dengan ligan standar, KRK, RKR dan ARR dapat dilihat dari **Tabel 5** berikut.

**Tabel 5.** Residu asam amino enzim NS3-NS2B protease yang berinteraksi dengan ligan standar, KRK, RKR dan ARR

Residu	Ligan Standar	Ligan KRK	Ligan RKR	Ligan ARR
Gln27	✓	✓		

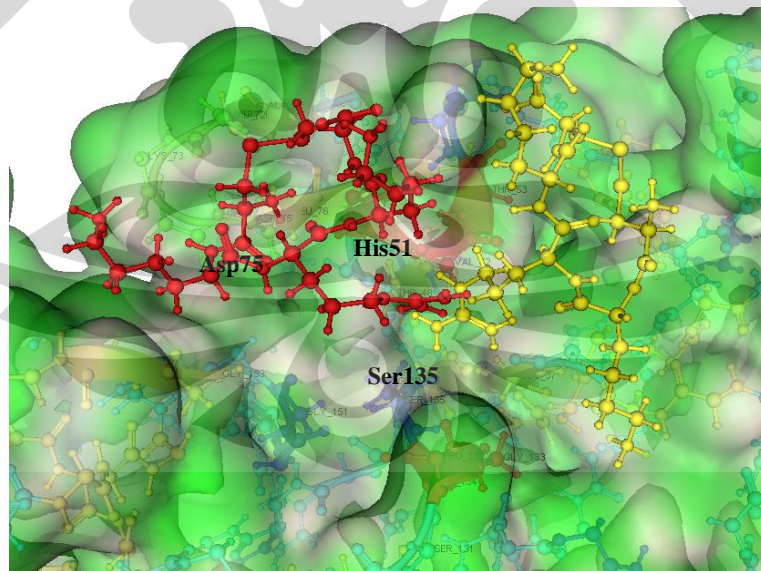
Lanjutan Tabel 5

Ser34		✓		
Gln35		✓		
Ile36	✓	✓		✓
<b>His51</b>	✓	✓	✓	✓
Val52	✓	✓		✓
Arg54	✓	✓	✓	✓
Val72			✓	✓
<b>Asp75</b>	✓		✓	✓
Glu92		✓		
Pro102		✓		
Pro132	✓			✓
<b>Ser135</b>	✓	✓		✓
Tyr150				✓
Gly151				✓
Asn152	✓			
Gly153			✓	✓
Tyr161			✓	
Total Residu	9	10	6	11

Dari data dapat diketahui bahwa ligan RKR dan ARR berinteraksi dengan residu Tyr enzim, baik itu Tyr161 maupun Tyr150 dan hal ini tidak terjadi pada ligan standar dan KRK. Elektron  $\pi$  pada gugus aromatik Tyr150 dan

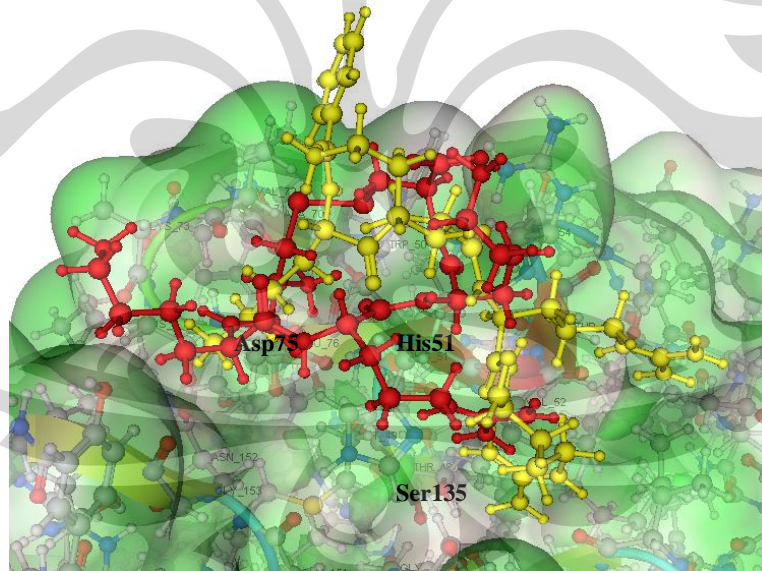
Tyr161 dapat berinteraksi dengan dengan rantai samping residu arginin ligan RKR dan ARR yang memiliki ikatan  $\pi$  terkonjugasi sehingga terbentuk interaksi  $\pi$ - $\pi$ .

Selain itu, dilakukan pula analisis *superimpose* interaksi ligan RKR dan ARR dengan ligan standar dan ligan pembanding KRK yang dapat dilihat pada **Lampiran 12**. Hasil analisis *superimpose* didapatkan bahwa pada ligan RKR memiliki konformasi yang lebih baik daripada ligan pembanding KRK. Hal ini karena ligan RKR (warna merah) memiliki interaksi dengan residu sisi aktif enzim yakni His51 dan Asp75, selain itu konformasi ligan RKR lebih dekat dengan sisi aktif dibandingkan konformasi ligan KRK (warna kuning) yang agak jauh dari sisi aktif enzim. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada **Gambar 14**.



**Gambar 14.** Hasil *superimpose* antara ligan RKR (warna merah) dengan ligan KRK (warna kuning)

Dari hasil analisis *superimpose* antara ligan RKR dengan ligan standar (**Gambar 15**) juga didapatkan bentuk konformasi yang lebih baik pada ligan RKR. Hal ini karena bentuk konformasi ligan RKR (warna merah) yang lebih dekat dengan sisi aktif dari enzim dibandingkan dengan ligan standar (warna kuning). Selain itu ligan RKR memiliki interaksi ikatan dengan residu sisi aktif enzim pada His51 dan Asp75 dengan jarak yang lebih dekat, sedangkan ligan standar walaupun juga memiliki interaksi ikatan dengan residu sisi aktif enzim pada His51 dan Ser 135 tetapi memiliki jarak interaksi yang lebih jauh. Jarak interaksi dapat dilihat lebih jelas pada **Lampiran 10**.



**Gambar 15.** Hasil *superimpose* antara ligan RKR (warna merah) dengan ligan standar (warna kuning)



#### 4.8 Analisis Drug Scan

Pada tahap analisis *drug scan*, dilakukan analisis terhadap ligan terbaik sesuai aturan rancangan *drug* yang baik menurut *Lipinsky's Rule of Five*. Beberapa ketentuan rancangan *drug* yang baik antara lain :

- memiliki berat molekul sekitar 500 g/mol
- memiliki nilai  $\log P < 5$
- memiliki donor H  $< 5$
- memiliki *acceptor* H  $< 10$

Nilai  $\log P$  merupakan koefisien partisi yang dirumuskan sebagai rasio konsentrasi suatu molekul dalam oktanol dan air. Analisis *drug scan* dilakukan terhadap 10 ligan terbaik hasil analisis *docking* ligan yang memiliki  $\Delta G_{\text{binding}}$  rendah.

**Tabel 6.** Nilai LogP, berat molekul, donor H, dan *acceptor* H peptida siklis

Ligan	Mr (g/mol)	LogP	Donor H	Acceptor H
Standar	662, 86	-5, 07	4	1
KRK	637, 85	-8, 05	5	2
RKR	637, 85	-8, 05	4	2
ARR	607, 76	-9, 41	5	3
KRS	595, 75	-8, 47	4	3
SRR	623, 76	-10, 44	4	0
RKS	595, 74	-8, 47	6	2

Lanjutan **Tabel 6**

RKA	579, 75	-7, 44	6	1
KTR	609, 78	-8, 08	4	1
RAR	607, 76	-9, 41	7	2
TRK	609, 77	-8, 08	4	1

Nilai log P ini berhubungan dengan hidrofobitas molekul *drug*. Semakin besar nilai log P, semakin hidrofobik molekul tersebut. Dari **Tabel 6** terlihat bahwa rancangan peptida siklis memiliki nilai log P yang negatif yang menandakan bahwa peptida tersebut bersifat cukup hidrofilik sehingga sesuai dengan *binding site* enzim yang juga bersifat hidrofilik. Dalam transportasinya di dalam tubuh, peptida siklis sebagai molekul *drug* ini tidak boleh terlalu hidrofobik karena dapat tertahan di lapisan *lipid bilayer* tersebut. Molekul *drug* yang terlalu hidrofobik cenderung memiliki toksisitas yang lebih besar karena akan tertahan lebih lama dan terdistribusi lebih luas di dalam tubuh sehingga selektifitas ikatan terhadap enzim target menjadi berkurang. Nilai log P yang terlalu negatif juga tidak disarankan karena jika peptida terlalu hidrofilik maka tidak dapat melewati lapisan *lipid bilayer*.

Berdasarkan hasil analisis dari ikatan hidrogen dan  $\Delta G_{\text{binding}}$  didapatkan 2 ligan kandidat terbaik yakni RKR dan ARR bila dibandingkan dengan KRK dan ligan standar. Kemudian dari hasil analisis *drug scan* didapatkan data bahwa diantara dua ligan terbaik tersebut hanya ligan RKR yang masuk dalam kriteria aturan obat yang baik menurut Lipinsky. Hal ini

karena selain ligan RKR memiliki analisis docking yang terbaik yakni  $\Delta G_{\text{binding}}$  rendah dan memiliki konformasi yang baik dengan enzim, ligan RKR juga memenuhi kriteria sebagai obat yakni memiliki nilai  $\text{LogP} -8,05 < 5$ , donor H sebanyak  $4 < 5$  dan acceptor H sebanyak  $2 < 10$ . Kemudian hanya ligan RKR inilah yang dilakukan analisis *molecular dynamic*.

#### 4.9 *Molecular Dynamic*

Proses *molecular dynamic* terhadap ligan RKR, KRK dan ligan standar dilakukan dengan *software MOE 2008.10* program *MOE-dynamic*. Sebelumnya kompleks enzim-ligan yang akan digunakan dilakukan optimasi *partial charges* dan minimisasi terlebih dulu dengan *Force field MMFF94x*. Berbeda dengan simulasi *docking* yang menggunakan solvasi *gas phase*, simulasi *dynamics* menggunakan solvasi *born*. Solvasi *born* dimaksudkan bahwa dalam melakukan simulasi *dynamic* digunakan pelarut sehingga dalam perhitungannya mengikutsertakan Esol pada sistem.

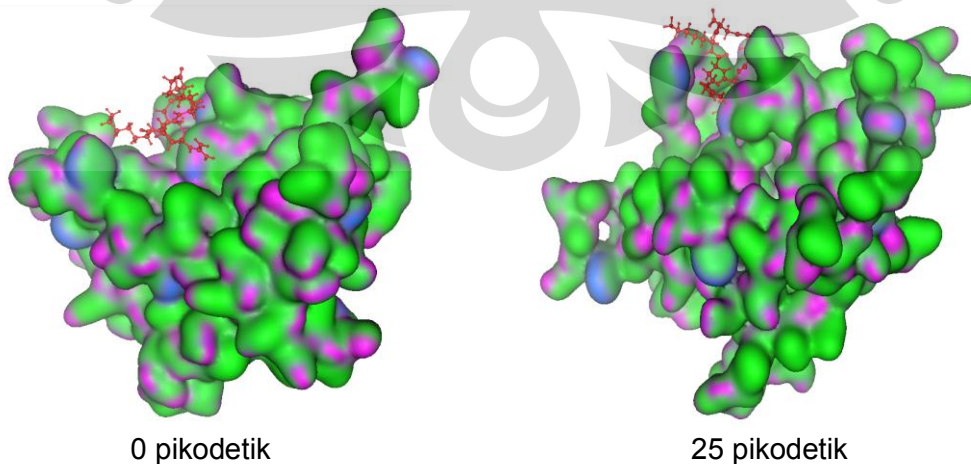
Parameter yang digunakan sesuai dengan *default* pada *MOE-dynamic* yaitu *ensemble* NVT (N: jumlah atom; V: volume; T: temperatur) dengan algoritma NPA. Algoritma NPA (*Nosé-Poincaré-Anderson*) yang digunakan, merupakan algoritma yang paling akurat dan paling sensitif serta dapat mengatur *ensemble* secara benar. Hasil *position*, *velocity* dan *acceleration* disimpan setiap 0,5 piko detik.

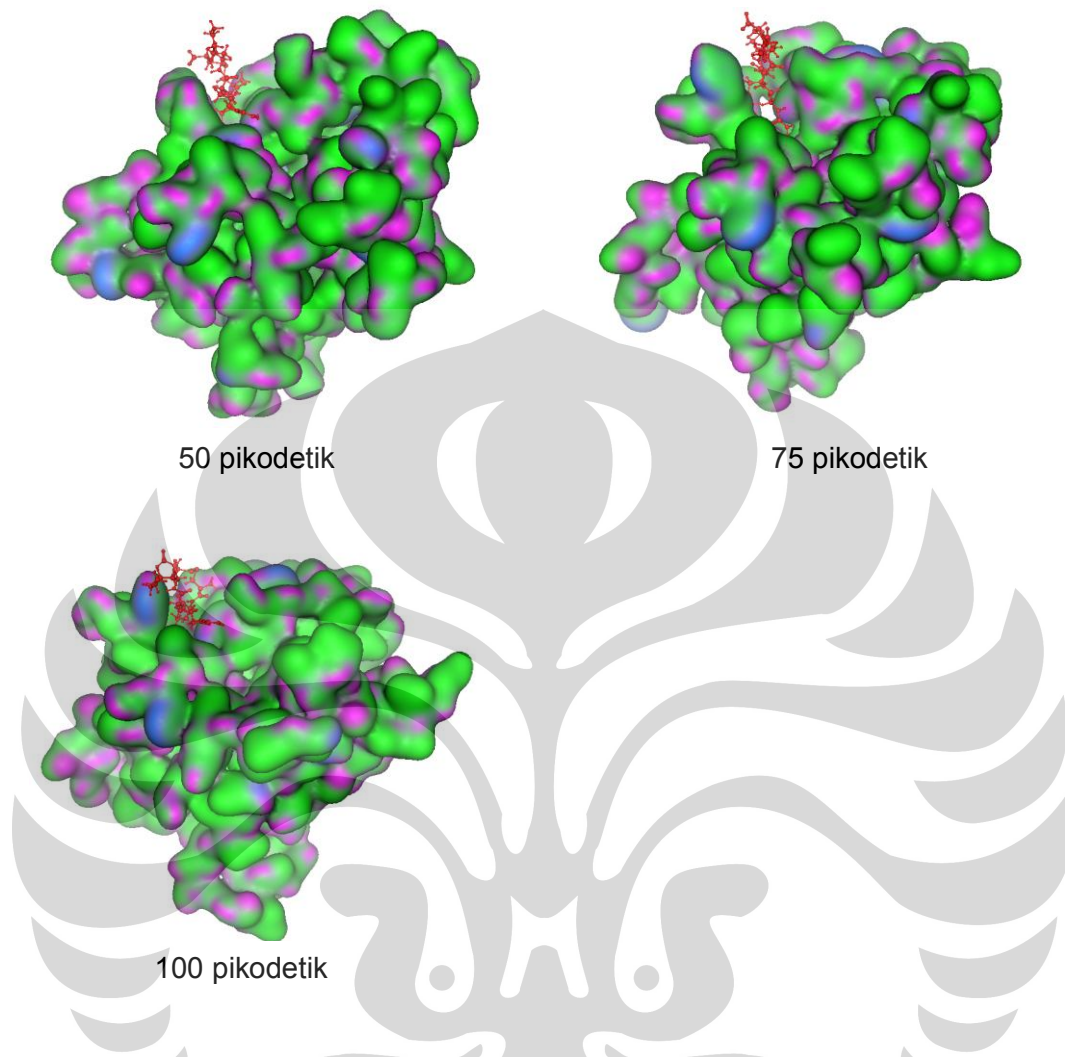
Hasil simulasi *dynamics* didapatkan hasil pergerakan kompleks enzim-ligan dari 0 piko detik sampai 100 piko detik, pada suhu konstan 300K dan tekanan 101 kPa. Analisis simulasi *dynamics* dilakukan dengan melihat interaksi dan pergerakan kompleks enzim-ligan antara atom ligan dengan atom-atom enzim per satuan waktu (0, 25, 50, 75, 100 piko detik).

#### 4.10 Analisis *Molecular Dynamic*

##### 4.10.1 Visualisasi Konformasi Kompleks Enzim-Ligan Hasil *Molecular Dynamic*

Hasil kalkulasi *molecular dynamic* dilihat pada *output database viewer MOE* dalam format *.mdb*. Visualisasi pergeseran konformasi protein-ligan hasil *molecular dynamic* dilakukan dengan memilih konformasi ligan pada tiap jangka waktu (t) 0, 25, 50, 75, dan 100 piko detik. Visualisasi dilakukan pada *software MOE 2008.10* dalam format *.moe*.





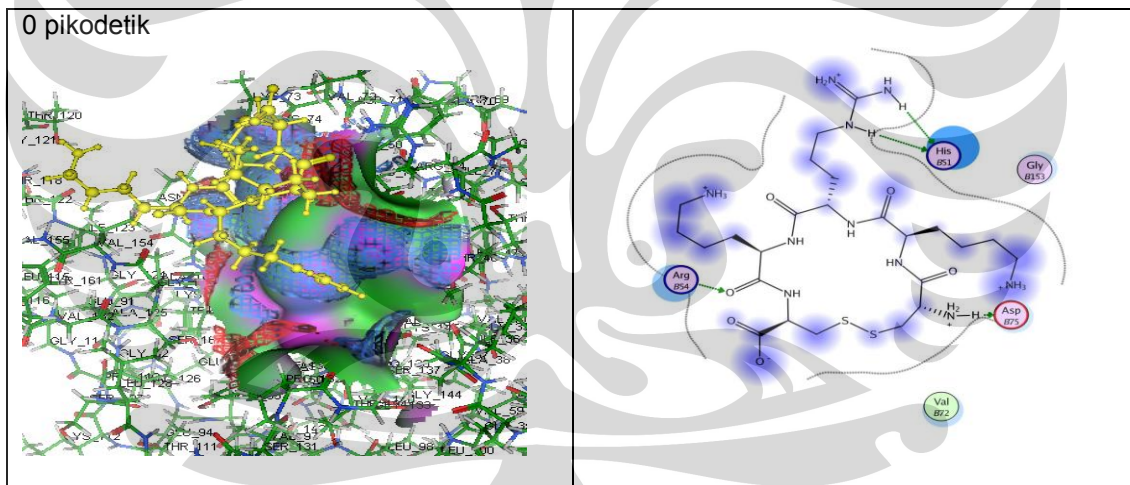
**Gambar 16.** Konformasi pergerakan dinamis kompleks enzim-liganRKR

Simulasi pada temperatur 300 K dan tekanan 101 kPa dilakukan untuk melihat kestabilan model kompleks enzim-ligan selama proses dinamik berlangsung. Dari hasil data dinamik pada **Gambar 16** dapat dilihat hasil perubahan struktur kompleks enzim-ligan KRK dari pergerakan dinamis sistem pada berbagai tahapan waktu dalam hal ini pada waktu 0, 25, 50, 75, dan 100 piko detik.

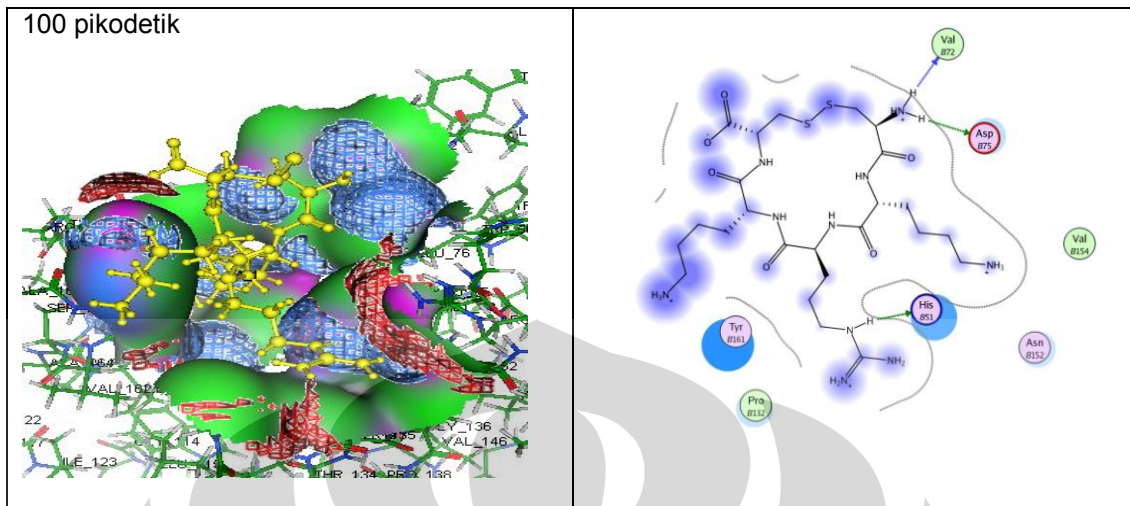
Kestabilan model kompleks enzim-ligan dapat terlihat dengan posisi ligan RKR berupa *ball-stick* merah yang tidak menjauh dari enzim melainkan tetap dekat dengan enzim, terlebih masih berada di daerah sisi aktif dari enzim.

#### 4.10.2 Interaksi Enzim-Ligan

Interaksi kompleks enzim-ligan selama proses *molecular dynamic* perlu dilihat lebih jelas sehingga dapat dilakukan analisis hubungan antara waktu dengan energi total potensial interaksi.







**Gambar 17.** Konformasi intraksi ligan RKR-enzim secara tiga dimensi (kiri) dan dua dimensi (kanan)

Dari hasil gambar konformasi interaksi ligan-enzim di atas dapat dibuktikan bahwa konformasi ligan-enzim stabil selama proses *molecular dynamic*. Posisi ligan per satuan waktu (0, 25, 50, 75, 100 piko detik) yang tetap dekat dengan sisi aktif ditunjukkan dengan adanya interaksi antara ligan dan sisi aktif serta residu asam amino yang lain pada enzim.

Kontak residu yang terjadi selama proses dinamik, berbeda pada setiap waktu pergerakan. Dari data kontak residu yang didapatkan menunjukkan bahwa pada waktu 50 piko detik dan waktu 75 piko detik memberikan interaksi ligan dengan kontak residu terbanyak yakni sebanyak 11 residu asam amino. Hal ini menunjukkan bahwa pada waktu 50 dan 75 piko detik merupakan waktu dinamik dimana konformasi ligan-enzim mencapai keadaan yang terbaik.



## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Kesimpulan

Dari penelitian *in silico* ini didapatkan rancangan 49 buah ligan peptida siklis yang terdiri dari kombinasi sekuens asam amino lysin, arginin, glisin, serin, alanin, threonin, dan sistein. Penentuan sekuens asam amino didasarkan pada sekuens asam amino substrat alami pada sisi pemotongan enzim NS3-NS2B protease dan kesesuaian dengan *binding site* sisi aktif enzim. Siklisasi melalui pembentukan ikatan disulfida pada N dan C terminal peptida dilakukan untuk meningkatkan kestabilan peptida.

Optimasi geometri dan minimasi energi bertujuan untuk menghilangkan *bad contact* pada struktur tiga dimensi enzim dan rancangan ligan peptida siklis. *Molecular docking* bertujuan untuk memprediksikan kekuatan afinitas ligan terhadap enzim. Hasil *molecular docking* menunjukkan bahwa 2 ligan peptida siklis tersebut memiliki  $\Delta G_{\text{binding}}$  rendah dan lebih baik daripada ligan standar Bz-Nle-K-R-R-H dan ligan pembanding KRK dengan hasil terbaik adalah ligan RKR dengan  $\Delta G_{\text{binding}}$  -22, 6955 kkal/mol. Analisis terhadap interaksi kompleks enzim-ligan RKR menunjukkan bahwa terdapat 6 *contact residu* asam amino enzim terhadap ligan RKR, tiga residu yang membentuk ikatan hidrogen dan terdapat kesesuaian konformasi

ligan RKR dengan *binding site* enzim NS3-NS2B protease sehingga ligan peptida siklis RKR dapat bertindak sebagai inhibitor potensial bagi enzim NS3-NS2B protease dengan afinitas yang paling baik.

Analisis *drug scan* memberikan hasil yang terbaik untuk ligan RKR, dimana berdasarkan aturan Lipinsky, ligan RKR masuk kriteria sebagai obat yakni memiliki nilai  $\text{LogP} -8,05 < 5$ , donor H  $4 < 5$  dan acceptor H  $2 < 10$ . Estimasi nilai log P dengan *software MOE 2008.10* dilakukan untuk mengetahui hidrofobisitas ligan peptida siklis. Estimasi nilai log P semua ligan menunjukkan nilai negatif yang berarti bahwa ligan peptida siklis bersifat cukup hidrofilik.

*Molecular dynamic* dilakukan pada ligan terbaik RKR untuk melihat perubahan dari pergerakan konformasi kompleks enzim-ligan. Didapatkan per satuan waktu (0, 25, 50, 75, 100 picosekon) menunjukkan adanya perubahan pergerakan, namun tidak memperlihatkan perpindahan ligan dari sisi aktif enzim.

## 5.2 Saran

Perlu dilakukan studi lebih lanjut tentang simulasi *molecular dynamic* sampai pada proses pemanasan, ekulibrasi dan produksi untuk mempelajari pengaruh afinitas ligan peptida siklis pada *binding site* enzim.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alberts, B., A Jonson, J.Lewis, M. Raff, K.Roberts, P.Walter.2002. *Molecular Biology of the Cell*.ed. ke-4, Garland Science, New York.
- Chanprapaph, Santad, et al. 2005. *Competitive inhibition of the dengue virus NS3 serine protease by synthetic peptides representing polyprotein cleavage sites*. Journal BBRC 330; 1237-1246
- Baxevanis, A.D., Oulette, B. F. F. 2001. *Bioinformatics A Practical Guide to the Analysis of Genes and Protein 2<sup>nd</sup> Edition*. USA : Wiley Interscience
- Brinkworth, R. I.; Fairlie, D. P.; Leung, D.; Young, P. R. 1999. *Homology model of the dengue 2 virus NS3 protease: putative interactions with both substrate and NS2B cofactor*. *J. Gen. Virol.*, 80, 1167–1177.
- Chiu WW, Kinney RM & Dreher TW .2005. *Control of translation by the 5- and 3-terminal regions of the dengue virus genome*. *J Virol* 79, 8303–8315.
- Falgout, B.; Pethel, M.; Zhang, Y. M.; Lai, C. J. 1991. *Both nonstructural proteins NS2B and NS3 are required for the proteolytic processing of dengue virus nonstructural proteins*. *Journal of Virology* 65; 2467-2475.
- Henchal, Erik A., J. Robert Putnak. 1990. The Dengue Virus. *Clinical Microbiology Reviews*. Vol.3 No.4. p.376-396..
- Hiswani. 2003. Pencegahan dan Pemberantasan Demam Berdarah Dengue. *USU Digital Library*
- Hsu JT, Wang HC, Chen GW, Shih SR. 2006. *Antiviral drug discovery targeting to viral proteases*. 12(11):1301–14

- Hudiyono, Sumi dan Sri Handayani. 2006. *Biokimia*. Depok: Departemen Kimia FMIPA UI.
- Kautner, I.; Robinson, M. J.; Kuhnle, U. 1997. *Dengue virus infection: epidemiology, pathogenesis, clinical, presentation, diagnosis, and prevention*. *Journal of Pediatrics* 131; 516-524
- Kee, Lee Yean; Tan Siew Kiat, *et al.* 2007. *Nonsubstrate based inhibitors of dengue virus serin protease: A molecular docking approach to study binding interactions between protease and inhibitors*. *Asia Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology*, Vol. 15 (2): 53-59
- Kirsten, Guido. 2008. *Concept of Pharmacophores and their Application in Computer Aided Drug Design*. ICS UNIDO Workshop. Trieste, Italy
- Kitchen, Douglas. B, Hélène Decornez, John R.Furr, dan Jürgen Bajorath. 2004. *Docking and Scoring in Virtual Screening for Drug Discovery: Methods and Application*. *Nature Reviews | Drug Discovery*. Volume 3
- Lescar, Julien; Dahai Luo, *et al.* 2008. *Towards the design of antiviral inhibitors against flaviviruses: The case for the multifunctional NS3 protein from Dengue virus as a target*. *Antiviral Research* 80: 94-101
- Lindenbach BD & Rice CM . 2007. *Flaviviridae: the viruses and their replication: In Fundamental Virology* (Knipe DM & Howley PM, eds), pp. 991 1041. Lippincott
- Monath, T. P., 1994. *Dengue: the risk to developed and developing countries*. USA 91: 2395–2400.

- Morris, G. M. *et al.* 1998. *Automated docking using a Lamarkian genetic algorithm and an empirical binding free energy function.* J. Comp. Chem. 19, 1639-1662
- Qi, Rui-feng; Ling Zhang; Cheng-wu Chi. 2008. *Biological characteristics of dengue virus and potential targets for drug design.* Acta Biochim Biophys Sin, Vol: 40, Page: 91-101
- Raekiansyah, Muhareva., Sudiro, T Mirawati. 2004. *Genetic Variation Among Dengue Virus That Possibly Correlate With Pathogenesis.* Med J Indones, 13:190-4
- Samira. 2009. *Perancangan Peptida Siklis sebagai Inhibitor Potensial untuk Enzim NS3-NS2B Protease Virus Dengue secara In Silico melalui Molecular Docking.* Depok: Departemen Kimia FMIPA UI
- Sehgal, Anil. 2006. *New Applications in Discovery, Manufacturing, and Therapeutics.* Tracy Beaudoin
- Tomlinson, S. M.; Watowich, S. J.; Malmstrom, R. D. 2009. *New Approaches to Structure-Based Discovery of Dengue Protease Inhibitors.* University of Texas Medical Branch, USA.
- Vieth, M.; Hirst, J. D.; Kolinski, A.; Brooks, C. L. I. 1998. *Assessing energy functions for flexible docking.* J Comp Chem 19, 1612-1622.
- WHO. 2002. *Dengue and dengue haemorrhagic fever.* World Health Organization, April.

Wichapong, Kanin; Somsak Pianwanit, *et al.* 2009. *Homology modeling and molecular dynamics simulations of dengue virus NS2B/NS3 protease: insight into molecular interaction*. DOI:10.1002/jmr.977

Yin, Zheng; Sejal J. Patel, *et al.* 2005. *Peptide inhibitors of dengue virus NS3 protease. Part 2: SAR study of tetrapeptide aldehyde inhibitors*.

Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 16: 40-43

<http://athena.bioc.uvic.ca>, diakses 1 Juli 2009, 20.00 WIB

<http://www.techfak.uni-bielefeld.de/bcd/ForAll/Intro/drugdesign>, diakses 1 Juli 2009, 20.10 WIB

<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/en>, diakses 1 Juli 2009, 20.30 WIB

[www.infeksi.com/articles.php](http://www.infeksi.com/articles.php), diakses 11 November 2009, 11.56 WIB

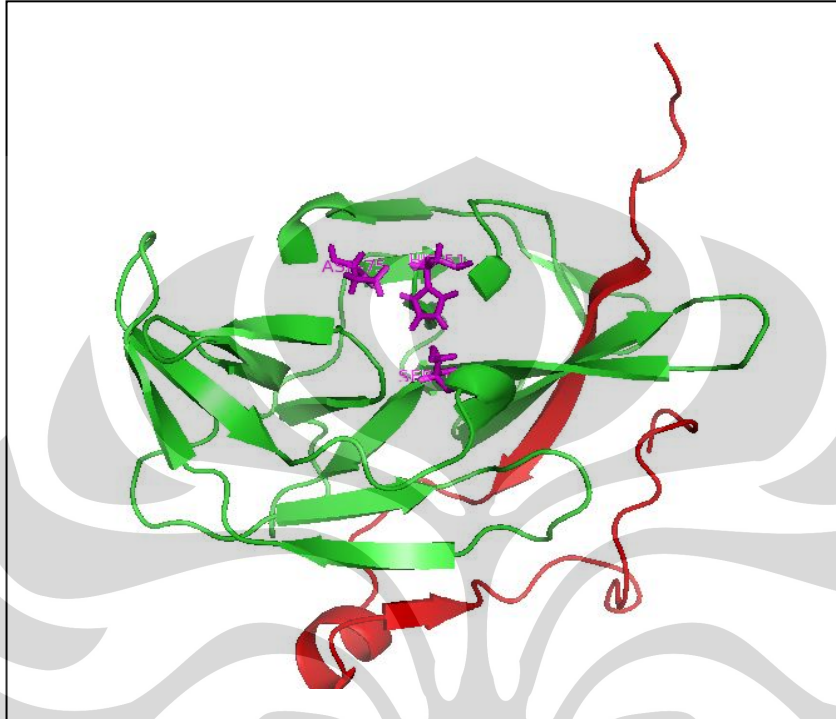
<http://www.oswego.edu/>, diakses 2 Juli 2009, 14.40 WIB

<http://en.wikipedia.org/wiki/drug-development>, diakses 1 November 2009, 19.15 WIB

<http://www.combichemistry.com/drug-discovery.html>, diakses 1 November 2009, 19.00 WIB

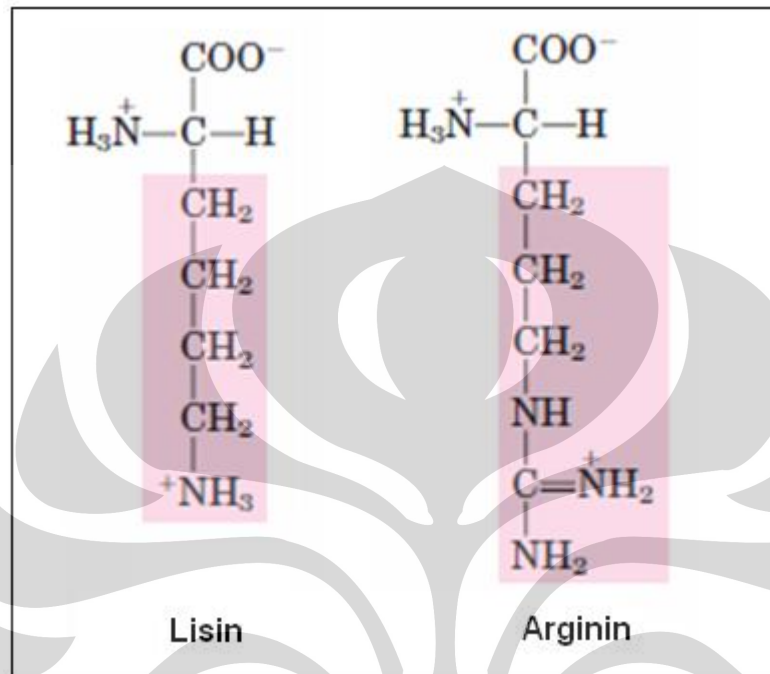
**Lampiran 1. Data Fisikokimia Residu Asam Amino Sisi Aktif NS3 Protease**

	<b>His51</b>	<b>Asp75</b>	<b>Ser135</b>
<b>kepolaran</b>	polar	polar	polar
<b>muatan pada pH=7</b>	(+)	(-)	netral
<b>pI</b>	7,59	2,77	5,68
<b>hydropathy index</b>	-3,2	-3,5	-0,8

**Lampiran 2.** Posisi Sisi Aktif dan Kofaktor NS3 Protease

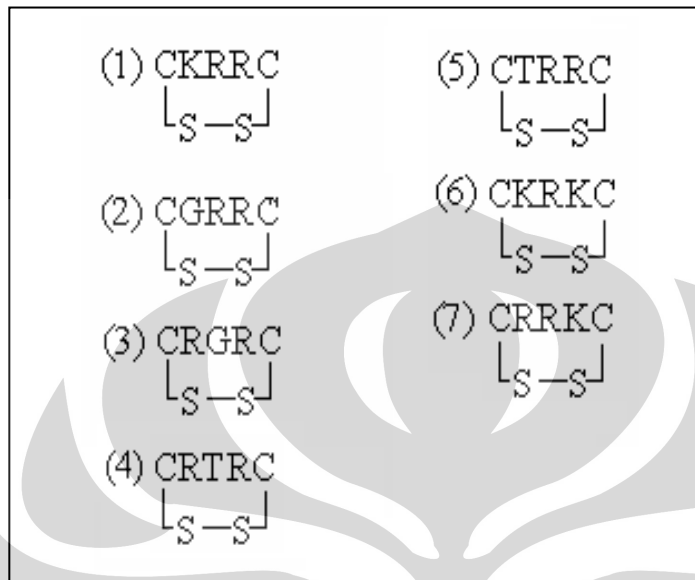
Keterangan : residu sisi aktif enzim ditunjukkan dengan *stick* berwarna ungu sedangkan kofaktor NS2B ditunjukkan dengan pita berwarna merah

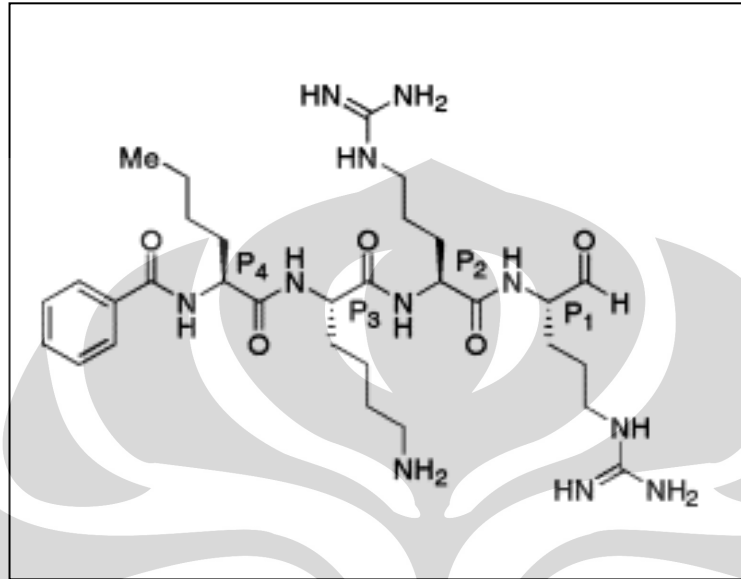


**Lampiran 3.** Struktur Asam Amino Lysin dan Arginin

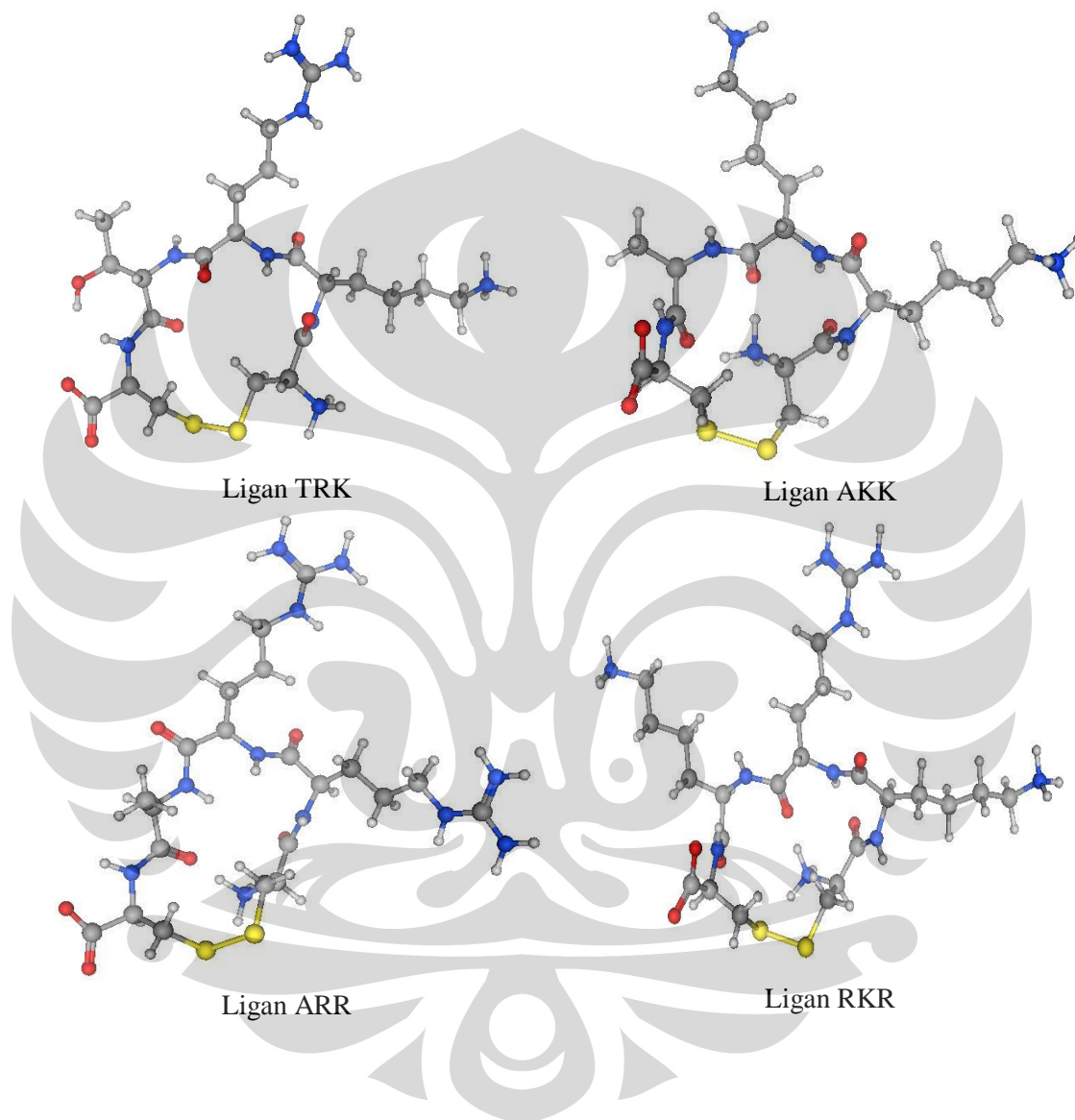
**Lampiran 4.** Daftar *Official Codes* Dua Puluh Asam Amino

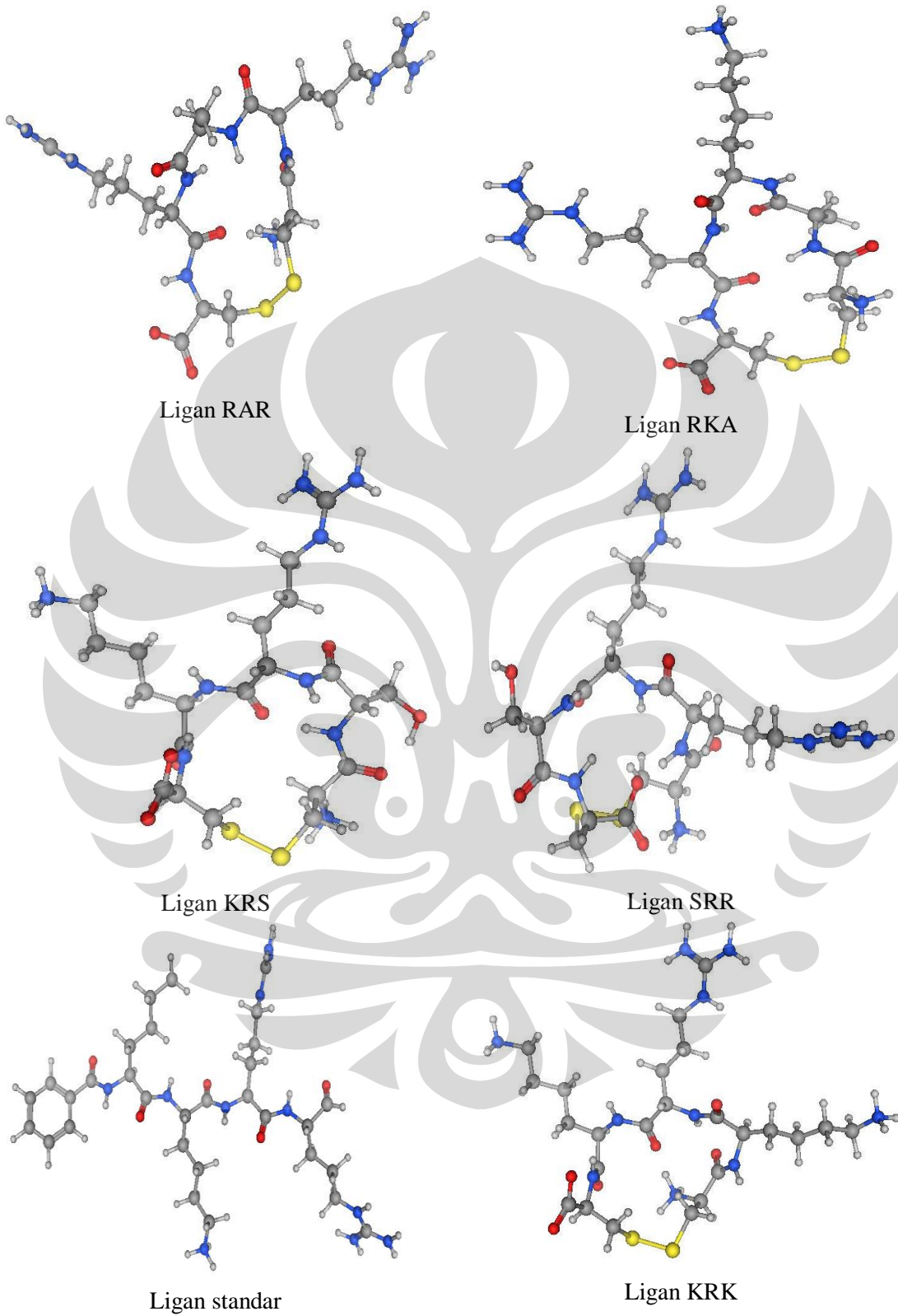
No	Nama asam amino	Kode tiga huruf	Kode satu huruf
1	Alanin	Ala	A
2	Arginin	Arg	R
3	Asparagin	Asn	N
4	Asam Aspartat	Asp	D
5	Sistein	Cys	C
6	Asam Glutamat	Glu	E
7	Glutamin	Gln	Q
8	Glisin	Gly	G
9	Histidin	His	H
10	Isoleusin	Ile	I
11	Leusin	Leu	L
12	Lisin	Lys	K
13	Metionin	Met	M
14	Fenilalanin	Phe	F
15	Prolin	Pro	P
16	Serin	Ser	S
17	Treonin	Thr	T
18	Triptofan	Trp	W
19	Tirosin	Tyr	Y
20	Valin	Val	V

**Lampiran 5. Bentuk 7 buah Ligan Pembanding**

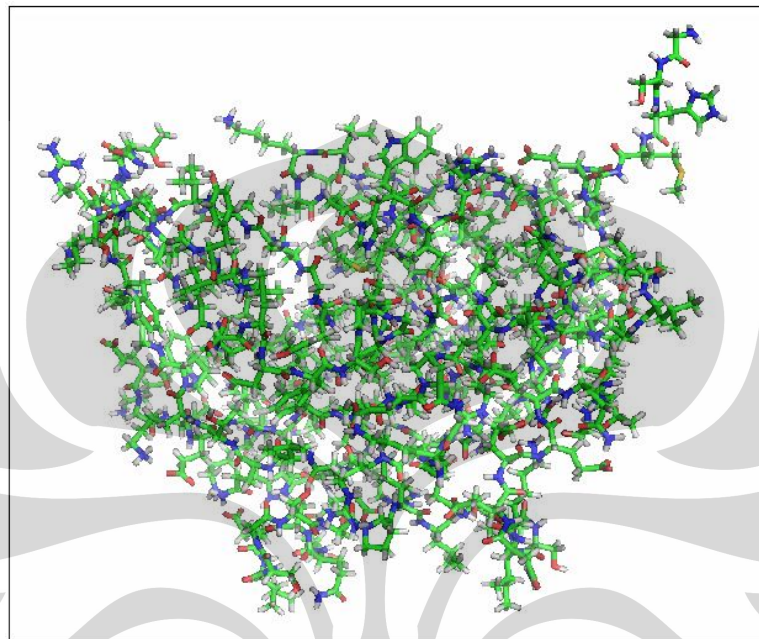
**Lampiran 6.** Struktur Dua Dimensi Ligan Standar Bz-Nle-K-R-R-H

**Lampiran 7. Struktur Tiga Dimensi Ligan Hasil Optimasi Geometri dan Minimisasi Energi**





**Lampiran 8.** Struktur Enzim NS3-NS2B Hasil Optimasi Geometri dan Minimisasi Energi



Lampiran 9. Data Hasil *Docking*

	mol	mseq	S	E_conf	E_place	E_score1	E_refine
1	RAR.mol	29	-22.2839	1.6000	-73.0222	-9.5307	-22.2839
2	RKR.mol	35	-21.0825	2.0000	-61.3238	-10.1819	-21.0825
3	RAK.mol	28	-19.9466	4.0000	-50.4388	-9.3542	-19.9466
4	KRS.mol	22	-18.5621	4.4064	-40.7041	-9.3570	-18.5621
5	TRR.mol	54	-18.5107	3.0017	-59.8144	-10.1171	-18.5107
6	RKS.mol	36	-18.4388	3.8000	-50.2865	-9.7088	-18.4388
7	ARR.mol	4	-17.8004	3.8307	-48.8212	-10.3623	-17.8004
8	KRK.mol	20	-17.6313	4.2000	-30.8370	-13.5010	-17.6313
9	RTR.mol	46	-17.5938	4.0000	-72.6056	-10.1950	-17.5938
10	KSR.mol	25	-17.5274	1.3960	13.3182	-12.0888	-17.5274
11	KTR.mol	27	-17.4396	3.6000	-55.4162	-8.9495	-17.4396
12	TRK.mol	53	-17.3806	2.6000	-67.7491	-9.2505	-17.3806
13	RAK.mol	9	-17.3264	1.8000	-25.4971	-9.1654	-17.3264
14	SRR.mol	50	-17.1425	2.6000	-41.9047	-9.3246	-17.1425
15	TKR.mol	52	-17.0828	3.2146	-45.3474	-11.6444	-17.0828
16	KRR.mol	21	-16.7055	3.2000	-32.2725	-12.1580	-16.7055
17	KRT.mol	23	-16.5927	3.4000	-83.1108	-11.1345	-16.5927
18	GRR.mol	8	-16.5333	3.6481	-63.0149	-9.9682	-16.5333
19	RKA.mol	32	-16.3754	4.0000	-67.6511	-9.4858	-16.3754
20	RRT.mol	42	-16.1746	2.6000	-39.2334	-9.4994	-16.1746
21	RRR.mol	38	-16.1233	3.2000	-99.1337	-10.3975	-16.1233
22	KAR.mol	10	-16.1230	3.6000	-39.6607	-9.0395	-16.1230
23	RSR.mol	44	-15.9559	1.4000	-67.3764	-9.0649	-15.9559
24	ARK.mol	3	-15.9426	3.6000	-50.6187	-9.5034	-15.9426
25	GKK.mol	5	-15.8237	4.0000	-27.0746	-10.3189	-15.8237
26	KGK.mol	11	-15.7837	1.6000	-50.3972	-10.0197	-15.7837
27	RTK.mol	45	-15.7202	3.4067	-60.4935	-9.7290	-15.7202



**Lampiran 9. Data Hasil Docking (Lanjutan)**

28	AKR.mol	2	-15.5660	2.2033	-52.0991	-9.2271	-15.5660
29	KTK.mol	26	-15.4263	2.8000	-48.9051	-9.8539	-15.4263
30	KGR.mol	12	-15.3761	2.0000	-41.2873	-9.9502	-15.3761
31	KRG.mol	19	-15.3654	2.2000	-44.7498	-9.2618	-15.3654
32	GKR.mol	6	-15.0524	2.6000	-78.0873	-10.4615	-15.0524
33	SKR.mol	48	-14.8410	3.2000	-62.4421	-10.1841	-14.8410
34	RRS.mol	41	-14.5333	3.2000	-56.1127	-9.4755	-14.5333
35	KRA.mol	18	-14.5076	3.4349	-44.9405	-9.0789	-14.5076
36	RGK.mol	30	-14.4629	0.6000	-47.2445	-9.9241	-14.4629
37	SRK.mol	49	-14.3547	4.1466	-76.2388	-10.1823	-14.3547
38	RSK.mol	43	-14.2721	4.0568	-53.4616	-10.3935	-14.2721
39	TKK.mol	51	-14.2538	2.9012	-29.3612	-10.0000	-14.2538
40	RRG.mol	39	-13.8109	2.6000	-51.3048	-9.5243	-13.8109
41	SKK.mol	47	-13.7056	2.4000	-39.8350	-11.0265	-13.7056
42	KKR.mol	15	-13.5003	3.3364	-43.7115	-9.6212	-13.5003
43	GKK.mol	7	-13.2075	3.4907	-56.4307	-10.2003	-13.2075
44	RKG.mol	33	-13.1540	2.2000	-43.2807	-9.7303	-13.1540
45	RRK.mol	40	-12.8433	2.6074	-51.3716	-10.5683	-12.8433
46	RKT.mol	37	-12.5434	2.6000	-51.7508	-9.3009	-12.5434
47	RGR.mol	31	-12.0048	3.4000	-33.5644	-12.4758	-12.0048
48	KKT.mol	17	-11.8786	3.6000	-35.6861	-11.4714	-11.8786
49	RKK.mol	34	-11.7137	2.0000	-24.5434	-9.4942	-11.7137
50	KKS.mol	16	-11.5772	4.2008	-31.7029	-9.5728	-11.5772
51	AKK.mol	1	-10.6453	2.6000	-22.3474	-9.8883	-10.6453
52	KSK.mol	24	-10.6057	3.3103	-42.2997	-9.4517	-10.6057
53	KKA.mol	13	-9.9742	2.4000	-43.1988	-9.8903	-9.9742
54	KKG.mol	14	-9.5001	3.2000	-34.9059	-9.4612	-9.5001

## Lampiran 10. Data Ligan Interaction Hasil Docking Interaction Data

### Interaction Data

Ligand: : RKR

Receptor: 2FOM: VIRAL PROTEIN/PROTEASE

Heavy atoms: ligand = 42, receptor = 1466

ligand	receptor	residue	chain	type	score	distance
H 2993	ND 1224	HIS 51	2FOM 2	H-don	27.0%	1.65
H 2996	ND 1224	HIS 51	2FOM 2	H-don	28.6%	2.16
H 2996	O 1217	HIS 51	2FOM 2	H-don	22.0%	1.87
H 3018	OD 1608	ASP 75	2FOM 2	H-don	21.9%	1.34
O 2936	NH 1277	ARG 54	2FOM 2	H-acc	81.4%	2.52
O 2941	NH 1277	ARG 54	2FOM 2	H-acc	38.2%	2.52
C 2940	CB 1218	HIS 51	2FOM 2	weak	0.0%	4.41
C 2942	CB 1218	HIS 51	2FOM 2	weak	0.0%	4.33
C 2949	CE 1227	HIS 51	2FOM 2	weak	0.0%	3.81
C 2949	ND 1224	HIS 51	2FOM 2	weak	0.0%	3.16
C 2949	CG 1221	HIS 51	2FOM 2	weak	0.0%	4.36
C 2949	O 1217	HIS 51	2FOM 2	weak	0.0%	3.60
C 2950	CB 1218	HIS 51	2FOM 2	weak	0.0%	4.20
N 2951	ND 1224	HIS 51	2FOM 2	weak	0.0%	4.47
O 2952	CG 1221	HIS 51	2FOM 2	weak	0.0%	4.05
O 2952	CB 1218	HIS 51	2FOM 2	weak	0.0%	3.35
N 2953	CE 1227	HIS 51	2FOM 2	weak	0.0%	3.31
N 2953	NE 1225	HIS 51	2FOM 2	weak	0.0%	4.49
N 2953	CG 1221	HIS 51	2FOM 2	weak	0.0%	3.71
N 2953	CB 1218	HIS 51	2FOM 2	weak	0.0%	4.15
N 2953	O 1217	HIS 51	2FOM 2	weak	0.0%	3.91
N 2955	CE 1227	HIS 51	2FOM 2	weak	0.0%	3.61
N 2955	CG 1221	HIS 51	2FOM 2	weak	0.0%	4.03
N 2955	CB 1218	HIS 51	2FOM 2	weak	0.0%	4.40
N 2955	C 1216	HIS 51	2FOM 2	weak	0.0%	3.66
C 2957	CE 1227	HIS 51	2FOM 2	weak	0.0%	4.24
C 2957	ND 1224	HIS 51	2FOM 2	weak	0.0%	3.75
C 2959	CE 1227	HIS 51	2FOM 2	weak	0.0%	4.10
C 2959	ND 1224	HIS 51	2FOM 2	weak	0.0%	3.77
C 2959	CG 1221	HIS 51	2FOM 2	weak	0.0%	4.36
O 2971	CD 1222	HIS 51	2FOM 2	weak	0.0%	3.89

O	2971	CG 1221	HIS	51	2FOM 2 weak	0.0%	4.03
O	2971	CB 1218	HIS	51	2FOM 2 weak	0.0%	3.96
N	2972	CB 1218	HIS	51	2FOM 2 weak	0.0%	4.01
C	2934	NH 1277	ARG	54	2FOM 2 weak	0.0%	3.41
C	2934	CZ 1276	ARG	54	2FOM 2 weak	0.0%	4.50
C	2935	NH 1277	ARG	54	2FOM 2 weak	0.0%	3.47
O	2936	NH 1280	ARG	54	2FOM 2 weak	0.0%	3.62
O	2936	CZ 1276	ARG	54	2FOM 2 weak	0.0%	3.51
N	2937	NH 1277	ARG	54	2FOM 2 weak	0.0%	3.86
C	2940	NH 1277	ARG	54	2FOM 2 weak	0.0%	3.41
O	2941	CZ 1276	ARG	54	2FOM 2 weak	0.0%	3.67
O	2941	NE 1274	ARG	54	2FOM 2 weak	0.0%	4.09
O	2941	CD 1271	ARG	54	2FOM 2 weak	0.0%	3.66
O	2941	CG 1268	ARG	54	2FOM 2 weak	0.0%	3.95
C	2948	NH 1277	ARG	54	2FOM 2 weak	0.0%	4.18
C	2970	O 1554	VAL	72	2FOM 2 weak	0.0%	3.82
N	2972	O 1554	VAL	72	2FOM 2 weak	0.0%	3.90
S	2973	CG 1557	VAL	72	2FOM 2 weak	0.0%	3.74
S	2973	O 1554	VAL	72	2FOM 2 weak	0.0%	4.14
C	2969	OD 1608	ASP	75	2FOM 2 weak	0.0%	3.59
C	2970	OD 1608	ASP	75	2FOM 2 weak	0.0%	3.20
O	2971	OD 1608	ASP	75	2FOM 2 weak	0.0%	3.37
O	2971	CG 1606	ASP	75	2FOM 2 weak	0.0%	4.24
N	2972	OD 1607	ASP	75	2FOM 2 weak	0.0%	4.39
N	2972	CG 1606	ASP	75	2FOM 2 weak	0.0%	3.65
C	2962	O 2748	GLY	153	2FOM 2 weak	0.0%	3.50
C	2966	O 2748	GLY	153	2FOM 2 weak	0.0%	3.02
C	2966	C 2747	GLY	153	2FOM 2 weak	0.0%	4.09
C	2965	OH 2852	TYR	161	2FOM 2 weak	0.0%	3.57
C	2967	OH 2852	TYR	161	2FOM 2 weak	0.0%	3.76

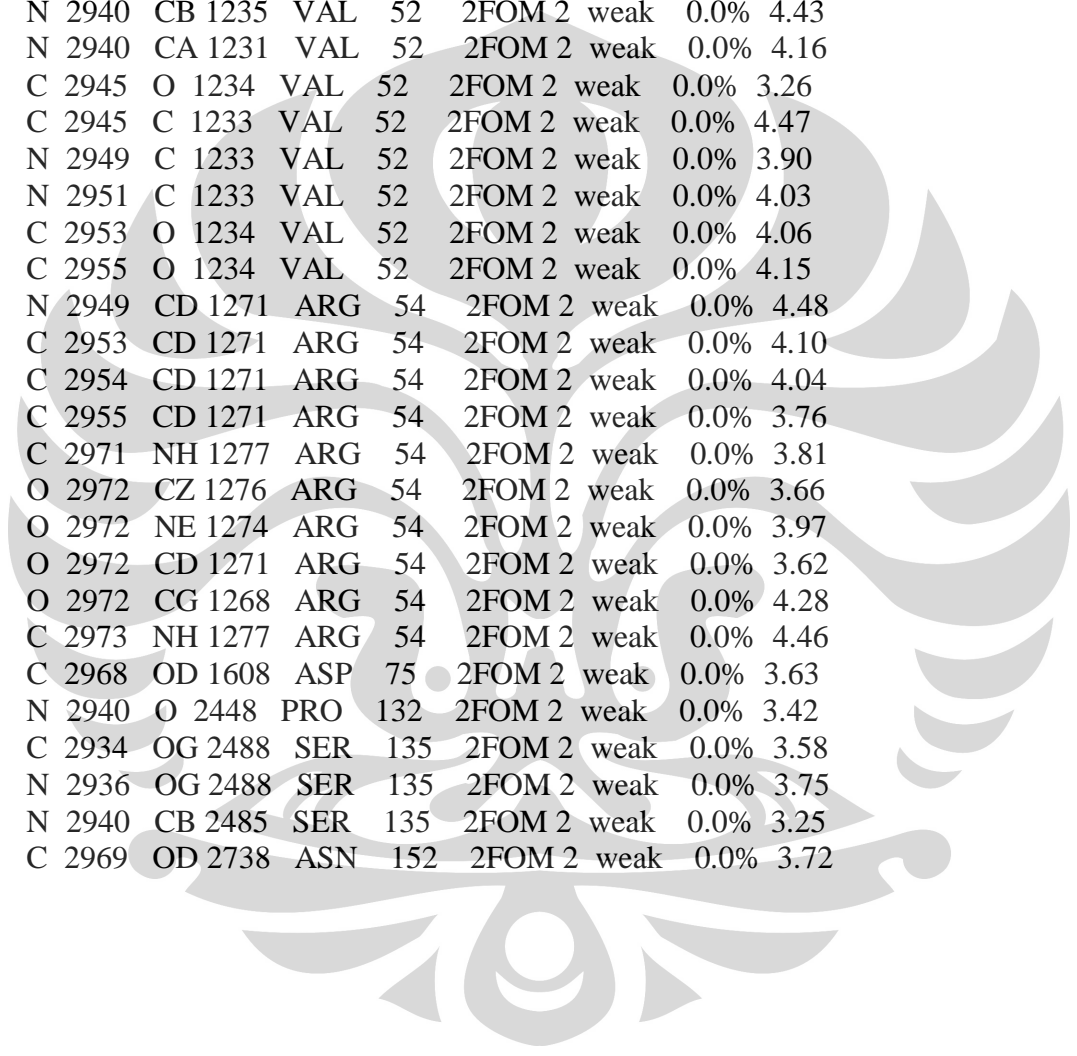
## Interaction Data

Ligand: : Standar

Receptor: 2FOM: VIRAL PROTEIN/PROTEASE

Heavy atoms: ligand = 47, receptor = 1466

ligand	receptor	residue	chain	type	score	distance
H 3034	ND 1224	HIS	51	2FOM 2 H-don	44.2%	1.78
H 2995	O 1234	VAL	52	2FOM 2 H-don	32.8%	1.91
H 2998	O 1234	VAL	52	2FOM 2 H-don	13.4%	1.90
H 2985	OG 2488	SER	135	2FOM 2 H-don	41.3%	1.82
O 2972	NH 1277	ARG	54	2FOM 2 H-acc	24.8%	2.67
N 2951	OE 855	GLN	27	2FOM 2 weak	0.0%	3.73
C 2934	O 987	ILE	36	2FOM 2 weak	0.0%	3.70
N 2938	O 987	ILE	36	2FOM 2 weak	0.0%	3.87
N 2940	O 987	ILE	36	2FOM 2 weak	0.0%	2.72
N 2940	C 986	ILE	36	2FOM 2 weak	0.0%	3.95
N 2951	CD 997	ILE	36	2FOM 2 weak	0.0%	3.29
N 2951	CG 993	ILE	36	2FOM 2 weak	0.0%	3.98
N 2951	CG 990	ILE	36	2FOM 2 weak	0.0%	4.35
N 2951	CB 988	ILE	36	2FOM 2 weak	0.0%	4.21
C 2934	CE 1227	HIS	51	2FOM 2 weak	0.0%	4.43
C 2934	ND 1224	HIS	51	2FOM 2 weak	0.0%	3.84
C 2934	O 1217	HIS	51	2FOM 2 weak	0.0%	3.88
N 2936	CE 1227	HIS	51	2FOM 2 weak	0.0%	3.51
N 2936	CG 1221	HIS	51	2FOM 2 weak	0.0%	3.85
N 2936	CB 1218	HIS	51	2FOM 2 weak	0.0%	4.24
N 2936	O 1217	HIS	51	2FOM 2 weak	0.0%	3.17
N 2936	C 1216	HIS	51	2FOM 2 weak	0.0%	3.75
N 2938	O 1217	HIS	51	2FOM 2 weak	0.0%	4.48
N 2940	CE 1227	HIS	51	2FOM 2 weak	0.0%	4.39
N 2940	ND 1224	HIS	51	2FOM 2 weak	0.0%	4.06
C 2946	CB 1218	HIS	51	2FOM 2 weak	0.0%	4.45
C 2946	O 1217	HIS	51	2FOM 2 weak	0.0%	3.75
O 2948	ND 1224	HIS	51	2FOM 2 weak	0.0%	3.86
O 2948	CG 1221	HIS	51	2FOM 2 weak	0.0%	4.20
O 2948	CB 1218	HIS	51	2FOM 2 weak	0.0%	3.86
O 2948	O 1217	HIS	51	2FOM 2 weak	0.0%	3.15
O 2948	C 1216	HIS	51	2FOM 2 weak	0.0%	4.06
N 2949	O 1217	HIS	51	2FOM 2 weak	0.0%	4.16
C 2950	CB 1218	HIS	51	2FOM 2 weak	0.0%	4.41
C 2950	O 1217	HIS	51	2FOM 2 weak	0.0%	3.59



C	2953	O	1217	HIS	51	2FOM 2	weak	0.0%	4.22
C	2954	O	1217	HIS	51	2FOM 2	weak	0.0%	3.93
C	2955	O	1217	HIS	51	2FOM 2	weak	0.0%	3.05
C	2955	C	1216	HIS	51	2FOM 2	weak	0.0%	4.19
C	2934	CA	1231	VAL	52	2FOM 2	weak	0.0%	4.31
N	2936	CA	1231	VAL	52	2FOM 2	weak	0.0%	4.24
N	2936	N	1229	VAL	52	2FOM 2	weak	0.0%	4.23
N	2940	CG	1241	VAL	52	2FOM 2	weak	0.0%	3.92
N	2940	CB	1235	VAL	52	2FOM 2	weak	0.0%	4.43
N	2940	CA	1231	VAL	52	2FOM 2	weak	0.0%	4.16
C	2945	O	1234	VAL	52	2FOM 2	weak	0.0%	3.26
C	2945	C	1233	VAL	52	2FOM 2	weak	0.0%	4.47
N	2949	C	1233	VAL	52	2FOM 2	weak	0.0%	3.90
N	2951	C	1233	VAL	52	2FOM 2	weak	0.0%	4.03
C	2953	O	1234	VAL	52	2FOM 2	weak	0.0%	4.06
C	2955	O	1234	VAL	52	2FOM 2	weak	0.0%	4.15
N	2949	CD	1271	ARG	54	2FOM 2	weak	0.0%	4.48
C	2953	CD	1271	ARG	54	2FOM 2	weak	0.0%	4.10
C	2954	CD	1271	ARG	54	2FOM 2	weak	0.0%	4.04
C	2955	CD	1271	ARG	54	2FOM 2	weak	0.0%	3.76
C	2971	NH	1277	ARG	54	2FOM 2	weak	0.0%	3.81
O	2972	CZ	1276	ARG	54	2FOM 2	weak	0.0%	3.66
O	2972	NE	1274	ARG	54	2FOM 2	weak	0.0%	3.97
O	2972	CD	1271	ARG	54	2FOM 2	weak	0.0%	3.62
O	2972	CG	1268	ARG	54	2FOM 2	weak	0.0%	4.28
C	2973	NH	1277	ARG	54	2FOM 2	weak	0.0%	4.46
C	2968	OD	1608	ASP	75	2FOM 2	weak	0.0%	3.63
N	2940	O	2448	PRO	132	2FOM 2	weak	0.0%	3.42
C	2934	OG	2488	SER	135	2FOM 2	weak	0.0%	3.58
N	2936	OG	2488	SER	135	2FOM 2	weak	0.0%	3.75
N	2940	CB	2485	SER	135	2FOM 2	weak	0.0%	3.25
C	2969	OD	2738	ASN	152	2FOM 2	weak	0.0%	3.72

## Interaction Data

Ligand: : KKK

Receptor: 2FOM: VIRAL PROTEIN/PROTEASE

Heavy atoms: ligand = 42, receptor = 1466

ligand	receptor	residue	chain	type	score	distance
H 3007	O 970	GLN 35	2FOM 2	H-don	58.9%	1.67
H 2992	O 987	ILE 36	2FOM 2	H-don	33.3%	1.82
H 2993	O 1217	HIS 51	2FOM 2	H-don	21.2%	1.67
H 2996	ND 1224	HIS 51	2FOM 2	H-don	24.5%	1.97
H 3023	OE 632	GLU 92	2FOM 1	H-don	35.1%	1.47
O 2975	NH 1280	ARG 54	2FOM 2	H-acc	43.6%	2.81
O 2975	NE 1274	ARG 54	2FOM 2	H-acc	42.2%	2.47
N 2963	OE 855	GLN 27	2FOM 2	weak	0.0%	3.23
N 2963	CD 854	GLN 27	2FOM 2	weak	0.0%	4.45
C 2969	OE 855	GLN 27	2FOM 2	weak	0.0%	3.51
C 2970	NE 856	GLN 27	2FOM 2	weak	0.0%	4.42
C 2970	OE 855	GLN 27	2FOM 2	weak	0.0%	3.02
C 2970	CD 854	GLN 27	2FOM 2	weak	0.0%	4.02
N 2972	OE 855	GLN 27	2FOM 2	weak	0.0%	4.43
S 2973	NE 856	GLN 27	2FOM 2	weak	0.0%	3.34
S 2973	OE 855	GLN 27	2FOM 2	weak	0.0%	3.60
S 2973	CD 854	GLN 27	2FOM 2	weak	0.0%	3.89
C 2974	NE 856	GLN 27	2FOM 2	weak	0.0%	3.95
C 2974	OE 855	GLN 27	2FOM 2	weak	0.0%	3.07
C 2974	CD 854	GLN 27	2FOM 2	weak	0.0%	3.91
C 2965	CB 960	SER 34	2FOM 2	weak	0.0%	3.85
C 2965	C 958	SER 34	2FOM 2	weak	0.0%	4.05
N 2964	OE 978	GLN 35	2FOM 2	weak	0.0%	4.35
N 2964	CB 971	GLN 35	2FOM 2	weak	0.0%	4.19
N 2964	C 969	GLN 35	2FOM 2	weak	0.0%	3.52
N 2964	CA 967	GLN 35	2FOM 2	weak	0.0%	3.90
N 2964	N 965	GLN 35	2FOM 2	weak	0.0%	3.42
C 2965	O 970	GLN 35	2FOM 2	weak	0.0%	3.01
C 2965	C 969	GLN 35	2FOM 2	weak	0.0%	3.84
C 2965	CA 967	GLN 35	2FOM 2	weak	0.0%	4.42
C 2965	N 965	GLN 35	2FOM 2	weak	0.0%	3.77
C 2966	O 970	GLN 35	2FOM 2	weak	0.0%	4.19
C 2967	O 970	GLN 35	2FOM 2	weak	0.0%	3.30
C 2967	C 969	GLN 35	2FOM 2	weak	0.0%	4.31
C 2968	O 970	GLN 35	2FOM 2	weak	0.0%	4.32

C	2949	O 987	ILE	36	2FOM 2 weak	0.0%	3.74
N	2951	CB 988	ILE	36	2FOM 2 weak	0.0%	4.27
N	2951	C 986	ILE	36	2FOM 2 weak	0.0%	3.77
N	2951	CA 984	ILE	36	2FOM 2 weak	0.0%	4.21
N	2955	O 987	ILE	36	2FOM 2 weak	0.0%	4.00
C	2960	CG 993	ILE	36	2FOM 2 weak	0.0%	4.34
O	2961	CG 993	ILE	36	2FOM 2 weak	0.0%	3.82
O	2961	CB 988	ILE	36	2FOM 2 weak	0.0%	3.82
O	2961	CA 984	ILE	36	2FOM 2 weak	0.0%	4.17
C	2962	CG 993	ILE	36	2FOM 2 weak	0.0%	4.20
N	2963	CG 993	ILE	36	2FOM 2 weak	0.0%	3.78
C	2966	CG 993	ILE	36	2FOM 2 weak	0.0%	3.88
C	2966	CA 984	ILE	36	2FOM 2 weak	0.0%	4.33
C	2949	ND 1224	HIS	51	2FOM 2 weak	0.0%	3.93
C	2949	O 1217	HIS	51	2FOM 2 weak	0.0%	3.32
C	2949	C 1216	HIS	51	2FOM 2 weak	0.0%	4.14
N	2953	ND 1224	HIS	51	2FOM 2 weak	0.0%	3.97
N	2953	C 1216	HIS	51	2FOM 2 weak	0.0%	3.71
N	2955	CE 1227	HIS	51	2FOM 2 weak	0.0%	3.34
N	2955	CG 1221	HIS	51	2FOM 2 weak	0.0%	4.23
N	2955	O 1217	HIS	51	2FOM 2 weak	0.0%	3.35
N	2955	C 1216	HIS	51	2FOM 2 weak	0.0%	3.86
C	2957	O 1217	HIS	51	2FOM 2 weak	0.0%	3.51
C	2949	O 1234	VAL	52	2FOM 2 weak	0.0%	4.27
C	2949	C 1233	VAL	52	2FOM 2 weak	0.0%	4.49
C	2949	CA 1231	VAL	52	2FOM 2 weak	0.0%	3.78
C	2949	N 1229	VAL	52	2FOM 2 weak	0.0%	4.35
N	2951	O 1234	VAL	52	2FOM 2 weak	0.0%	4.49
N	2951	CA 1231	VAL	52	2FOM 2 weak	0.0%	4.44
N	2953	O 1234	VAL	52	2FOM 2 weak	0.0%	4.07
N	2953	C 1233	VAL	52	2FOM 2 weak	0.0%	4.33
N	2953	CA 1231	VAL	52	2FOM 2 weak	0.0%	3.92
N	2953	N 1229	VAL	52	2FOM 2 weak	0.0%	4.25
N	2955	CG 1241	VAL	52	2FOM 2 weak	0.0%	3.91
N	2955	CB 1235	VAL	52	2FOM 2 weak	0.0%	4.27
N	2955	CA 1231	VAL	52	2FOM 2 weak	0.0%	3.64
N	2955	N 1229	VAL	52	2FOM 2 weak	0.0%	3.98
C	2957	O 1234	VAL	52	2FOM 2 weak	0.0%	4.27
C	2934	NH 1280	ARG	54	2FOM 2 weak	0.0%	3.36
C	2934	CZ 1276	ARG	54	2FOM 2 weak	0.0%	3.92
C	2934	NE 1274	ARG	54	2FOM 2 weak	0.0%	3.58
O	2936	NH 1280	ARG	54	2FOM 2 weak	0.0%	3.18
O	2936	CZ 1276	ARG	54	2FOM 2 weak	0.0%	4.09
O	2936	NE 1274	ARG	54	2FOM 2 weak	0.0%	4.14
O	2975	NH 1277	ARG	54	2FOM 2 weak	0.0%	4.37

O	2975	CZ 1276	ARG	54	2FOM 2	weak	0.0%	3.04
O	2975	CD 1271	ARG	54	2FOM 2	weak	0.0%	3.55
O	2975	CB 1265	ARG	54	2FOM 2	weak	0.0%	4.33
N	2964	CD 630	GLU	92	2FOM 1	weak	0.0%	3.69
C	2965	OE 632	GLU	92	2FOM 1	weak	0.0%	3.49
N	2964	CB 2005	PRO	102	2FOM 2	weak	0.0%	3.33
N	2955	OG 2488	SER	135	2FOM 2	weak	0.0%	3.38
N	2955	CB 2485	SER	135	2FOM 2	weak	0.0%	3.59





## Interaction Data

Ligand: : ARR

Receptor: 2FOM: VIRAL PROTEIN/PROTEASE

Heavy atoms: ligand = 40, receptor = 1466

ligand	receptor	residue	chain	type	score	distance
H 2984	O 1234	VAL 52	2FOM 2	H-don	42.0%	1.90
H 2987	O 1234	VAL 52	2FOM 2	H-don	10.8%	1.77
H 2998	O 1554	VAL 72	2FOM 2	H-don	15.7%	1.90
H 3013	O 1554	VAL 72	2FOM 2	H-don	35.5%	1.70
H 2995	OD 1608	ASP 75	2FOM 2	H-don	37.2%	1.46
O 2959	NH 1277	ARG 54	2FOM 2	H-acc	12.4%	2.69
O 2936	OG 2488	SER 135	2FOM 2	H-acc	50.5%	2.57
O 2973	OH 2719	TYR 150	2FOM 2	H-acc	29.8%	2.74
C 2945	CD 997	ILE 36	2FOM 2	weak	0.0%	4.22
N 2947	CG 993	ILE 36	2FOM 2	weak	0.0%	4.12
N 2951	CD 997	ILE 36	2FOM 2	weak	0.0%	3.19
N 2951	CG 993	ILE 36	2FOM 2	weak	0.0%	4.29
N 2951	CG 990	ILE 36	2FOM 2	weak	0.0%	4.27
N 2951	CB 988	ILE 36	2FOM 2	weak	0.0%	4.14
C 2935	CE 1227	HIS 51	2FOM 2	weak	0.0%	4.49
N 2937	CE 1227	HIS 51	2FOM 2	weak	0.0%	3.75
C 2939	CE 1227	HIS 51	2FOM 2	weak	0.0%	4.06
C 2940	CE 1227	HIS 51	2FOM 2	weak	0.0%	3.59
C 2940	ND 1224	HIS 51	2FOM 2	weak	0.0%	4.02
O 2941	CE 1227	HIS 51	2FOM 2	weak	0.0%	3.97
O 2941	ND 1224	HIS 51	2FOM 2	weak	0.0%	4.20
C 2942	CE 1227	HIS 51	2FOM 2	weak	0.0%	3.82
C 2942	ND 1224	HIS 51	2FOM 2	weak	0.0%	3.96
N 2943	CE 1227	HIS 51	2FOM 2	weak	0.0%	3.75
N 2943	ND 1224	HIS 51	2FOM 2	weak	0.0%	3.39
C 2944	CE 1227	HIS 51	2FOM 2	weak	0.0%	3.66
C 2944	ND 1224	HIS 51	2FOM 2	weak	0.0%	3.98
C 2946	ND 1224	HIS 51	2FOM 2	weak	0.0%	4.32
N 2949	O 1217	HIS 51	2FOM 2	weak	0.0%	4.11
C 2950	ND 1224	HIS 51	2FOM 2	weak	0.0%	4.45
C 2950	O 1217	HIS 51	2FOM 2	weak	0.0%	4.11
N 2952	ND 1224	HIS 51	2FOM 2	weak	0.0%	3.49
N 2952	CG 1221	HIS 51	2FOM 2	weak	0.0%	4.20
N 2952	CB 1218	HIS 51	2FOM 2	weak	0.0%	3.93
N 2952	O 1217	HIS 51	2FOM 2	weak	0.0%	3.53

N	2952	C	1216	HIS	51	2FOM 2	weak	0.0%	4.41
C	2953	O	1217	HIS	51	2FOM 2	weak	0.0%	4.17
C	2954	O	1217	HIS	51	2FOM 2	weak	0.0%	4.02
C	2955	O	1217	HIS	51	2FOM 2	weak	0.0%	3.04
C	2955	C	1216	HIS	51	2FOM 2	weak	0.0%	4.26
C	2957	ND	1224	HIS	51	2FOM 2	weak	0.0%	4.26
C	2957	CB	1218	HIS	51	2FOM 2	weak	0.0%	4.02
C	2957	O	1217	HIS	51	2FOM 2	weak	0.0%	4.06
O	2959	O	1217	HIS	51	2FOM 2	weak	0.0%	4.38
C	2961	ND	1224	HIS	51	2FOM 2	weak	0.0%	4.21
C	2961	CG	1221	HIS	51	2FOM 2	weak	0.0%	4.49
C	2961	CB	1218	HIS	51	2FOM 2	weak	0.0%	3.86
N	2963	CE	1227	HIS	51	2FOM 2	weak	0.0%	4.37
N	2963	ND	1224	HIS	51	2FOM 2	weak	0.0%	3.35
N	2963	CG	1221	HIS	51	2FOM 2	weak	0.0%	3.83
N	2963	CB	1218	HIS	51	2FOM 2	weak	0.0%	3.66
C	2964	CB	1218	HIS	51	2FOM 2	weak	0.0%	4.02
C	2965	CB	1218	HIS	51	2FOM 2	weak	0.0%	3.60
C	2965	CA	1214	HIS	51	2FOM 2	weak	0.0%	4.45
C	2966	CB	1218	HIS	51	2FOM 2	weak	0.0%	4.39
C	2967	ND	1224	HIS	51	2FOM 2	weak	0.0%	3.94
C	2968	ND	1224	HIS	51	2FOM 2	weak	0.0%	4.18
S	2971	CE	1227	HIS	51	2FOM 2	weak	0.0%	4.39
C	2972	CE	1227	HIS	51	2FOM 2	weak	0.0%	3.40
C	2972	NE	1225	HIS	51	2FOM 2	weak	0.0%	4.09
C	2972	ND	1224	HIS	51	2FOM 2	weak	0.0%	3.34
C	2972	CD	1222	HIS	51	2FOM 2	weak	0.0%	4.49
C	2972	CG	1221	HIS	51	2FOM 2	weak	0.0%	4.10
C	2945	O	1234	VAL	52	2FOM 2	weak	0.0%	3.16
C	2945	C	1233	VAL	52	2FOM 2	weak	0.0%	4.35
N	2947	O	1234	VAL	52	2FOM 2	weak	0.0%	4.49
N	2949	C	1233	VAL	52	2FOM 2	weak	0.0%	3.81
N	2949	CA	1231	VAL	52	2FOM 2	weak	0.0%	4.45
N	2951	C	1233	VAL	52	2FOM 2	weak	0.0%	3.91
C	2953	O	1234	VAL	52	2FOM 2	weak	0.0%	4.06
C	2955	O	1234	VAL	52	2FOM 2	weak	0.0%	4.27
C	2957	NH	1277	ARG	54	2FOM 2	weak	0.0%	3.90
O	2959	CZ	1276	ARG	54	2FOM 2	weak	0.0%	3.92
O	2959	CD	1271	ARG	54	2FOM 2	weak	0.0%	4.18
C	2956	CG	1557	VAL	72	2FOM 2	weak	0.0%	4.32
C	2956	O	1554	VAL	72	2FOM 2	weak	0.0%	3.11
C	2956	C	1553	VAL	72	2FOM 2	weak	0.0%	4.30
N	2958	CG	1557	VAL	72	2FOM 2	weak	0.0%	4.20
N	2958	C	1553	VAL	72	2FOM 2	weak	0.0%	3.67
N	2958	CA	1551	VAL	72	2FOM 2	weak	0.0%	4.31

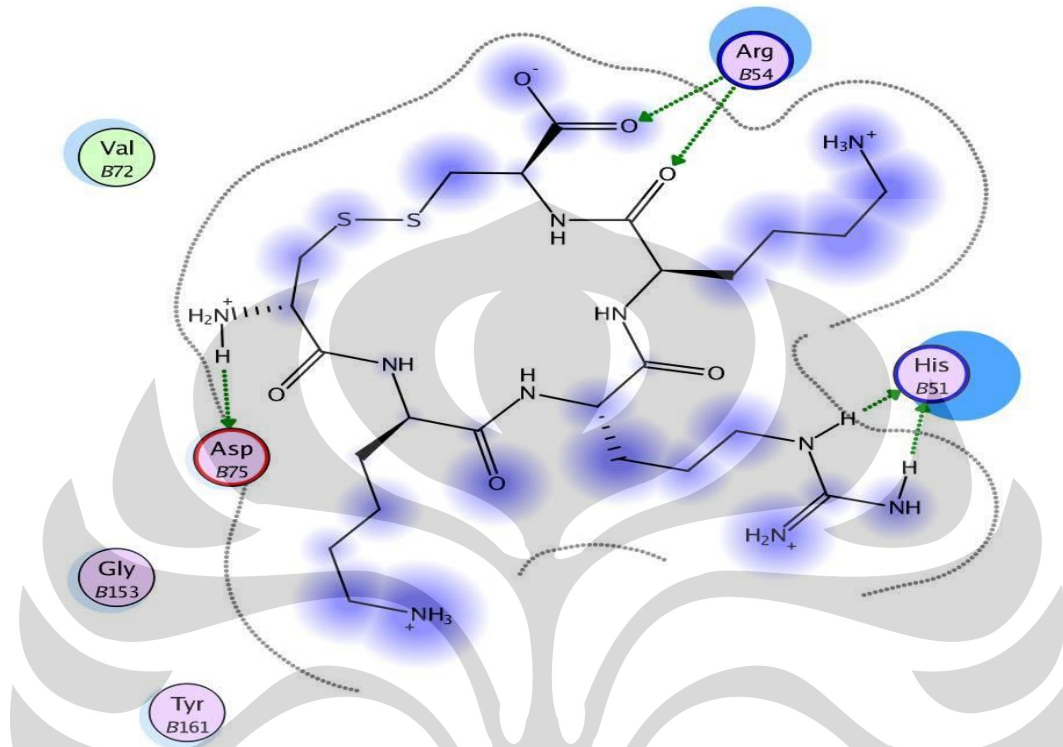
N	2960	O	1554	VAL	72	2FOM	2	weak	0.0%	4.44
N	2962	CG	1557	VAL	72	2FOM	2	weak	0.0%	4.00
N	2962	C	1553	VAL	72	2FOM	2	weak	0.0%	3.95
C	2956	OD	1608	ASP	75	2FOM	2	weak	0.0%	3.51
N	2958	CG	1606	ASP	75	2FOM	2	weak	0.0%	3.49
N	2958	CB	1603	ASP	75	2FOM	2	weak	0.0%	3.93
N	2960	OD	1608	ASP	75	2FOM	2	weak	0.0%	3.89
C	2964	OD	1608	ASP	75	2FOM	2	weak	0.0%	3.45
C	2934	O	2448	PRO	132	2FOM	2	weak	0.0%	4.46
C	2934	CA	2445	PRO	132	2FOM	2	weak	0.0%	4.13
C	2935	CA	2445	PRO	132	2FOM	2	weak	0.0%	4.38
O	2936	O	2448	PRO	132	2FOM	2	weak	0.0%	3.38
O	2936	C	2447	PRO	132	2FOM	2	weak	0.0%	3.68
O	2936	CA	2445	PRO	132	2FOM	2	weak	0.0%	3.62
O	2936	N	2444	PRO	132	2FOM	2	weak	0.0%	4.45
N	2937	CB	2449	PRO	132	2FOM	2	weak	0.0%	4.11
N	2937	O	2448	PRO	132	2FOM	2	weak	0.0%	4.07
N	2937	C	2447	PRO	132	2FOM	2	weak	0.0%	4.43
N	2937	CA	2445	PRO	132	2FOM	2	weak	0.0%	3.84
C	2940	CB	2449	PRO	132	2FOM	2	weak	0.0%	4.33
C	2942	CB	2449	PRO	132	2FOM	2	weak	0.0%	3.93
C	2942	O	2448	PRO	132	2FOM	2	weak	0.0%	4.43
C	2944	CB	2449	PRO	132	2FOM	2	weak	0.0%	3.88
C	2944	O	2448	PRO	132	2FOM	2	weak	0.0%	3.41
C	2944	C	2447	PRO	132	2FOM	2	weak	0.0%	4.20
C	2944	CA	2445	PRO	132	2FOM	2	weak	0.0%	4.27
C	2934	OG	2488	SER	135	2FOM	2	weak	0.0%	3.39
C	2935	OG	2488	SER	135	2FOM	2	weak	0.0%	3.69
O	2936	CB	2485	SER	135	2FOM	2	weak	0.0%	3.55
O	2936	CA	2481	SER	135	2FOM	2	weak	0.0%	3.80
O	2936	N	2479	SER	135	2FOM	2	weak	0.0%	3.50
N	2937	OG	2488	SER	135	2FOM	2	weak	0.0%	3.27
N	2937	CB	2485	SER	135	2FOM	2	weak	0.0%	4.44
C	2939	OG	2488	SER	135	2FOM	2	weak	0.0%	3.87
C	2940	OG	2488	SER	135	2FOM	2	weak	0.0%	4.13
C	2942	OG	2488	SER	135	2FOM	2	weak	0.0%	4.47
C	2944	OG	2488	SER	135	2FOM	2	weak	0.0%	3.68
C	2944	CB	2485	SER	135	2FOM	2	weak	0.0%	4.00
O	2973	OG	2488	SER	135	2FOM	2	weak	0.0%	4.43
C	2934	OH	2719	TYR	150	2FOM	2	weak	0.0%	3.94
C	2934	CZ	2718	TYR	150	2FOM	2	weak	0.0%	4.40
C	2934	CE	2716	TYR	150	2FOM	2	weak	0.0%	3.92
O	2936	CE	2716	TYR	150	2FOM	2	weak	0.0%	3.95
O	2973	CZ	2718	TYR	150	2FOM	2	weak	0.0%	3.39
O	2973	CE	2716	TYR	150	2FOM	2	weak	0.0%	3.24

C 2934	O 2727	GLY	151	2FOM 2	weak	0.0%	4.33
C 2935	O 2727	GLY	151	2FOM 2	weak	0.0%	4.33
C 2939	O 2727	GLY	151	2FOM 2	weak	0.0%	3.23
C 2939	C 2726	GLY	151	2FOM 2	weak	0.0%	4.16
S 2971	O 2727	GLY	151	2FOM 2	weak	0.0%	4.01
S 2971	O 2748	GLY	153	2FOM 2	weak	0.0%	3.41
S 2971	C 2747	GLY	153	2FOM 2	weak	0.0%	3.92
S 2971	CA 2744	GLY	153	2FOM 2	weak	0.0%	3.58
S 2971	N 2742	GLY	153	2FOM 2	weak	0.0%	3.30

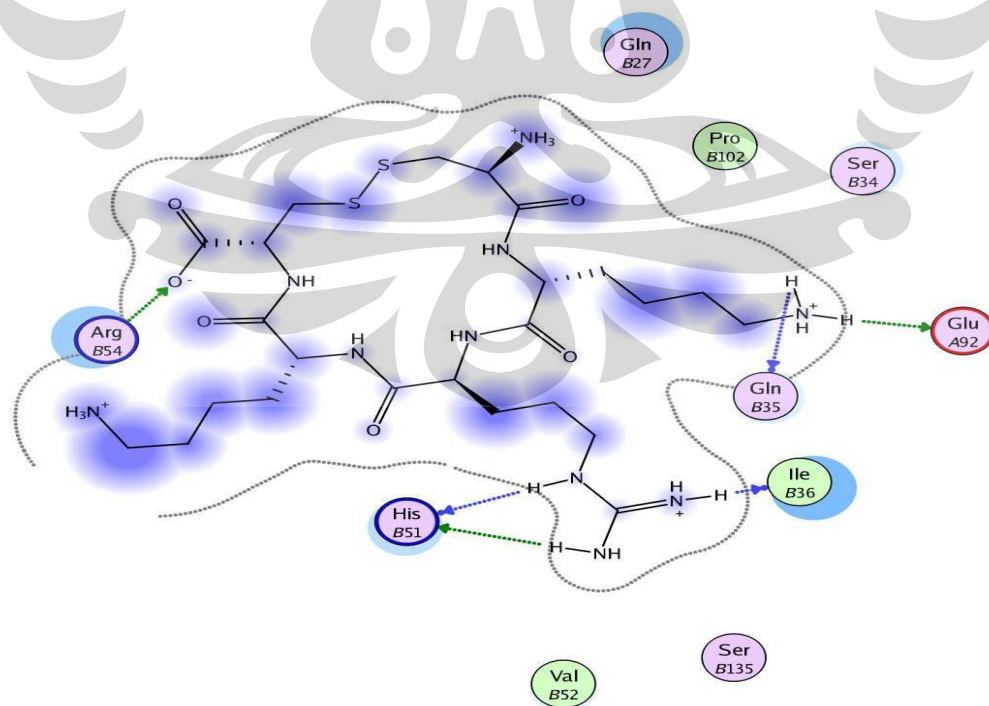


## Lampiran 11. Gambar Ligan Interaksi

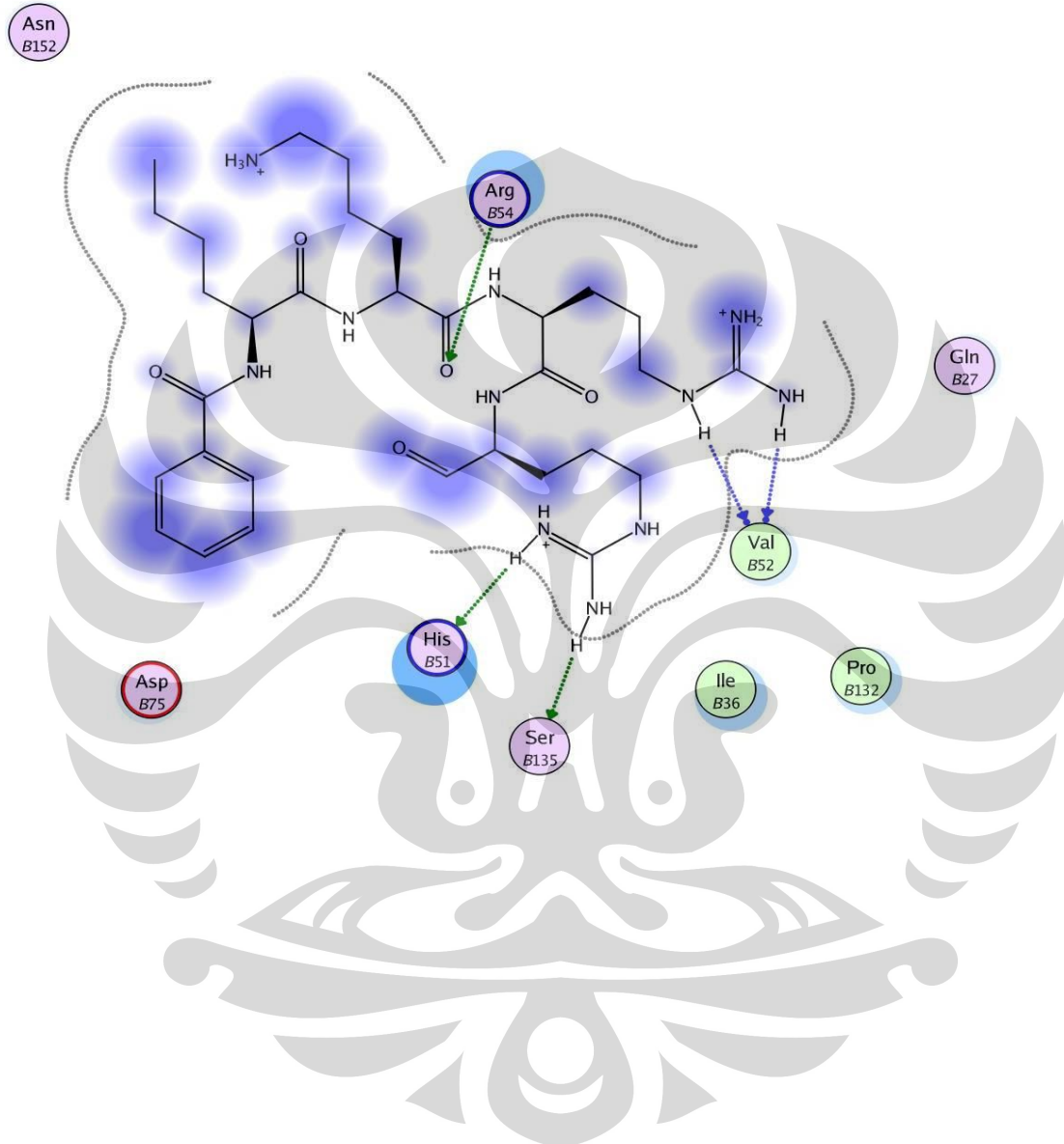
### a. Interaksi Ligan RKR



### b. Interaksi Ligan KRR

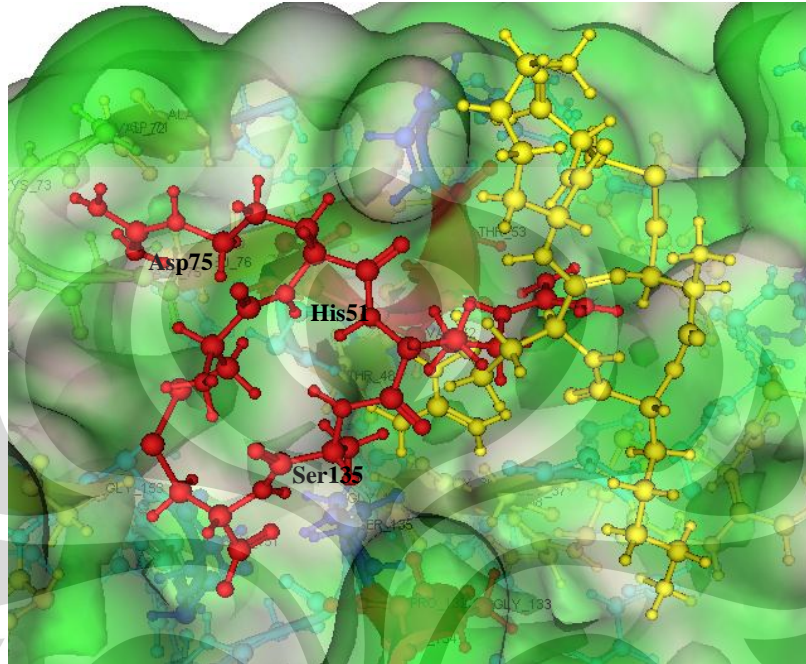


## c. Interaksi Ligan Standar

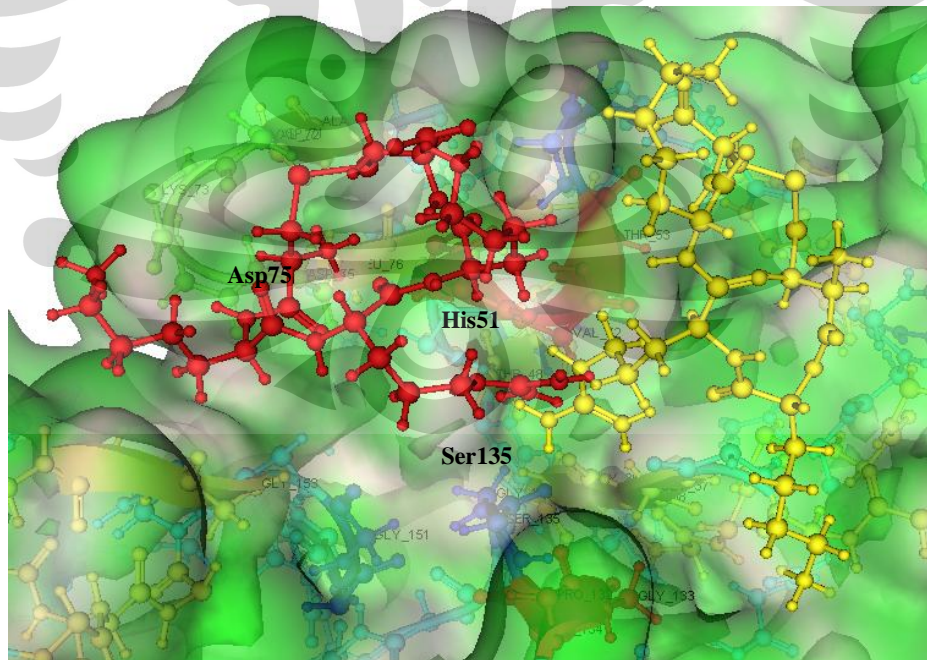


**Lampiran 12. Gambar *superimpose* ligan**

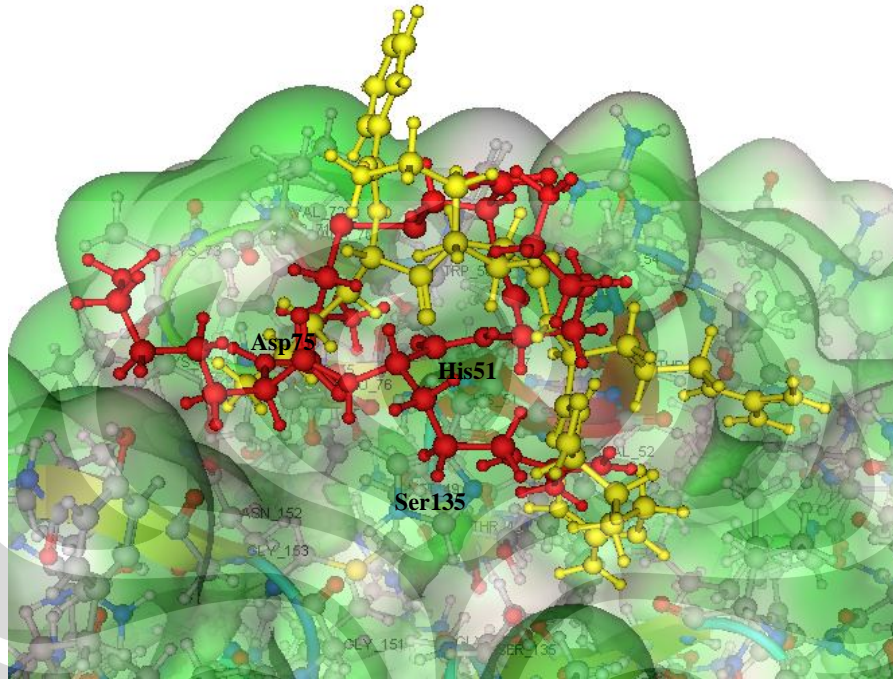
a. *Superimpose* ligan ARR (merah) dengan ligan KRK (kuning)



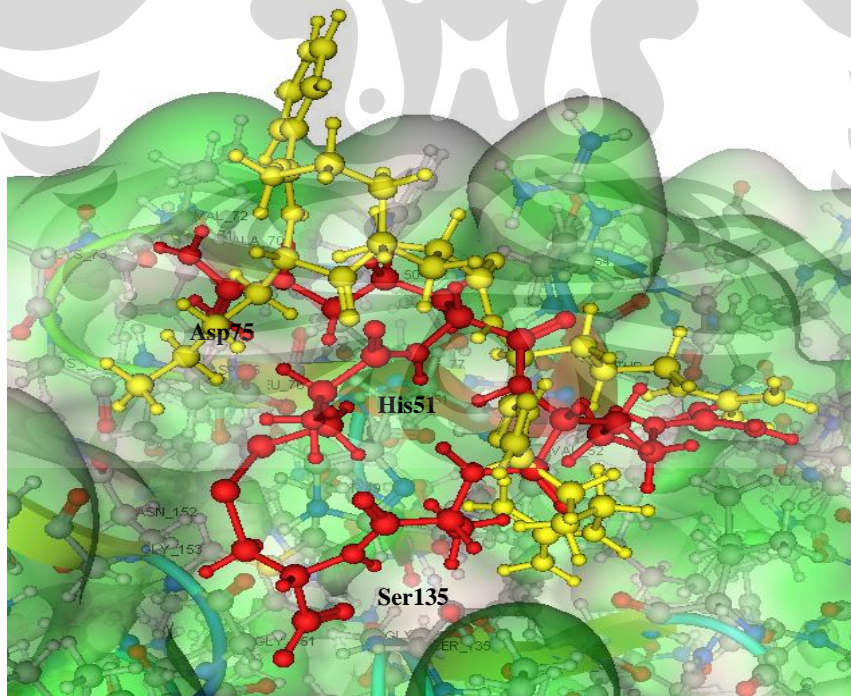
b. *Superimpose* ligan RKR (merah) dengan ligan KRK (kuning)



c. *Superimpose* ligan RKR (merah) dengan ligan standar (kuning)



d. *Superimpose* ligan ARR (merah) dengan ligan standar (kuning)





**Lampiran 13. Bagan Kerja Penelitian**