

**PERANCANGAN PENTAPEPTIDA SIKLIK SEBAGAI INHIBITOR
KOMPETITIF *RNA-DEPENDENT RNA POLYMERASE* VIRUS DENGUE
SECARA *MOLECULAR DOCKING***

ELYANA KARIMAH

0305030174



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

**PERANCANGAN PENTAPEPTIDA SIKLIK SEBAGAI INHIBITOR
KOMPETITIF *RNA-DEPENDENT RNA POLYMERASE* VIRUS DENGUE
SECARA *MOLECULAR DOCKING***

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

ELYANA KARIMAH

0305030174



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

SKRIPSI : PERANCANGAN PENTAPEPTIDA SIKLIK SEBAGAI INHIBITOR
KOMPETITIF *RNA-DEPENDENT RNA POLYMERASE* VIRUS
DENGUE SECARA *MOLECULAR DOCKING*

NAMA : ELYANA KARIMAH

NPM : 0305030174

SKRIPSI INI TELAH DIPERIKSA DAN DISETUJUI

DEPOK, DESEMBER 2009



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

Tanggal lulus ujian sarjana : 16 Desember 2009

Penguji I : Dra. Susilowati, M.Sc.....

Penguji II : Dra. Sri Handayani, M. Biomed.....

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

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, Tuhan Penguasa Alam, Sang Zat Abadi Yang Memiliki Segala Kebaikan, yang telah memberi kesempatan kepada penulis untuk dapat hidup di dunia dan beribadah kepada-NYA. Segala kasih sayang yang tidak terputus, anugerah serta rahmat-Nya yang tak terkira, dan pelajaran hidup yang membuat penulis menjadi manusia yang lebih baik.

Skripsi ini didedikasikan untuk Ayah dan Mamah. Terima kasih untuk segala kasih sayang, pengertian, nasehat, dan pengorbanan yang telah diberikan, walaupun penulis sering membuat kesalahan ataupun bertingkah laku kurang baik. Dan ucapan terima kasih juga untuk Aa (kakak kandung penulis) yang telah menyokong penelitian penulis.

Penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada Prof. Dr. Usman.S.F. Tambunan, selaku pembimbing penelitian yang telah membimbing penelitian serta membuat penulis mengembangkan *soft skill* dalam waktu singkat. Mohon maaf jika selama ini banyak mengecewakan, tetapi penulis selalu berusaha melakukan yang terbaik.

Tak lupa penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada Bapak Drs. Erzi Rizal A selaku pembimbing akademik, Dr. Ridla Bakri, selaku Ketua Departemen Kimia UI, Prof. Sumi Hudyono, Ir. Wiyastuti Samadi, dan

seluruh staf pengajar Departemen Kimia FMIPA UI yang telah memberikan bekal ilmu dengan tulus. Terima kasih juga kepada:

1. Sahabat penulis yang selalu berbagi keceriaan maupun kesedihan: Sepit, TJ, Meta, Hany, Cicil-Saleh, Ecil, Comel (Met, Jey, kalian pasti bisa!).
2. Rekan-rekan penelitian yang selalu berbagi ilmu, kebahagiaan dan kepanikan: Wuri, Egi, dan Agus. Ada saatnya kita akan tertawa bersama bukan karena tertekan.
3. Mbak Dila dan mbak Evi atas diskusinya (sabar, ya mbak!).
4. Teman-teman 2005 yang mengalami nasib serupa: Angi dan Gya.
5. Kak Irwan dan kakaknya wuri yang membantu mendapatkan jurnal.
6. Teman-teman 2005 yang telah lulus dan memberi dorongan untuk segera menyelesaikan penelitian: Rongo, Udin, Angel, Febry, Desty, Pinokio.
7. Teman-teman penelitian lantai 3 dan 4 yang sama-sama mengalami kepanikan pada semester yang pendek ini, makasih atas diskusinya.
8. Para staf departemen kimia yang telah memberikan bantuan selama penelitian khususnya, Mas Hadi dan Bapak Marji.
9. Pak Riza dan Bu Uning yang telah mengizinkan penulis untuk tetap bekerja di edutekh sambil menyelesaikan kuliah.
10. Rekan-rekan edutekh di lantai 1: ka Icha, mbak Tutik, ka Mala, teh Iceu, ka Ayu, dan Eny atas kegembiraan yang kalian berikan di saat penulis

mengalami kepenatan akan penelitian. Dan untuk penghuni lantai 2 dan 3, maaf jika nantinya akan merepotkan (liat nanti, Sak!).

11. Teman-teman Sciencemagz edisi 1 dan 2 yang memberikan suasana baru selain kuliah.

12. Teman-teman kepanitiaan, terutama keluarga besar Tossaka 3rd.

13. Teman-teman di dunia maya Facebook dan Ym yang sering memberikan semangat, terutama Sunny.

Terakhir, terima kasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang membantu penulis selama ini, baik langsung maupun tidak langsung, yang namanya tidak dapat disebut satu-persatu, TERIMA KASIH SEMUA.

Semoga penelitian ini bermanfaat di kemudian hari. Amin.

Penulis

2009

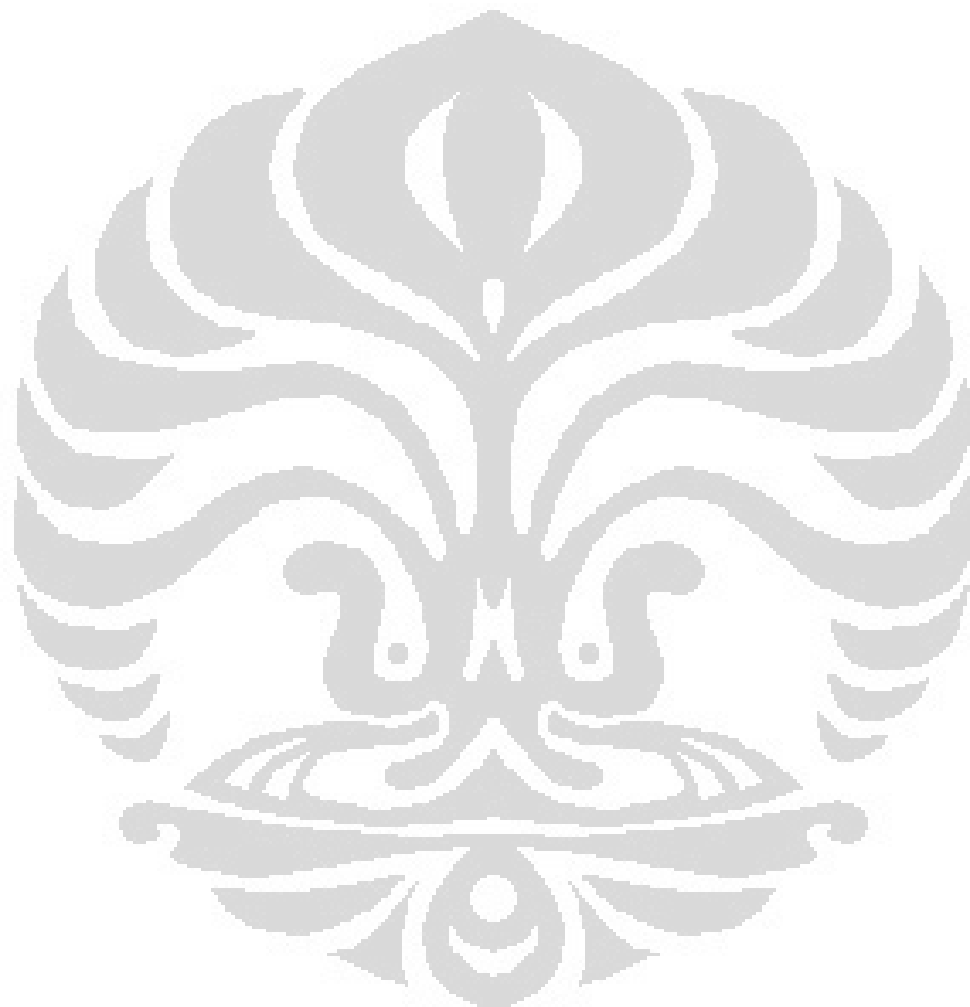
ABSTRAK

Demam berdarah merupakan penyakit yang telah menjadi pandemik di daerah tropis dan subtropis dan hingga saat ini tidak ada vaksin yang dapat digunakan untuk mengobati infeksi akibat virus dengue. Upaya lain untuk dapat menghambat infeksi akibat virus ini, yaitu pengembangan antiviral. Salah satu target antiviral yang potensial adalah enzim *RNA-dependent RNA polymerase* (RdRp), yang berperan dalam proses replikasi RNA virus dengue dan sel manusia tidak memilikinya. Peptida dipilih menjadi inhibitor yang potensial karena memiliki spesifitas dan aktivitas yang tinggi. Untuk meningkatkan kestabilan, peptida dirancang siklik dengan adanya jembatan disulfida. Peptida yang dirancang menggunakan kombinasi aspartat, glutamat, glisin, serin, arginin, dan lisin. Kandidat ligan dianalisis berdasarkan hasil *docking* dan *drugscan*. Ligan dengan energi bebas ikat terendah dan sesuai dengan kriteria obat kemudian dilakukan analisis terhadap interaksinya dengan enzim. Ligan siklik CSGDC yang memenuhi kriteria obat ternyata dapat berikatan dengan sisi aktif enzim yaitu aspartat 533 dan aspartat 633, serta memiliki energi bebas ikat sekitar -29.6122 Kkal/mol. Pengamatan simulasi dinamika molekul pada tahap inialisasi dilakukan untuk melihat perubahan interaksi ligan terhadap enzim. Hasil pengamatan ternyata memperlihatkan bahwa ligan CSGDC masih berinteraksi dengan asam amino aspartat 663.

Kata kunci : *Docking*, *Drugscan*, Enzim RdRp, Inhibitor, Pentapeptida Siklik,
Simulasi Dinamika Molekul, Virus Dengue.

xii+84 hlm; gbr; tab; lamp.

Bibliografi; 40 (1999-2009)



DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	i
ABSTRAK	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I. PENDAHULUAN	1
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1. Sejarah Dengue	7
2.2. Virus Dengue	8
2.3. Daur Hidup Virus Dengue	10
2.4. Protein NS5	11
2.5. Enzim <i>Rna Dependent Rna Polymerase</i>	12
2.6. Inhibitor Enzim	17
2.7. Peptida	20
2.8. Bioinformatika	22
2.9. <i>Drug Discovery</i>	23
2.10. Molecular Modeling	25
2.11. <i>Docking</i>	26

2.12.	Simulasi Dinamika Mmolekul	28
2.13.	<i>Molecular Operating Environment</i>	29
2.14.	Minimisasi	30
BAB III. METODE PENELITIAN		32
3.1.	Pencarian Data Struktur Tiga Dimensi Enzim NS5 <i>RNA-Dependent RNA Polymerase</i> Virus Dengue	32
3.2.	Persiapan Enzim RdRp Virus Dengue	38
3.3.	Perancangan Struktur Tiga Dimensi Ligan Peptida Siklis Sebagai Inhibitor	33
3.4.	Preparasi Ligan Peptida Sebagai Inhibitor	34
3.5.	<i>Docking</i> Ligan Peptida dengan Enzim RdRp	34
3.6.	Simulasi Dinamika Molekul	36
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN		37
4.1.	Pencarian Data Struktur Tiga Dimensi Enzim NS5 <i>RNA-Dependent RNA Polymerase</i> Virus Dengue	37
4.2.	Persiapan Enzim RdRp Virus Dengue	38
4.3.	Perancangan Struktur Tiga Dimensi Ligan Peptida Siklis Sebagai Inhibitor	40
4.4.	Persiapan Ligan Peptida Sebagai Inhibitor	42
4.5.	<i>Docking</i> Enzim dan Ligan Kandidat	42
4.6.	Analisis Simulasi <i>Docking</i> Enzim dan Ligan Kandidat	45
4.6.1	Analisis Ikatan Energi Bebas Ikatan ($\Delta G_{binding}$)	45

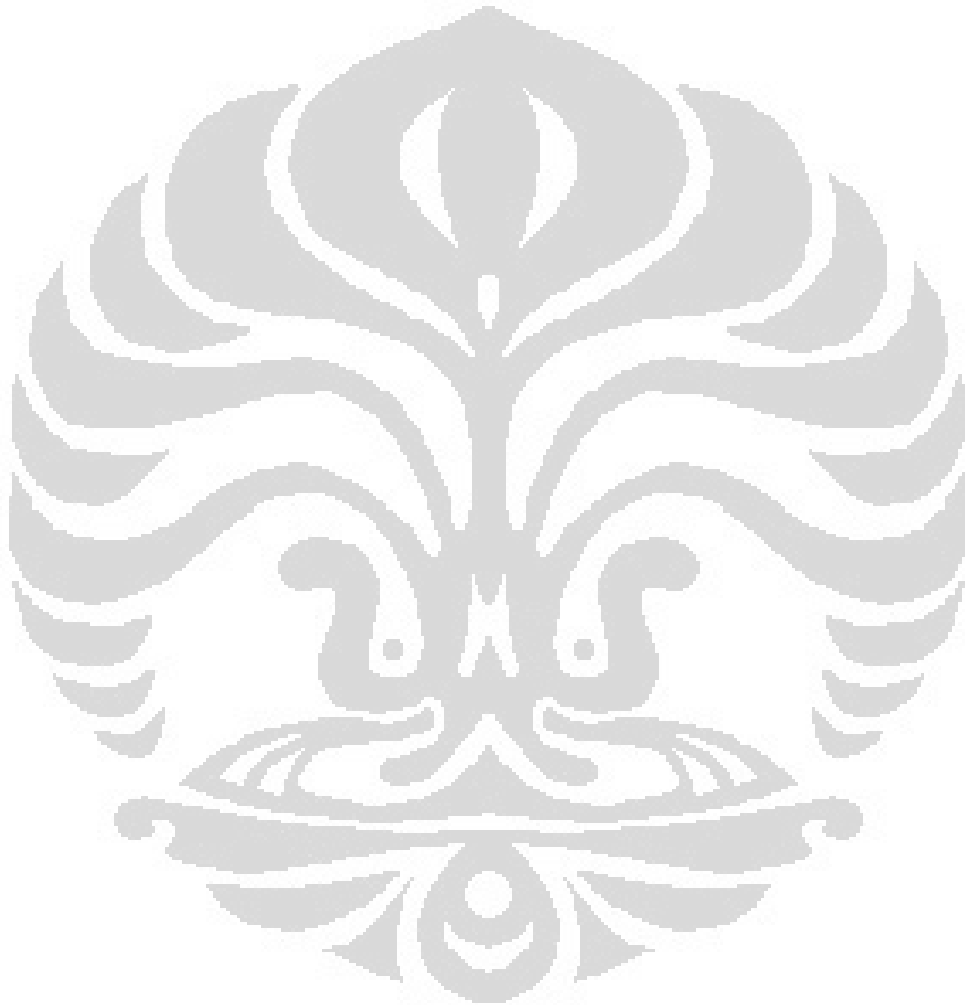
4.6.2 <i>Drugscan</i> Ligan Kandidat	47
4.6.3 Analisis Kontak Residu Terhadap Ligan Kandidat	51
4.6.4 Analisis Interaksi Ligan Kandidat Terhadap Enzim RdRp	52
4.7. Simulasi Dinamika Molekul	55
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	58
5.1. Kesimpulan	59
5.2. Saran	60
DAFTAR PUSTAKA	61
LAMPIRAN	67



DAFTAR GAMBAR

1. Virus dengue	8
2. Pemetaan genom virus dengue	9
3. Daur hidup virus dengue	10
4. Proses replikasi virus dengue	13
5. Struktur enzim RdRp virus dengue	14
6. Proses katalisis RdRp yang melibatkan dua asam amino aspartat motif a dan c	15
7. Posisi non-katalitik ion pada enzim RdRp WNV	16
8. tP <i>moiety</i> yang berikatan dengan 3'dGTP	17
9. Tahapan <i>drug discovery</i> dan <i>development</i>	24
10. Proses <i>docking</i>	28
11. Tahapan simulasi dinamika molekul	29
12. Tampilan muka MOE 2008.10	30
13. Hasil protonasi enzim dengan <i>protonate 3D</i>	39
14. Posisi ligan CDEEC dan CSGDC pada reseptor	52
15. Interaksi ligan CDEEC dan CSGDC	53
16. Interaksi ligan CDEEC dan CSGDC setelah 100 piko detik	57
17. Grafik energi potensial sistem kompleks enzim-CDEEC pada inisialisasi SDM selama 100 piko detik	84

18. Grafik energi potensial sistem kompleks enzim-CSGDC pada inisialisasi SDM selama 100 piko detik 84



DAFTAR TABEL

1. Kelebihan dan kekurangan penggunaan peptida sebagai obat	20
2. Tabel data 17 ligan dengan energi bebas pengikatan terendah	46
3. Tabel data 15 ligan dengan energi bebas pengikatan terendah dan ligan standar DEE serta spesifikasinya terhadap RO5	48
4. Tabel data kontak residu CSGDC dan CDEEC terhadap enzim	51



DAFTAR LAMPIRAN

1. Bagan kerja	67
2. Daftar asam amino dan kodenya	68
3. Hasil <i>docking</i>	69
4. Hasil <i>drugscan</i>	75
5. Interaksi ligan CDEEC hasil <i>docking</i>	76
6. Interaksi ligan CSGDC hasil <i>docking</i>	77
7. Pengamatan pergerakan kompleks enzim-ligan pada simulasi dinamika molekul	83
8. Grafik energi potensial sistem pada inialisasi simulasi dinamika molekul	84

BAB I

PENDAHULUAN

Virus dengue (DENV) merupakan bagian dari *flavivirus*, sebuah kelompok yang terdiri dari 70 virus, dan sebagian besar (termasuk *west nile virus* (WNV), *yellow fever virus*, *japanese encephalitis virus* (JEV), *tick-borne encephalitis virus* (TBEV), dan *Australian encephalitis virus*) berkaitan dengan penyakit pada manusia (Umareddy, 2007). Infeksi akibat DENV merupakan masalah kesehatan umum pada daerah tropik dan subtropik dengan 100 juta orang terinfeksi tiap tahunnya (Yennamalli *et al.*, 2009).

Infeksi akibat virus dengue bisa tidak menunjukkan gejala atau menunjukkan gejala, dengan tingkat keganasan dan tanda yang berbeda. Waktu inkubasi dari infeksi virus dengue adalah 3-8 hari.

Bentuk penyakit demam berdarah yang paling umum, *dengue fever* (DF), sering dikarakteristikan seperti gejala flu normal (Tomlinson *et al.*, 2009). Pada beberapa kasus, penyakit ini mungkin berubah dan memberikan efek yang lebih hebat seperti pada *dengue hemorrhagic fever* (DHF) dan/atau *dengue shock syndrome* (DSS) (Matheus *et al.*, 2005). Pada kebanyakan kasus, kematian merupakan hal utama yang dikaitkan akibat tingkat keganasan penyakit bertambah (Tomlinson *et al.*, 2009).

Virus dengue memiliki empat serotipe antigen yang berbeda, yaitu DENV-1, DENV-2, DENV-3, dan DENV-4. Infeksi dari salah satu serotipe

tidak memberikan imunitas terhadap infeksi dari serotipe yang lainnya. Infeksi dari tipe yang berbeda telah menunjukkan peningkatan terhadap replikasi virus dan mengarah kepada DHF dengan adanya *antibody-dependent enhancement* (ADE). ADE berkaitan dengan peningkatan keganasan penyakit dari infeksi virus, termasuk *flavivirus* seperti JEV dan WNV (Umareddy, 2007).

Usaha untuk mengembangkan vaksin bagi dengue telah dilakukan secara kontinyu sejak puluhan tahun yang lalu. Permasalahan utamanya adalah ketidakmampuan vaksin untuk melindungi secara serempak dari keempat serotipe yang berbeda (Sampath & Padmanabhan, 2009). Hingga saat ini, belum ada obat antiviral atau vaksin yang dapat digunakan untuk melawan infeksi dengue, meskipun vaksin dengue telah memasuki uji klinis fase 3.

Usaha penemuan dan pengembangan obat (*drug discovery and development*) untuk DENV dan virus patogen lainnya harus dapat mengatasi beberapa hambatan seperti spesifisitas, *efication*, *safety*, dan resistensi. Beberapa hambatan tersebut harus dapat diatasi, sebelum lisensi obat untuk mengobati infeksi virus dapat dikeluarkan (Tomlinson *et al.*, 2009).

Genom RNA virus dengue memiliki panjang sekitar 10,7 kb dan merupakan struktur *cap* tipe I metil guanosin pada ujung 5-nya tetapi tanpa ekor poliadenil. RNA genom ditranslasi menjadi poliprotein tunggal, yang kemudian dipecah menjadi tiga protein struktural (C-prM-E) dan tujuh protein

nonstruktural (NS1-NS2A-NS2B-NS3-NS4A-NS4B-NS5) oleh protease virus maupun protease sel (Yap *et al.*, 2007).

Siklus hidup virus dengue terbagi menjadi empat tahap utama, dan masing-masing tahap dapat dijadikan pertimbangan untuk pengembangan obat. Pada tahap 1, virus akan masuk dan menginfeksi sel inang dengan bantuan protein E. Protein E ini bisa dijadikan sebagai target yang akan menghambat bergabungnya *envelop* virus dengan vesikel inang. Pada tahap 2, terjadi proses pematangan protein individu virus yang dibantu protease. Protease dapat dijadikan sebagai target, sehingga proses translasi dapat dihambat. Tahap 3 adalah proses sintesis RNA virus oleh polimerase virus. Proses ini dapat dicegah dengan menghambat kerja helikase dan *RNA-dependent RNA polymerase* (RdRp) virus. Dan terakhir, pada tahap 4, proses pematangan dan pelepasan partikel virus yang berinfeksi, yang dibantu oleh protein sel inang (misal, furin dan signalase). Tahap ini dapat dicegah dengan menghambat protein furin dan signalase, sehingga partikel virus yang berinfeksi tidak matang (Qi *et al.*, 2008).

RdRp merupakan salah satu target obat yang cukup bagus disebabkan aktifitas polimerase dibutuhkan dalam proses replikasi virus, dan sel manusia tidak memiliki aktifitas RdRp. Selain itu, inhibitor yang telah digunakan secara klinis terhadap HIV *reverse transcriptase* (RT), polimerase virus hepatitis B, dan polimerase virus herpes, menjadikan polimerase virus sebagai target yang valid untuk pengobatan (Malet *et al.*, 2008).

Secara umum, inhibitor polimerase dapat dibagi menjadi dua kategori berdasarkan struktur kimia dan mekanisme kerjanya, yaitu inhibitor nukleosida analog (NI) dan inhibitor non-nukleosida analog (NNI). NI bekerja dengan menyerang sisi aktif dari polimerase (Malet, *et al*, 2008). Beberapa molekul yang telah dilaporkan sebagai NI *flavivirus* RdRp, yaitu GTP analog 3'dGTP, ddGTP, 3'-dioxolane 3'dGTP, dan 2'-O-metil-GTP menunjukkan nilai mikromolar yang rendah (IC_{50}) secara *in vitro* terhadap aktifitas RdRp DENV-2 dengan menggunakan poli(rC) sebagai *template*. Senyawa kedua, NNI, akan berikatan pada permukaan alosterik polimerase. Satu senyawa, ammonium-21-tungsto-9-antimonate, yang juga dinamakan HPA 23, dilaporkan diduga sebagai NNI terhadap RdRp DENV-2 (Yap *et al.*, 2007).

Berdasarkan keterangan di atas, jumlah penemuan inhibitor RdRp, terhadap NI yang menyerang sisi aktif lebih banyak. Salah satu argumen yang menyebabkan inhibitor sisi aktif lebih sering digunakan, yaitu kemungkinan berkembangnya mutasi yang resisten lebih rendah dibandingkan inhibitor terhadap sisi alosterik (Sampath & Padmanabhan, 2009).

Penelitian lain terhadap enzim replikasi adalah yang dilakukan oleh Morris *et al*. Pada penelitiannya, Morris *et al* telah mencari inhibitor HIV RT yang memegang peranan penting dalam proses replikasi HIV. Morris *et al* tidak menggunakan NNI maupun NI, tetapi menggunakan peptida sebagai inhibitor. Hal ini disebabkan, pada penelitian sebelumnya yang menggunakan nukleosida analog maupun non-nukleosida analog, memiliki keterbatasan.

Keterbatasan yang timbul yaitu toksisitas dan timbulnya galur yang resisten. Untuk mengatasi keterbatasan tersebut, Morris et al menghasilkan inhibitor peptida (yang diberi nama p7) yang sangat menjanjikan sebagai agen antivirus (Morris *et al.*, 1999). Agopian *et al* juga telah mengidentifikasi inhibitor peptida yaitu Paw yang dapat menginhibisi HIV RT dengan cara mengubah dinamika *thumb/finger* dan menjaga RT pada konformasi non-proses (Agopian *et al.*, 2009).

Penelitian sebelumnya, yang telah dilakukan oleh Bian pada 2009 secara *molecular mechanic*, adalah mencari inhibitor pada tahap 3, yaitu inhibitor protein NS5 RdRp berbasis peptida. Tiga residu asam amino utama yang digunakan sebagai inhibitor pada peptida siklis mengandung muatan total negatif. Hal ini didasarkan pada muatan tiga residu yang berperan pada sisi pengikatan 3'dGTP, yaitu ser-710, arg-729, dan arg-737. Ketiga residu ini merupakan residu yang lestari pada virus RNA untai positif, yang diketahui secara *de novo* digunakan pada inisiasi proses replikasi, termasuk DENV-1 hingga 4, YFV, JEV, dan WNV (Yap *et al.*, 2007).

Penelitian lainnya, yang berbasis muatan total dari enzim, adalah yang dilakukan oleh Yagi *et al* untuk mencari inhibitor non-kompetitif terhadap *watersoluble quino protein glucose dehydrogenase* (PQQGDH) dengan residu pada sisi alosterik terdiri dari arg-148, arg-406, arg408, arg-45, dan lis-28. Pada penelitian itu dihasilkan kandidat peptida linear sebagai inhibitor, SERG, dari tujuh residu asam amino yang dipilih yaitu arginin, lisin, aspartat, glutamat, serin, prolin, dan glisin (Yagi *et al.*, 2007).

Keunggulan penggunaan peptida sebagai kandidat obat dibandingkan dengan obat kimia lain dengan massa molekul yang rendah, yaitu spesifisitasnya yang tinggi, rendahnya kontak dengan obat lain, akumulasi yang rendah pada jaringan, toksisitas yang rendah, dan memiliki diversitas biologi. Tetapi, karena proses sintesis protein membutuhkan biaya yang sangat besar, *high throughput screening* (HTS) terhadap sejumlah besar peptida dari *library* menjadi tidak efisien. Oleh karena itu, diperlukan suatu prosedur yang dapat mengurangi usaha untuk *screening* ligan peptida. Berdasarkan hal tersebut, maka komputasional berbasis struktur (*structure based*) untuk perancangan obat merupakan metodologi yang efektif (Yagi *et al.*, 2007).

Berdasarkan keterangan di atas, maka dilakukan penelitian yang bertujuan untuk merancang inhibitor kompetitif berupa pentapeptida siklik terhadap enzim RdRp virus dengue secara *molecular docking*. Pada pentapeptida siklik ini, tiga asam amino utamanya merupakan kombinasi dari enam jenis residu asam amino yaitu arginin, lisin, aspartat, glutamat, serin, dan glisin. Kombinasi dari enam asam amino kandidat ini diharapkan dapat berikatan dengan tiga residu sisi pengikatan 3'dGTP.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

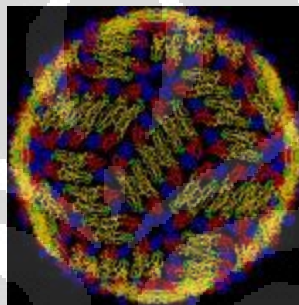
2.1. Sejarah Dengue

Asal kata dengue didapatkan dari frase Swahili “*ka dinga pepo*” (tiba-tiba terserang penyakit) dan telah digunakan pada tahun 1801 untuk menggambarkan penyakit *febrile* akut dengan rasa sakit pada tulang, pendarahan hebat, dan penyakit kuning. Virus dengue ditemukan berhubungan dengan penyakit ini oleh Ashburn dan koleganya. Serotipe 1 dan 2 dari virus dengue ditemukan bersama dengan munculnya imunitas homotipe, mengikuti infeksi yang terjadi selama perang dunia kedua. Serotipe 3 dan 4 diidentifikasi pada epidemik yang terjadi di Manila 1956 (Umareddy, 2007).

Dengue terjadi di Asia utara dan tenggara, Amerika utara dan tengah, Afrika, Caribbean, dan Pasifik dan telah menjadi endemik pada lebih dari 90 negara tropis (Umareddy, 2007). Hingga kini, infeksi dengue merupakan infeksi virus utama yang disebarkan oleh nyamuk dengan kasus sekitar 50-100 juta tiap tahunnya dan sekitar 2,5 milyar orang beresiko terkena infeksi. WHO memperkirakan bahwa 500.000 kasus dengue (sebagian besar anak-

anak) membutuhkan perawatan rumah sakit tiap tahunnya dan 2,5-5% dari kasus ini bersifat fatal (Umareddy, 2007).

2.2. Virus Dengue (DENV)

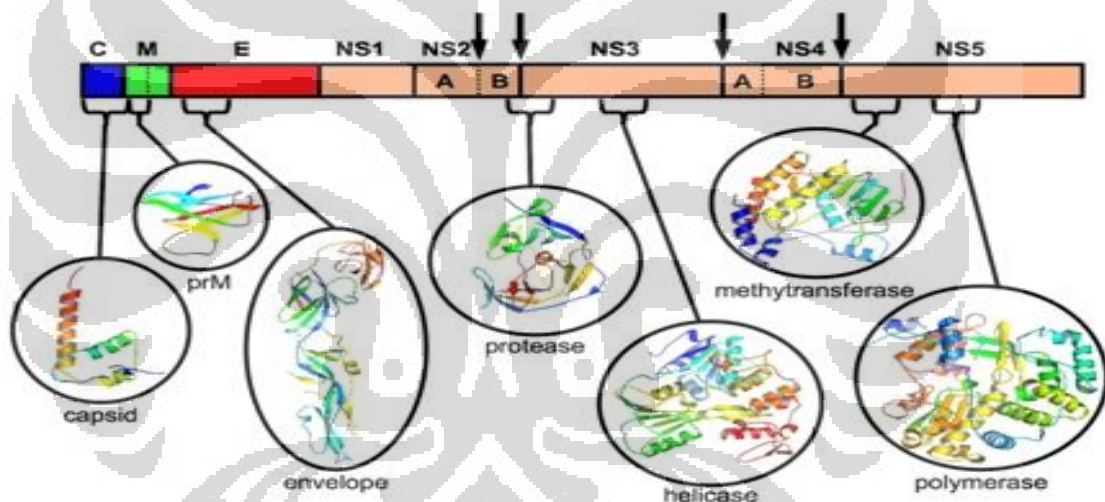


Gambar 1. Virus dengue
[Sumber: Qi et al., 2008]

Virus dengue (DENV) merupakan bagian dari *flavivirus*, sebuah kelompok yang terdiri dari 70 virus, dan sebagian besar (termasuk *west nile virus* (WNV), *yellow fever virus*, *japanese encephalitis virus* (JEV), *tick-borne encephalitis* (TBEV) dan *Australian encephalitis virus*) berkaitan dengan penyakit pada manusia (Umareddy, 2007). Virus dengue terbagi menjadi empat serotipe antigen yang berbeda, yaitu DENV-1, DENV-2, DENV-3 dan DENV-4. Infeksi dari salah satu serotipe tidak memberikan imunitas terhadap serotipe yang lainnya dan infeksi dari tipe yang berbeda telah menunjukkan peningkatan terhadap replikasi virus dan mengarah kepada DHF dengan adanya *antibody-dependent enhancement* (ADE). ADE berkaitan dengan

peningkatan keganasan penyakit dari infeksi virus termasuk *flavivirus* seperti JEV dan WNV (Umareddy, 2007).

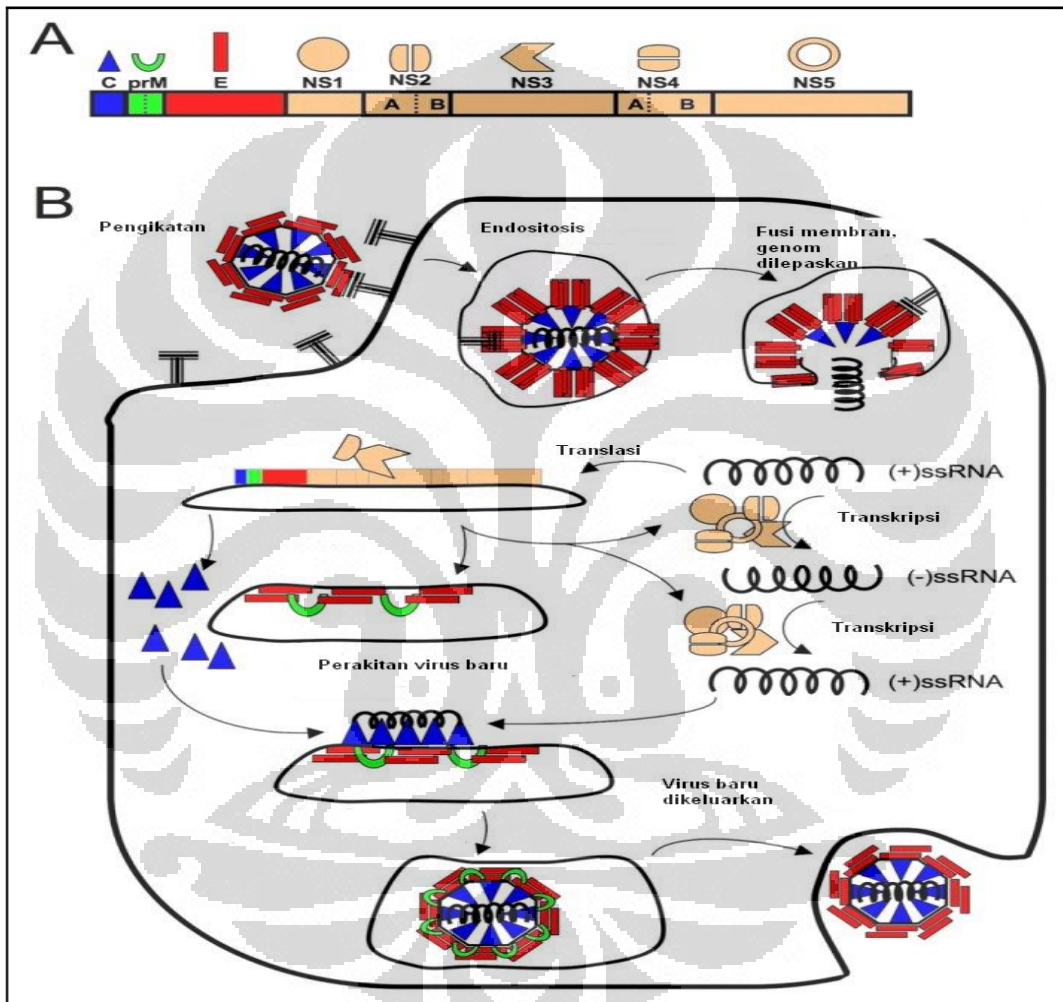
Genom RNA dengue memiliki panjang sekitar 10,7 kb dan mengandung struktur *cap* tipe I metil guanosin pada ujung 5-nya tetapi tanpa ekor poliadenil. RNA genom (Gambar 2) ditranslasi menjadi poliprotein tunggal, yang kemudian dipecah menjadi tiga protein struktural (C-prM-E) dan tujuh protein nonstruktural (NS1-NS2A-NS2B-NS3-NS4A-NS4B-NS5) oleh protease virus maupun protease sel (Yap *et al.*, 2007).



Gambar 2. Pemetaan RNA genom virus dengue
[Sumber: Tomlinson *et al.*, 2009]

Protein NS5 memiliki aktifitas metiltransferase (MTase) dan *RNA-dependent RNA polymerase* (RdRp). Bagian N-terminal dari NS5 mengkode MTase dan mengandung aktifitas guaniltransferase. Fungsinya adalah memetilasi dan menambahkan *cap* RNA virus yang berguna untuk replikasi virus (Umareddy, 2007).

2.3. Daur hidup Virus Dengue



Gambar 3. Daur hidup virus dengue
[Sumber: Tomlinson *et al.*, 2009]

Gambar 3 menerangkan siklus hidup virus dengue yang dimulai dengan pelekatan virus pada permukaan sel dimediasi oleh protein E. Virus kemudian masuk ke dalam sel dengan bantuan reseptor secara endositosis.

Adanya pH yang rendah pada bagian endosom memacu penggabungan membran sel virus dan sel inang yang diorganisasi oleh protein E, dan mengarah pada pelepasan nukleokapsid dan RNA virus ke sitoplasma. RdRp menghasilkan RNA untai tunggal negatif yang digunakan sebagai *template* untuk memproduksi RNA untai tunggal positif genom yang baru (Umareddy, 2007). RNA untai negatif dapat segera terdeteksi 3 jam setelah terinfeksi (Sampath & Padmanabhan, 2009).

Translasi dari RNA menghasilkan poliprotein yang di translasikan oleh serin protease virus. NS2B/NS3, protease inang, termasuk signalase dan furin akan menghasilkan 3 protein struktural dan 7 protein non-struktural dengan urutan C-prM-E-NS1-NS2A-NS2B-NS3-NS4A-NS4B-NS5. Partikel virus yang baru ditransportasikan melalui jaringan trans-golgi dan keluar dari sel secara eksositosis (Umareddy, 2007).

2.4. Protein NS-5

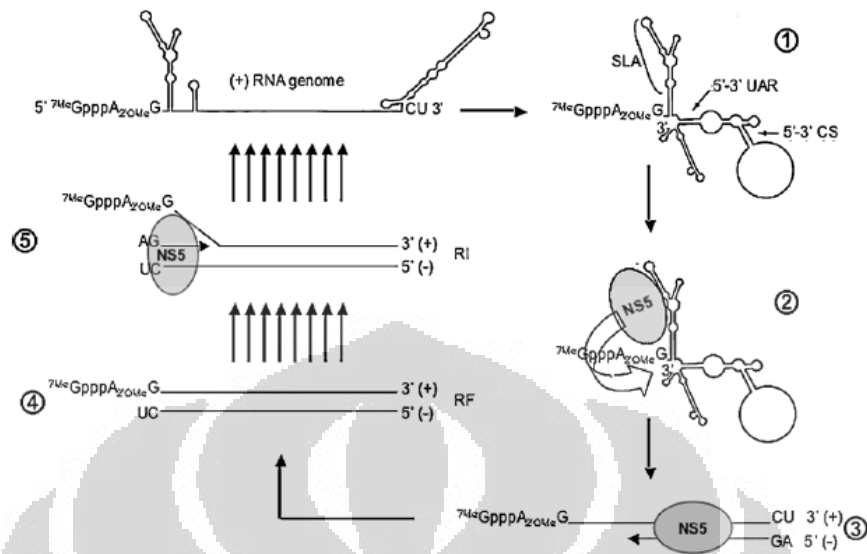
NS5 merupakan protein DENV terbesar dengan massa molekul 104 kDa. NS5 juga merupakan protein virus yang paling lestari karena memiliki minimum 67% sekuens asam amino yang sama terhadap keempat serotipe DENV (Yap *et al.*, 2007). NS5 mengandung aktifitas ujung-N *RNA cap-processing* dan sebuah aktifitas ujung-C RdRp. Daerah ujung-N (residu 320-405) mengandung dua *nuclear localization sequences* (NLS), sebuah sisi

pengikatan β -importin (aa 320-368) dan sebuah sisi interaksi dengan NS3. NS5 dapat dipisahkan dari bagian membran sehingga dapat terlihat hanya bagian RdRp yang dibutuhkan dalam replikasi virus (Umareddy, 2007).

Dua struktur kristal sinar-X RdRp virus dengue telah didapatkan (Yap *et al.*, 2007) dan telah memberikan pengetahuan terhadap fungsi struktur dan masukan untuk membuat perancangan inhibitor RdRp (Malet *et al.*, 2008). Inhibitor polimerase sejauh ini dilaporkan sedang diteliti oleh beberapa perusahaan farmasi (<http://www.bloomberg.com/apps/news?pid=newsarchive&sid=aDzYfhgBydAQ>, diakses 4 oktober 2009, 7:40 WIB).

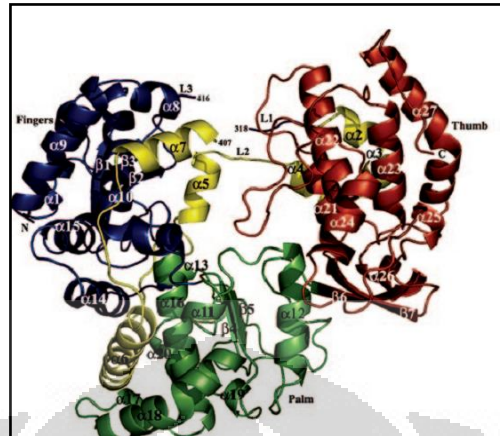
2.5. Enzim *RNA-dependent RNA polymerase*

RNA-dependent RNA polymerase (RdRp), atau RNA replikase, adalah enzim yang mengatalisis replikasi RNA dari template RNA (**Gambar 4**). Proses ini bertolak belakang dengan RNA polimerase, yang mengatalisis transkripsi RNA dari template DNA (http://en.wikipedia.org/wiki/RNA-dependent_RNA_polymerase, diakses 26 September 2009. 19:28 WIB).



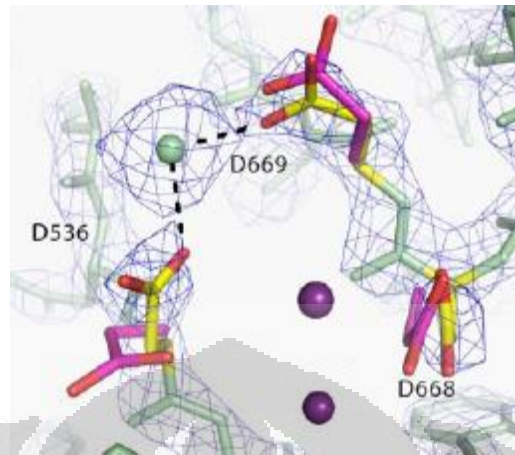
Gambar 4. Proses replikasi virus dengue
[Sumber: Malet *et al.*, 2008]

RdRp virus memiliki ciri-ciri spesifik yang membedakan mereka dari konformasi *right-handed* “U-shaped” yang diadopsi oleh DNA polimerase (Gambar 5). RdRp DENV-3 memiliki ukuran keseluruhan dimensi mendekati 65x60x40 Å. Strukturnya mengadopsi *right-hand conformation* yang terdiri dari domain/daerah *fingers*, *palm*, dan *thumb* yang merupakan karakteristik dari struktur polimerase, tetapi terdapat daerah NLS yang diamati memegang peranan penting pada formasi struktur. Daerah ujung asam amino yang mengandung sekuens β NLS dan α/β NLS (residu 316-415) memberi ciri yang khas terhadap RdRp DENV, dan sekuens ini tidak terdapat pada polimerase HCV maupun BVDV (*bovine viral diarrhea virus*) (Yap *et al.*, 2007).



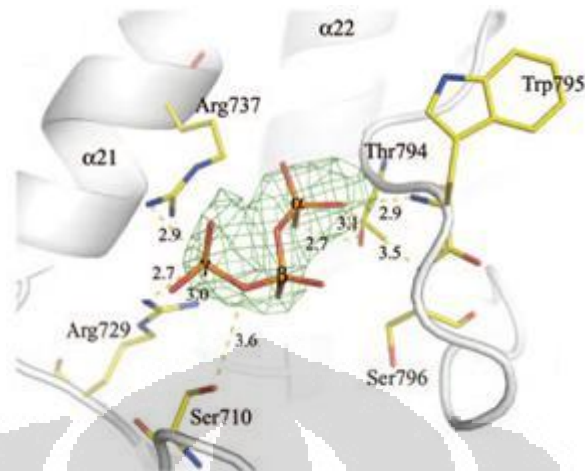
Gambar 5. Struktur enzim RdRp virus dengue
[Sumber: Yap *et al.*, 2007]

Subdomain *palm* mengandung sisi aktif dan merupakan struktur yang paling lestari pada seluruh struktur polimerase yang diketahui. Subdomain *palm* RdRp *flavivirus* tersusun atas dua anti-paralel β -strand yang dikelilingi oleh 8 α -helikase. Secara khusus, dua asam aspartat yang dimiliki oleh motif A (aa 533 pada DENV-3) dan motif C (aa 663) menunjukkan peranan penting dalam mekanisme katalitik (Gambar 6). Kedua asam aspartat ini juga mengoordinat ion logam yang terlibat dalam proses katalisis (Malet *et al.*, 2008).



Gambar 7. Posisi non-katalitik ion pada enzim RdRp WNV. Ion Mg^{2+} (hijau) terletak tidak pada posisi ion katalitik (ungu).
[Sumber: Malet *et al.*, 2007]

Pada penelitiannya, Yap *et al* menuturkan bahwa konsentrasi GTP yang tinggi dibutuhkan dalam proses inisiasi secara *de novo* oleh RdRp DENV, dengan mengabaikan ujung 3' pada template RNA. Struktur kompleks DENV RdRp dan nukleosida analog 3'dGTP dapat memberikan gambaran terhadap sisi pengikatan GTP dan efeknya terhadap inisiasi secara *de novo*. Pada RdRp DENV-3, *triphosphate (tP) moieties* dari 3'dGTP berada pada kordinat ser-710, arg-729, and arg-737 (Gambar 8). Ketiga residu ini merupakan residu yang lestari pada virus RNA untai positif yang diketahui secara *de novo* digunakan pada inisiasi proses replikasi, termasuk DENV- 1 hingga 4, YFV, JEV, dan WNV (Yap *et al.*, 2007).



Gambar 8. tP moiety yang berikatan dengan 3'dGTP
[Sumber: Yap *et al.*, 2007]

2.6. Inhibitor Enzim

Inhibitor enzim adalah molekul yang berikatan dengan enzim dan mengurangi aktifitasnya. Penghambatan aktifitas enzim dapat membunuh patogen atau memperbaiki metabolisme yang tak seimbang. Oleh karena itu, banyak obat yang dikembangkan merupakan inhibitor enzim. Pengikatan dari suatu inhibitor dapat menghalangi substrat untuk masuk ke sisi aktif enzim ataupun menghalangi enzim dari reaksi katalisis

(http://en.wikipedia.org/wiki/Enzyme_inhibitor, diakses 26 September 2009.

12:15 WIB).

Inhibitor enzim bisa bersifat reversibel maupun ireversibel. Inhibitor ireversibel biasanya bereaksi dengan enzim dan mengubahnya secara

kimiawi. Inhibitor ini memodifikasi residu asam amino kunci yang dibutuhkan dalam aktifitas enzimatik. Bertolak belakang dengan inhibitor ireversibel, inhibitor reversibel berikatan secara non-kovalen dan menghasilkan proses inhibisi yang berbeda tergantung apakah inhibitor ini berikatan dengan enzim, kompleks enzim-substrat, atau keduanya

(http://en.wikipedia.org/wiki/Enzyme_inhibitor, diakses 26 September 2009. 12:15 WIB).

Inhibitor reversibel berikatan dengan enzim dengan interaksi non-kovalen seperti ikatan hidrogen, interaksi hidropobik, dan ikatan ionik. Ikatan lemah yang ganda antara inhibitor dengan sisi aktif bergabung untuk menghasilkan ikatan yang spesifik dan kuat. Bertolak belakang dengan interaksi substrat dan inhibitor ireversibel, inhibitor reversibel tidak mengalami reaksi kimia ketika berikatan dengan enzim dan dapat dengan mudah dihilangkan dengan pelarutan atau dialisis

(http://en.wikipedia.org/wiki/Enzyme_inhibitor, diakses 26 September 2009. 12:15 WIB).

Inhibisi reversibel terbagi menjadi empat jenis. Mereka diklasifikasikan berdasarkan efek variasi konsentrasi substrat enzim pada inhibitor

(http://en.wikipedia.org/wiki/Enzyme_inhibitor, diakses 26 September 2009. 12:15 WIB).

- Inhibisi kompetitif, yaitu saat substrat dan inhibitor tidak bisa berikatan dengan enzim pada waktu yang bersamaan. Hal ini terjadi biasanya terjadi pada inhibitor yang memiliki afinitas pada sisi aktif enzim tempat

substrat berikatan. Proses inhibisi ini dapat terjadi akibat adanya persaingan antara substrat dengan inhibitor. Inhibitor kompetitif biasanya mempunyai bentuk yang hampir serupa dengan substrat yang asli (http://en.allexperts.com/e/e/en/enzyme_inhibitor.htm, diakses 26 September 2009. 15:04 WIB).

- Inhibisi campuran, yaitu saat inhibitor dapat berikatan dengan enzim, bersamaan dengan substrat. Walau demikian, pengikatan inhibitor memberikan dampak terhadap substrat dan sebaliknya. Inhibitor tipe ini dapat dikurangi dengan meningkatkan konsentrasi dari substrat. Meskipun terdapat kemungkinan bagi inhibitor campuran berikatan pada sisi aktif, tetapi proses inhibisi dapat juga terjadi akibat ikatan pada sisi alosterik. Ketika inhibitor berikatan dengan sisi alosterik maka dia akan merubah bentuk konformasi tiga dimensi enzim sehingga afinitas substrat terhadap sisi aktif berkurang (http://en.allexperts.com/e/e/en/enzyme_inhibitor.htm, diakses 26 September 2009. 15:04 WIB).
- Inhibisi non-kompetitif merupakan bagian dari inhibisi campuran dan pengikatan inhibitor tidak dipengaruhi oleh pengikatan substrat (http://en.allexperts.com/e/e/en/enzyme_inhibitor.htm, diakses 26 September 2009. 15:04 WIB).
- Inhibisi unkompetitif, yaitu ketika inhibitor hanya akan berikatan pada kompleks enzim-substrat, dan tidak dapat berikatan pada enzim bebas.

Komplek EIS secara katalitik menjadi tidak aktif. Mode inhibisi ini sangat jarang dan menyebabkan pengurangan nilai V_{\max} dan K_m

(http://en.allexperts.com/e/e/en/enzyme_inhibitor.htm. diakses 26 September 2009. 15:04 WIB).

Konstanta inhibitor (K_i) adalah konstanta disosiasi dari kompleks enzim-inhibitor dan sebanding dengan K_s . Sehingga semakin besar nilai K_i mengindikasikan afinitas yang rendah dan sebaliknya
(<http://www.everythingbio.com/glos/definition.php?word=inhibitor%20constant>, diakses 27 September 2009. 17:29 WIB).

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

2.7. Peptida

Peptida adalah molekul yang terdiri dari dua atau lebih asam amino. Peptida lebih kecil dibandingkan dengan protein, yang juga terdiri dari asam amino. Molekul yang cukup kecil untuk disintesis dari unsur-unsur asam amino, berdasarkan perjanjian, disebut peptida, bukan protein. Batasan dari peptida adalah sekitar 50 asam amino. Berdasarkan dari jumlah asam aminonya, peptida dapat disebut dipeptida, tripeptida, tetrapeptida, dan seterusnya (<http://www.medterms.com/script/main/art.asp?articlekey=24643>, diakses 26 September 2009. 20:44 WIB).

Ikatan peptida merupakan ikatan kimia yang dibentuk antara dua molekul ketika gugus karboksil molekul bereaksi dengan gugus amino molekul lain. Reaksi ini menghasilkan molekul air. Ikatan peptida dianggap sebagai reaksi sintesis dehidrasi atau reaksi kondensasi dan sering terjadi antara asam amino. Ikatan CO-NH yang terbentuk dari reaksi ini adalah ikatan peptida dan molekul yang terbentuk disebut amida. Polipeptida dan protein merupakan asam amino yang berikatan melalui ikatan peptida (http://www.iscid.org/encyclopedia/Peptide_Bond, diakses 26 September 2009. 21:26 WIB).

Penelitian mengenai peptida untuk perancangan dan penemuan obat merupakan bidang yang paling menjanjikan dalam pengembangan obat baru. Lebih dari 140 peptida digunakan sekarang dan lebih dari 400 peptida memasuki fase praklinis dunia dengan rata-rata pertumbuhan dalam setahunnya lebih dari 15% (Hüther & Dietrich, 2007). Sekuen peptida merupakan bagian dari protein, dan mereka berperan terhadap interaksi pengenalan dan aktifitas biologis molekular. Inhibisi terhadap interaksi protein-protein oleh peptida dan pengembangan peptida untuk menghasilkan molekul kecil, merupakan tujuan utama bidang ini, yang diikuti oleh beberapa tokoh terkenal. Walau demikian, peptida memiliki keterbatasan yaitu secara metabolis mereka tidak stabil disebabkan pemecahan oleh protease dan memiliki *bioavailability* yang rendah (<http://www.peptideguide.com/peptides-drug-discovery.html>, diakses 26 September 2009. 13:05 WIB).

Tabel 1. Keuntungan dan kerugian penggunaan peptida sebagai obat

Keuntungan	Kerugian
<ul style="list-style-type: none"> • ukuran kecil • aktifitas tinggi • spesifitas tinggi • rendahnya kontak dengan obat lain • immunogenisitas • toksisitas rendah • diversitas 	<ul style="list-style-type: none"> • stabilitas yang rendah dalam tubuh • bioavailabilitas yang rendah secara oral • membutuhkan suntikan • penghantaran ke sel yang rendah

[Sumber: Alexandra Hüther dan Ursula Dietrich, 2007]

2.8. Bioinformatika

Bioinformatika merupakan bagian dari sains yang merupakan gabungan dari biologi, komputer sains, dan teknologi informasi untuk membentuk suatu disiplin ilmu. Pada permulaan “revolusi genom”, perhatian bioinformatik adalah membuat dan mengatur *database* (data penyimpanan) informasi biologis, seperti nukleotida dan sekuens asam amino.

Pengembangan dari *database* ini tidak hanya berkaitan dengan persoalan perancangan, tetapi juga pengembangan lebih kompleks sehingga peneliti dapat melakukan baik pengambilan data sebaik memasukkan data atau

memperbaiki data

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/About/primer/bioinformatics.html>, diakses 5 Juli 2009, 16:07).

Informasi ini harus dikombinasikan untuk menghasilkan gambaran yang komprehensif dari aktifitas selular normal sehingga peneliti dapat mempelajari bagaimana aktifitas selular dapat berubah pada berbagai keadaan penyakit yang berbeda. Oleh karena itu, bidang bioinformatik telah mengembangkan sebagian besar tugas yang berat tersebut bersangkutan dengan analisis dan intepretasi berbagai data, termasuk nukleotida dan sekuens asam amino, domain protein, dan struktur protein

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/About/primer/bioinformatics.html>, diakses 5 Juli 2009, 16:07).

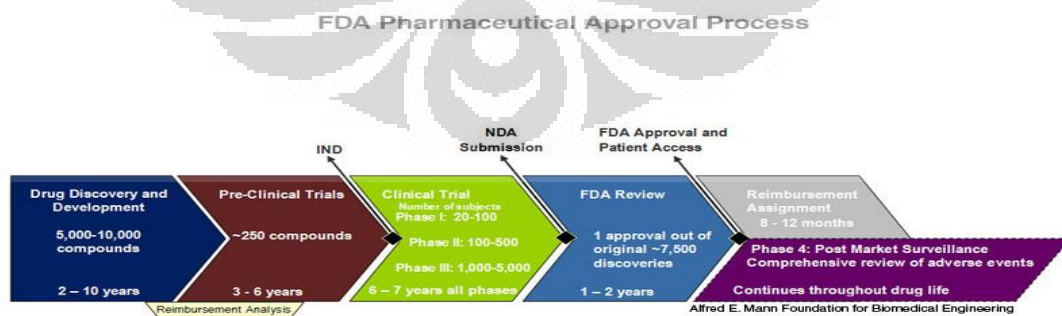
2.9. Drug Discovery

Drug discovery dan *development* (penemuan dan pengembangan) merupakan suatu proses yang mahal untuk penemuan obat, akibat tingginya biaya yang dibutuhkan oleh *Research* dan *Development* dan uji klinis pada manusia. Total rata-rata biaya per pengembangan obat berkisar antara US\$ 897 juta hingga US\$ 1.9 milyar. Gambar 9 melukiskan waktu yang dibutuhkan untuk pengembangan obat sekitar 10 hingga 15 tahun

(<http://www.combichemistry.com/drug-discovery.html>, diakses 26 September 2009, 12:30 WIB).

Salah satu cara untuk menemukan kandidat obat yang menjanjikan adalah dengan menginvestigasi bagaimana protein target berinteraksi dengan senyawa yang dipilih secara acak, yang biasanya merupakan bagian senyawa yang ada di *library*. Perlakuan ini sering dilakukan dan disebut sebagai fasilitas *high-throughput screening* (HTS). Senyawa pada *library* terdapat secara komersial dengan jumlah hingga beberapa juta senyawa.

Senyawa yang paling menjanjikan yang didapatkan dari *screening* disebut *hit*. Senyawa ini menunjukkan aktifitas ikatan yang tinggi terhadap target (<http://www.combichemistry.com/drug-discovery.html>, diakses 26 September 2009, 12:30 WIB). Beberapa *hit* kemudian dijadikan sebagai senyawa acuan- kandidat stuktur yang kemudian diperbaiki dan dimodifikasi untuk mendapatkan interaksi yang lebih baik dan efek samping yang lebih rendah (<http://www.combichemistry.com/drug-discovery.html>, diakses 26 September 2009, 12:30 WIB).



Gambar 9. Tahapan *drug discovery* dan *development*
[Sumber: www.mannfbe.org]

Metode komputasi dapat digunakan untuk memprediksi dan menyimulasikan interaksi senyawa dengan protein target. Metode komputasi dapat digunakan untuk membantu hipotesis terhadap sifat kimia yang diinginkan ketika merancang obat dan terlebih lagi dapat digunakan untuk memperbaiki dan memodifikasi kandidat obat. Tiga *virtual screening* atau metode komputasi yang digunakan pada penemuan obat modern adalah *molecular docking*, *Quantitative Structure-Activity Relationships* (QSAR) dan *Pharmacopodia Mapping* (<http://www.combichemistry.com/drug-discovery.html>, diakses 26 September 2009, 12:30 WIB).

2.10. Molecular Modeling

Molecular modeling (pemodelan molekul) merupakan suatu istilah yang ditujukan untuk metode teoritis dan teknik komputasi untuk menggambarkan atau meniru perilaku dari molekul. Teknik ini digunakan pada bidang kimia komputasi, biologi komputasi, dan sains material untuk mempelajari sistem molekul dari yang kecil hingga molekul biologis yang besar (http://en.wikipedia.org/wiki/Molecular_modelling, diakses 14 november 2009, 12:41 WIB).

Metode pemodelan molekul sekarang ini sering digunakan untuk menginvestigasi struktur, dinamika, dan termodinamika molekul anorganik,

biologi, dan sistem polimer. Tipe aktifitas biologi yang telah diinvestigasi menggunakan pemodelan molekul termasuk pelipatan protein, katalisis enzim, kestabilan protein, perubahan konformasi yang berhubungan dengan fungsi biomolekular, dan pengenalan molekular dari protein, DNA, dan kompleks membran (http://en.wikipedia.org/wiki/Molecular_modelling, diakses 14 November 2009, 12:41 WIB).

2.11. *Docking*

Salah satu cabang yang penting dalam kimia komputasi adalah pengembangan dan perancangan obat. Proses perancangan obat merupakan suatu hal yang kompleks dan menghabiskan banyak waktu, yang terdiri dari tiga fase yang dapat dibagi-bagi lagi. Ketiga fase itu adalah *drug discovery*, *drug design*, dan terakhir *drug testing* dan *development*. Salah satu program yang digunakan pada perancangan obat adalah *docking* (Nylander, 2007).

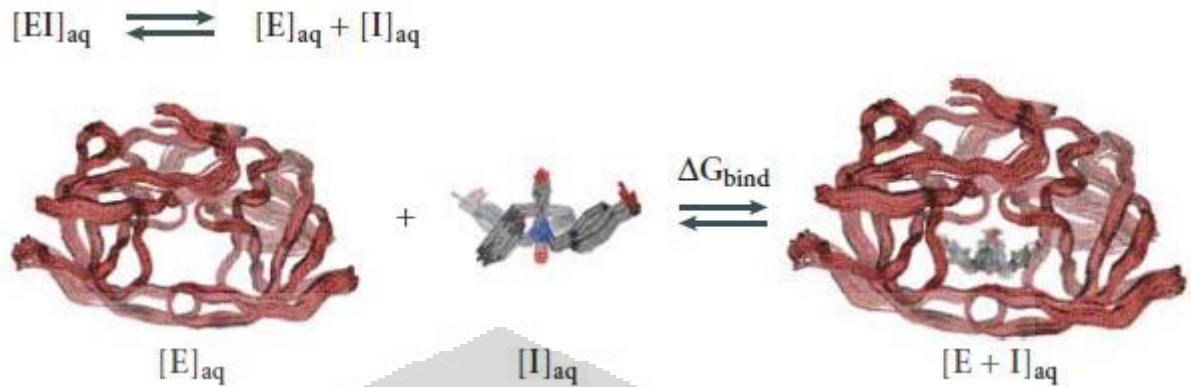
Proses *docking* berkaitan dengan prediksi konformasi ligan dan orientasinya (atau posisi) dengan target sisi pengikatan. Secara umum, terdapat dua tujuan dari *docking*, yaitu pemodelan struktur secara akurat dan prediksi aktifitas secara benar. Akan tetapi, identifikasi dari karakteristik molekular yang bertanggung jawab dalam pengenalan biologis secara spesifik, atau memprediksi modifikasi senyawa yang dapat meningkatkan

potensi merupakan hal yang kompleks dan sulit untuk dimengerti bahkan melalui simulasi komputer (Kitchen *et al.*, 2004).

Sebagian besar *docking* program membutuhkan input struktur tiga dimensi (3D) target biologis (biasanya struktur sinar X yang telah disiapkan) dan sebuah struktur 3D ligan yang akan dilakukan *dock*. Proses *docking* terdiri dari dua komponen, *pose generation*, yang menghasilkan konformasi ligan kemudian menempatkannya pada *binding pocket* (dan kemungkinan mengatur geometri yang mungkin sesuai dengan fleksibilitas reseptor), dan *scoring* yang mencoba mengukur kualitas dari *pose dock* yang mendekati kalkulasi energi bebas pengikatan ($\Delta G_{binding}$) atau tipe lain dari *scoring function* (Feher dan Williams, 2009).

Docking program menggambarkan proses *docking* dari *template* protein dan ligan. Gambaran ini menjelaskan koordinat dari molekul secara 3D. Koordinat ini dihasilkan dari penyelidikan kristal menggunakan spektroskopi. Sebagian besar program *docking* memperlakukan ligan secara fleksibel dan protein reseptor dibuat rigid atau mendekati rigid (Nylander, 2007).

Proses *docking* enzim dengan inhibitor bertujuan untuk memberikan prediksi yang tepat terhadap struktur kompleks $[E+I] = [EI]$ dengan kondisi kesetimbangan sesuai dengan Gambar 10.



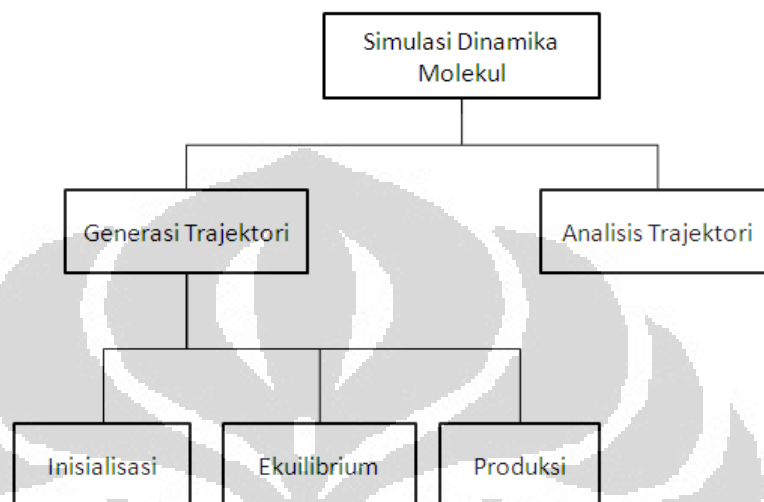
Gambar 10. Proses *docking*
[Sumber: Kitchen *et al.*, 2004]

2.12. Simulasi Dinamika Molekul

Simulasi dinamika molekul (SDM) adalah suatu simulasi komputer terhadap atom dan molekul untuk berinteraksi dalam kurun waktu tertentu dengan pendekatan fisik yang diketahui, sehingga memberikan gambaran pergerakan partikel. SDM dapat memperlihatkan kepada peneliti, pergerakan individu atom yang tidak mungkin dapat diamati dalam percobaan laboratorium (http://en.wikipedia.org/wiki/Molecular_dynamics, diakses 14 November 2009, 13:31 WIB).

Simulasi dinamika molekul terdiri atas tiga tahap: inialisasi, ekuilibrium, dan produksi (**Gambar 11**). Pada penelitian ini hanya dilakukan simulasi dinamika pada tahap inialisasi. Tahap inialisasi terdiri dari penentuan sistem unit, algoritma dan parameter simulasi, dan inialisasi

molekul-molekul. Inisialisasi molekul melibatkan penentuan posisi awal dan kecepatan awal molekul-molekul (Witoelar, 2002).

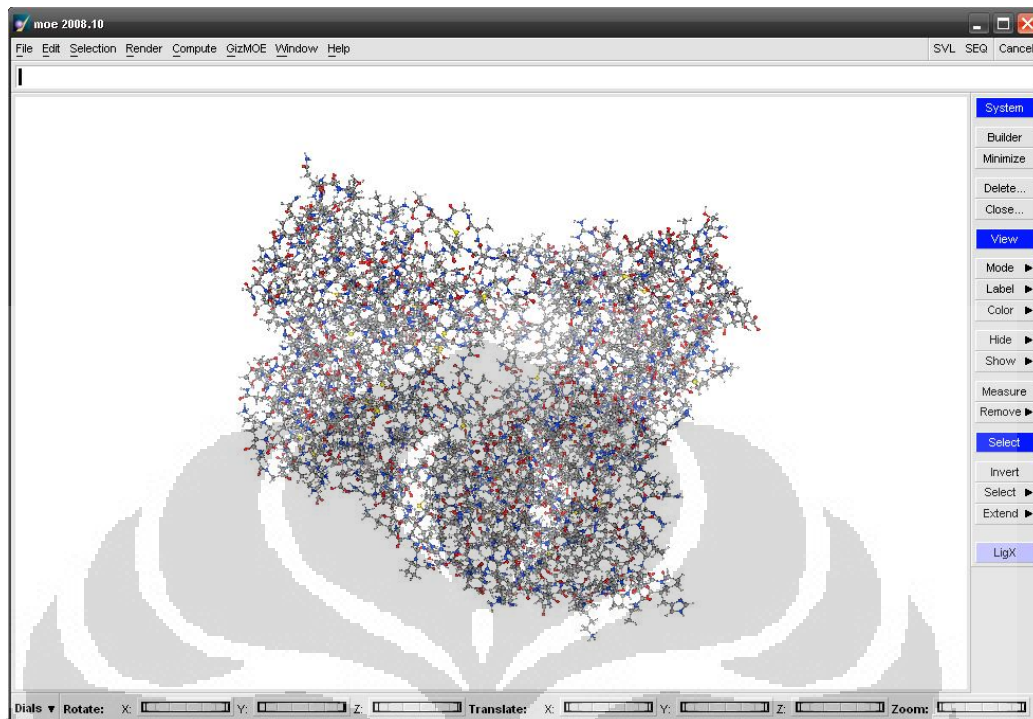


Gambar 11. Tahapan simulasi dinamika molekul
[Sumber: Witoelar, 2002]

2.13. *Molecular Operating Environment*

Molecular operating environment (MOE) merupakan suatu sistem perangkat lunak komersial yang dirancang oleh *chemical computing group* untuk membantu *cheminformatics*, *molecular modeling*, *bioinformatics*, *virtual screening*, *structured based design* dan dapat digunakan untuk membuat aplikasi baru yang berbasis SVL (*Scientific Vector Language*).

(http://www.macresearch.org/review_moe_molecular_operating_environment, diakses 27 September 2009. 20:01 WIB).

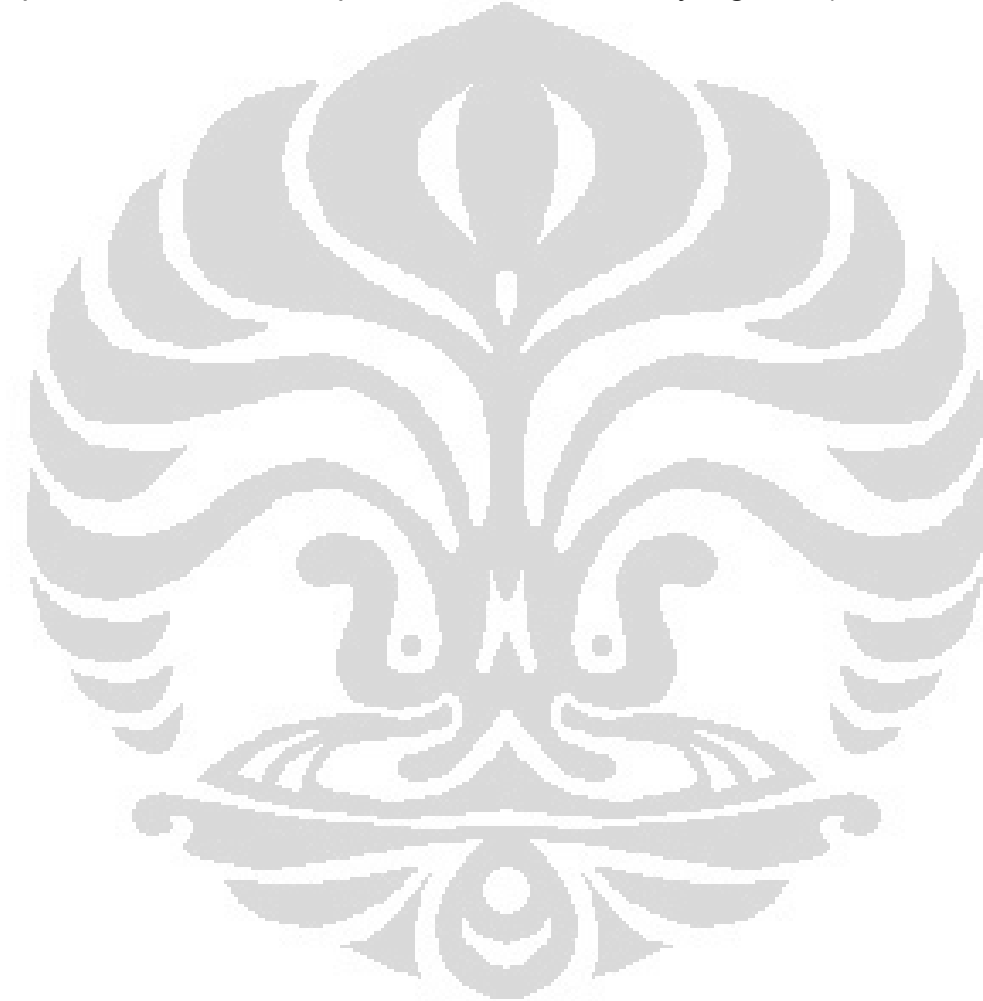


Gambar 12. Tampilan muka MOE 2008.10
[Sumber: MOE 2008.10]

2.14. Minimisasi

Energi sterik dari molekul merupakan jumlah dari energi ikatan maupun energi non-ikatan (energi van der Waals, dan energi elektrostatis). Energi konformasi yang terendah merupakan hasil dari panjang ikatan dan sudut ikatan yang memberikan energi sterik terkecil. Dengan kata lain, ikatan memberikan pengaruh terhadap *force* untuk menentukan energi konformasi terendah dari molekul. Proses ini disebut minimisasi energi. Komputer akan memberikan perubahan yang kecil pada setiap atom dan menghitung energi

terhadap setiap pergerakan. Pergerakan berhenti jika energi menjadi rendah, jika tidak, maka atom kembali ke posisi aslinya. Proses ini terjadi berulang hingga keseluruhan energi minimum tercapai. Satu siklus penuh, ketika setiap atom bergerak sekali, disebut minimisasi. Ratusan langkah mungkin diperlukan untuk mendapatkan struktur molekul yang baik (Shattuck, 2003).



BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Pencarian Data Struktur Tiga Dimensi Enzim NS5 *RNA-Dependent RNA Polymerase* Virus Dengue

Struktur enzim NS5 *RNA-dependent RNA polymerase* (RdRp) virus dengue yang diunduh adalah yang ada di *Protein Data Bank* (PDB) dengan PDB ID 2J7U yang dikeluarkan oleh *Research Collaboratory for Structural Bioinformatics* (RCSB) dengan alamat situs: <http://www.rcsb.org/pdb/> menggunakan perangkat komputer yang terhubung dengan internet. Sistem operasi yang digunakan adalah *Microsoft Windows XP Professional Service Pack 2* dengan *browser Mozilla Firefox*.

3.2. Persiapan Enzim RdRp Virus Dengue

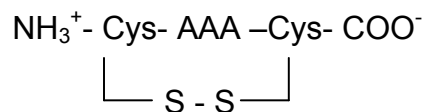
Persiapan enzim RdRp virus dengue dilakukan sesuai parameter yang telah dilakukan pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Bian pada 2009, yaitu penghilangan molekul air, ion klorin, dan *polyethylene glycol*. Hal

ini dilakukan untuk memisahkan enzim dari ion-ion lain yang tidak berkaitan dengan proses katalisisnya. Selanjutnya dilakukan protonasi untuk merubah keadaan makromolekul ke tingkat ionisasinya dengan *protonate3D*.

Penambahan muatan (*partial charges*), atom hidrogen dan solvasi dengan *gas phase* dilakukan berdasarkan minimisasi energi dengan kalkulasi *force field* MMFF94x. Proses minimisasi ini dilakukan hingga RMS (*Root Mean Square*) *gradient* mencapai 0,05 kkal/mol Å. Parameter yang lainnya menggunakan *default*. Semua proses optimasi enzim ini dilakukan dengan menggunakan MOE 2008.10.

3.3. Perancangan Struktur Tiga Dimensi Ligan Peptida Siklis Sebagai Inhibitor

Ligan peptida yang diuji digambar secara tiga dimensi (3D) dengan perangkat lunak *ACD/labs*. Peptida dimodelkan secara siklik dengan masing-masing ujung residu ditambahkan asam amino sistein yang akan membentuk jembatan disulfida. Asam amino yang digunakan adalah arginin, lisin, aspartat, glutamat, serin, dan glisin (Lampiran 2). Arginin, lisin, aspartat, glutamat, serin dipilih untuk membentuk interaksi elektrostatik dan interaksi hidrogen. Glisin dipilih untuk meningkatkan fleksibilitas ligan. Gambar kemudian disimpan dalam format *MDL Molfile*.



Penamaan ligan berdasarkan tiga residu yang ada di antara ujung residu sistein. Misalnya, CDEEC hanya ditulis DEE.

3.4. Preparasi Ligan Peptida Sebagai Inhibitor

Format penyimpanan ligan kemudian dirubah menjadi *MDL Mol* dengan menggunakan perangkat lunak *Vegazz*, sehingga dapat dimasukkan ke dalam *database* MOE. Semua ligan dengan format ini kemudian dimasukkan ke dalam *database* MOE. Optimasi ligan kemudian dilakukan dengan *MOE database viewer* (dv). Seluruh ligan dilakukan *wash* untuk memperbaiki struktur tiga dimensinya dan ditambahkan muatannya dengan menggunakan kalkulasi *force field* MMFF94. Minimisasi struktur energi molekul kemudian dilakukan hingga RMS gradient mencapai 0,001 kkal/mol Å. Parameter yang lainnya menggunakan *default*.

3.5. Docking Ligan Peptida dengan Enzim RdRp

Simulasi *docking* dilakukan dengan program *MOE-dock*. *Database* kandidat ligan diatur untuk berinteraksi dengan residu enzim yang dipilih,

yaitu arg-737, arg-729, dan ser-710. Pada proses ini, enzim dibuat rigid, sedangkan ligan dibiarkan berotasi. Metode *placement* yang digunakan adalah *triangle matcher* untuk menghasilkan penghitungan energi ligan dari tiap pengulangan 2.500.000 pose. Parameter lainnya sesuai *default* dari MOE.

Scoring function yang digunakan adalah London dG, untuk mengalkulasi energi bebas ikatan. Hasil dari tahap ini ditampilkan dengan mengatur *retain* sebanyak 10. Tahap seleksi selanjutnya, *refinement*, menggunakan seleksi kalkulasi energi *force field* dengan konfigurasi sesuai *default*. Hasil yang didapat dari tahap seleksi terakhir ini diatur hanya menampilkan molekul yang paling sesuai, dengan pengaturan *retain* sebanyak 1. Kemudian, analisis hasil *docking* dilakukan berdasarkan nilai $\Delta G_{binding}(S)$. Simulasi *docking* ini dilakukan dengan menggunakan komputer yang menggunakan sistem operasi *Microsoft Windows XP Professional Service Pack 2* dengan intel Core 2 Duo pada 2,40 GHz dan RAM 2,00 GB.

Hasil *docking* ligan yang memiliki $\Delta G_{binding}$ yang rendah sesuai distribusi normal, yaitu 20% dari energi terendah, selanjutnya akan diseleksi berdasarkan *drugscan*. *Drugscan* ini dilakukan secara *online* melalui situs: <http://service.bioinformatik.uni-saarland.de/edrugscan/>. Situs *drugscan* ini membutuhkan format molekul *hyperchem hin format*, maka format molekul 20% kandidat ligan dengan energi terendah, diubah dengan menggunakan perangkat lunak *Hyperchem* sehingga dapat diunggah ke

dalam situs ini. Hasil seleksi berupa ligan yang memiliki kemiripan terhadap obat, akan dianalisis lebih lanjut.

3.6. Simulasi Dinamika Molekul

Tahap inisialisasi simulasi dinamika molekul (SDM) dilakukan dengan *MOE-dynamic*. Bahan yang digunakan adalah kompleks enzim-ligan yang digunakan Bian pada 2009 (sebagai standar) dan ligan yang memiliki kemiripan dengan obat dengan $\Delta G_{binding}$ terendah. Minimisasi kalkulasi energi dilakukan dengan menggunakan *force field* MMFF94x dengan mengikutsertakan perhitungan terhadap energi solvasi yang menggunakan solvasi implisit *Born*. Selain itu, dilakukan pula optimasi muatan kompleks enzim-inhibitor dengan *partial charges*.

Parameter lainnya yang digunakan sesuai dengan *default*, yaitu *ensemble* (koleksi keadaan sistem) NVT (N, jumlah atom; V, volume; T, temperatur) yang mendekati keadaan eksperimen pada temperatur konstan dan algoritma NPA (*Nosé-Poincaré-Anderson*) untuk menghasilkan trajektori *ensemble*. Hasil *position*, *velocity* dan *acceleration* disimpan setiap 0,5 piko detik, untuk dilakukan pengamatan lebih lanjut.

Simulasi dinamika ini dilakukan dengan perangkat komputer yang menggunakan sistem operasi *Microsoft Windows XP Professional Service Pack 2* dengan Intel Pentium Dual Core pada 1,80 GHz dan RAM 3,00 GB.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Pencarian Data Struktur Tiga Dimensi Enzim NS5 *RNA-Dependent RNA Polymerase Virus Dengue*

Data struktur enzim yang digunakan, diunduh dari Protein Data Bank melalui situs <http://www.rcsb.org/pdb/> yang dikelola oleh *Research Collaboratory for Structural Biology* (RCSB). Struktur kristal enzim RdRp virus dengue pada situs ini ada dua, yaitu dengan PDB ID 2J7U dan 2J7W. Struktur kristal enzim RdRp yang diunduh adalah yang mempunyai PDB ID 2J7U yang juga digunakan pada penelitian sebelumnya.

Enzim dengan PDB ID 2J7U memiliki resolusi (ukuran) kristal yang lebih kecil dibandingkan enzim RdRp dengan PDB ID 2J7W, yang juga merupakan struktur kristal enzim RdRp virus dengue. Resolusi kristal enzim dengan PDB ID 2J7U yaitu sebesar 1,85 Å, sedangkan PDB ID 2J7W sebesar 2,6 Å. Pengukuran ini dilakukan dengan menggunakan difraksi sinar-X dan dipublikasikan pada 13 Maret 2007. Nilai dari resolusi kristal yang lebih kecil mengindikasikan tingkat kejelasan pemisahan antar atom pada kristal akan semakin jelas.

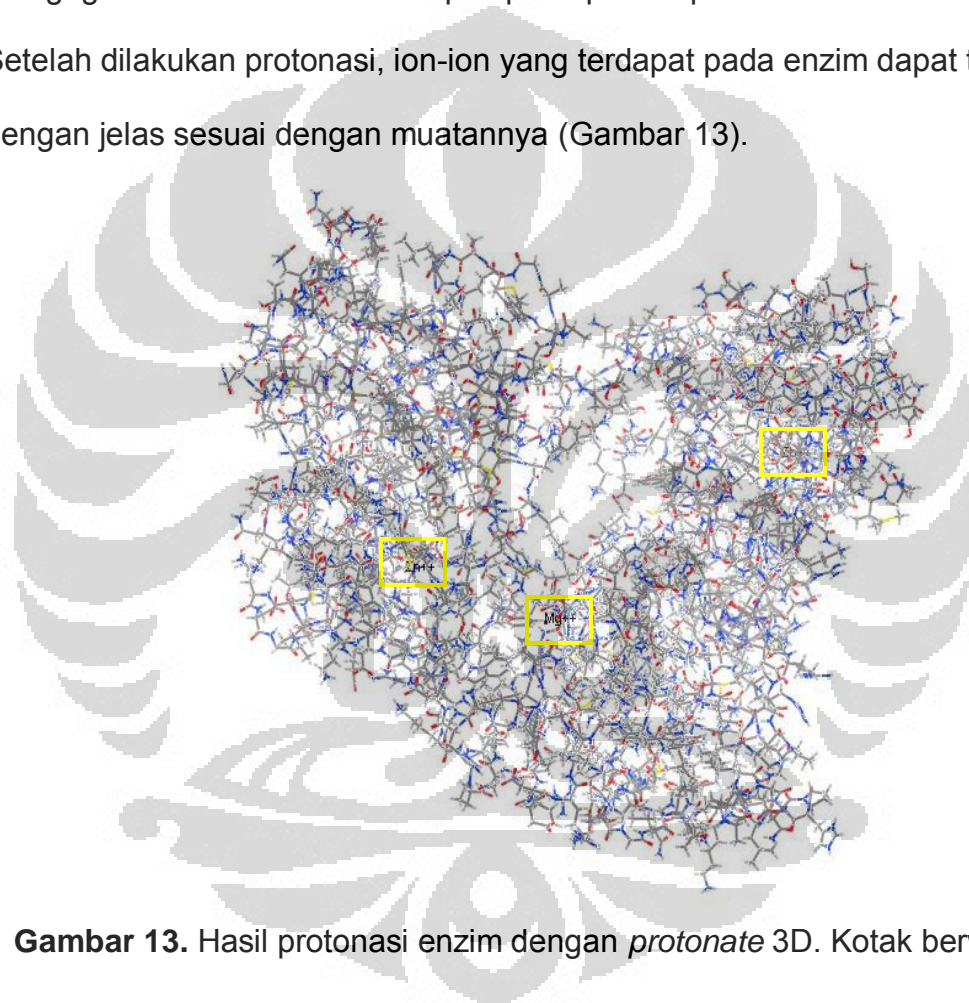
Beberapa perbedaan tambahan antara kedua struktur kristal ini, yaitu pada kristal 2J7W terdapat ligan 3'dGTP (3'-*Deoxy Guanosine Triphosphate*) yang digunakan sebagai inhibitor pada proses inisiasi secara *de novo*. Perbedaan lainnya, yaitu ketidakhadirannya ion Mg^{2+} pada kristal 2J7W. Berdasarkan Malet *et al*, ion Mg^{2+} pada kristal 2J7U ini berdekatan dengan posisi katalitik yang diperkirakan, yaitu asp-533 (motif A) dan oleh asp-664 (motif C).

4.2. Persiapan Enzim RdRp Virus Dengue

Kristal 2J7U disiapkan dengan terlebih dulu menghilangkan molekul air, ion klorin, dan *polyethylene glycol* melalui MOE *sequence editor*. Molekul air dihilangkan sesuai syarat untuk simulasi *docking*, sedangkan ion klorin dan *polyethylene glycol* merupakan molekul tambahan yang didapatkan ketika pembuatan kristal. Berdasarkan jurnal, untuk melakukan simulasi *docking*, maka kristal harus dipisahkan dari molekul-molekul ini, sehingga molekul yang tersisa adalah asam amino penyusun protein dan ligan atau kofaktor yang berperan pada enzim tersebut, yaitu ion Zn^{2+} dan Mg^{2+} .

Perlakuan selanjutnya yaitu mengubah enzim menjadi dalam keadaan terprotonasi dengan protonate 3D. Aplikasi protonate 3D ini digunakan untuk mengubah keadaan enzim ke dalam tingkat ionisasi dan menampilkan posisi atom hidrogen pada struktur kristal. Keberadaan atom hidrogen ini diperlukan

dalam proses mekanika molekul, dinamika molekul, ataupun perhitungan interaksi elektrostatik. Namun, kebanyakan struktur kristal hampir tidak memberikan koordinat data atom hidrogen, disebabkan keterbatasan dari resolusinya. Alasan lainnya adalah adanya atom hidrogen dan tingkat ionisasi dari gugus tertentu akan berdampak pada proses pembuatan struktur kristal. Setelah dilakukan protonasi, ion-ion yang terdapat pada enzim dapat terlihat dengan jelas sesuai dengan muatannya (Gambar 13).



Gambar 13. Hasil protonasi enzim dengan *protonate* 3D. Kotak berwarna kuning menggambarkan ion-ion yang terdapat pada enzim.

Proses optimasi selanjutnya yaitu dengan minimisasi kalkulasi energi enzim dengan *force field* yang sesuai dengan parameter sistem, yaitu MMFF94x yang dilakukan pada *potential setup*. Minimisasi dilakukan untuk

menghilangkan *bad contact*, maupun efek-efek sterik berenergi tinggi yang nantinya mengakibatkan sistem yang disimulasikan menjadi tidak stabil.

Pada *potential setup*, atom hidrogen dan *partial charge* juga dapat diperbaiki. *Partial charge* digunakan untuk mengevaluasi perhitungan potensial energi elektrostatik. Jika atom hidrogen maupun *partial charge* perlu diperbaiki, maka tombol untuk kedua aksi ini akan muncul.

Jenis solvasi yang digunakan adalah *gas phase* (untuk *docking*). Jenis solvasi ini tidak mengikut sertakan perhitungan energi solvasi disebabkan proses *docking* dilakukan tanpa adanya pelarut. Proses minimisasi untuk menghilangkan *bad contact* selanjutnya dilakukan dengan *force field* MMFF94x hingga RMS (Root Mean-Square) gradient mencapai 0,05 kkal/mol Å yang merupakan nilai yang sesuai untuk protein. Parameter yang lainnya menggunakan pengaturan *default* dari MOE.2008.10.

4.3. Perancangan Struktur Tiga Dimensi Ligan Peptida Siklis Sebagai Inhibitor

Berdasarkan jurnal yang ditulis oleh Yagi *et al*, terdapat enam jenis asam amino utama yang dapat digunakan sebagai kandidat ligan terhadap residu target yang memiliki total muatan positif (arginin dan lisin), yaitu arginin, lisin, aspartat, glutamat, serin, dan glisin. Arginin, lisin, aspartat, glutamat, dan serin dipilih untuk membentuk interaksi elektrostatik dan

interaksi hidrogen. Glisin dipilih untuk meningkatkan fleksibilitas ligan. Keenam asam amino ini kemudian dikombinasikan urutannya untuk membentuk pentapeptida siklik.

Pada pentapeptida siklik ini, dua asam amino pada bagian ujungnya adalah sistein. Sistein dipilih untuk membentuk siklik dengan bantuan ikatan disulfida. Ukuran peptida yang kecil (terdiri dari lima asam amino) dan bentuk yang siklik ini bertujuan untuk mengurangi kekurangan dari penggunaan peptida sebagai obat, yaitu stabilitas dan daya hantar yang rendah dalam tubuh. Pada disertasi Nurbaiti 2009, dikatakan bahwa ikatan disulfida ini dipercaya dapat menstabilkan protein hingga temperatur diatas 100°C yaitu dengan menurunkan entropi keadaan acak protein, biasa disebut sebagai efek entropi. Berdasarkan penjelasan ini, diharapkan kandidat ligan dapat sampai ke target dengan efek pengaruh hidrolisis tubuh yang kecil. Tiga asam amino lainnya merupakan kombinasi dari enam asam amino (arg, lis, asp, glu, ser, gli). Sehingga didapatkan 216 ligan pentapeptida siklik sebagai kandidat yang digunakan sebagai inhibitor. Ligan kandidat ini diberi nama berdasarkan tiga residu asam amino utama.

Semua kandidat ligan ini digambar secara 2 dimensi dengan perangkat lunak *ACD/labs* dalam bentuk *zwitter ion*. Hasil gambar kemudian diubah kedalam bentuk optimasi tiga dimensi (pada *3D viewer*), kemudian disimpan dalam format *MDL Molfile*.

4.4. Persiapan Ligan Peptida Sebagai Inhibitor

Format penyimpanan *MDL Mol* diperlukan untuk memasukkan ligan ke dalam *database* MOE. Oleh karena itu, format penyimpanan diubah menjadi *MDL Mol* dari *MDL molfile* dengan menggunakan *software Vegazz*. Setelah itu, semua ligan diimpor ke dalam *database* MOE untuk dioptimasi lebih lanjut. Optimasi ligan dengan parameter *wash* pada MOE yang dilakukan bertujuan untuk memperbaiki struktur ligan serta menambahkan atom hidrogen eksplisit. Berdasarkan Hecht & Fogel, *wash function* digunakan pada struktur 2D untuk menstandarisasi panjang dan sudut ikatan yang berkaitan dengan energi potensialnya sehingga mencapai keadaan kesetimbangannya.

Muatan ligan ditambahkan dengan *partial charge*. Setelah itu dilakukan optimasi dengan kalkulasi energi menggunakan *force field* MMFF94. Force field MMFF94 ini merupakan parameter kalkulasi energi yang sesuai untuk atom-atom molekul organik kecil.

4.5. Docking Enzim dan Ligan Kandidat

Proses *docking* 216 kandidat ligan dan enzim RdRp dilakukan dengan menggunakan *MOE-dock* versi 2008.10. Berdasarkan literatur, untuk

melakukan *docking*, maka enzim dibuat rigid sedangkan ligan dibiarkan berotasi (yang disebut *flexible docking*). Hal ini dilakukan supaya proses *docking* berjalan seperti mekanisme *lock and key*.

Docking terbagi menjadi beberapa tahap. Beberapa metode disediakan pada setiap tahap, dan metode baru dapat ditambahkan dengan mudah. Tahapan-tahapan itu adalah analisis konformasi, *placement*, *rescoring*, dan *refinement*. Analisis konformasi dilakukan untuk melihat konformasi yang disukai pada saat menempel pada sisi pengikatan. MOE-*dock* melakukan pencarian konformasi ligan dengan menggunakan seluruh kombinasi sudut yang mungkin terjadi dan hasilnya dibawah 5.000 konformasi.

Metode *placement* memberikan pose dari konformasi ligan. Metode *placement* yang digunakan adalah *triangle matcher* yang merupakan *default* parameter MOE untuk menghasilkan penghitungan energi ligan dari tiap pengulangan pose. Jumlah maksimum evaluasi pose konformasi ligan sebanyak 2.500.000 pose. Metode *Triangle matcher* melakukan proses random terhadap pose ligan pada sisi aktif untuk menentukan orientasi ikatan yang optimal.

Perhitungan energi bebas ikatan dari orientasi ikatan menggunakan *scoring function* London dG dengan retain 10 tanpa duplikasi. *Scoring function* London dG mengestimasi energi bebas ikatan dari pose ligan berdasarkan persamaan:

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

Nilai c menggambarkan rata-rata pertambahan/pengurangan entropi rotasi dan translasi, E_{flex} merupakan energi akibat berkurang fleksibilitas ligan, f_{hb} mengukur cacat geometris ikatan hidrogen dan mengambil nilai di $[0,1]$, c_{hb} energi dari suatu ikatan hidrogen ideal, f_m mengukur cacat geometris ligasi logam dan mengambil nilai di $[0,1]$, c_m energi dari suatu ligasi logam ideal, dan D_i adalah energi desolvasi atom ke- i (MOE *tutorial* 2008).

Retain dilakukan untuk mengatur jumlah konformasi ligan terbaik yang ingin ditampilkan. Pengaturan *retain* sebanyak 10 dilakukan berdasarkan pendapat dari peneliti lain yang telah melakukan *docking* dengan program yang sama.

Hasil pose ligan dari tahap *placement* dapat diperbaiki lebih lanjut pada tahap *refinement*. *Refinement* berupa *force field* menggunakan *Generalized Born solvation model* (GB/VI) pada tahap evaluasi akhir dari energi. *Refinement* menggunakan *force field* lebih akurat dibandingkan dengan *GridMin* yang menggunakan kalkulasi elektrostatik pada proses minimisasi, tetapi prosesnya juga lebih lama. Pengaturan default dari *refinement force field* menggunakan *pocket cut off* 6Å, yaitu jarak reseptor yang diikutsertakan pada proses *docking*. *Retain* terakhir diatur sebanyak 1, yaitu hanya diinginkan satu konformasi yang paling optimal.

4.6. Analisis Simulasi *Docking* Enzim dan Ligan Kandidat

4.6.1 Analisis Ikatan Energi Bebas Ikatan ($\Delta G_{binding}$)

Tabel 2 memperlihatkan contoh hasil keluaran data oleh MOE.2008.10. Kolom mol berisi nama dari molekul ligan, sedangkan mseq merupakan urutannya ketika *berada pada database* MOE. Lima kolom selanjutnya adalah hasil dari perhitungan energi dalam satuan Kkal/mol. E_{conf} , E_{place} , dan E_{score} menggambarkan hasil kalkulasi energi dari setiap tahap *docking* dengan suatu persamaan tertentu yang kemudian disimpulkan dengan kalkulasi akhir pada E_{refine} . Kolom S menunjukkan total perhitungan akhir dari tahapan *docking* yang menggambarkan energi bebas ikatan $\Delta G_{binding}$ dalam Kkal/mol, hal ini dapat terlihat bahwa nilai S sama dengan E_{refine} .

Tabel 2. Tabel data 17 ligan dengan energi bebas pengikatan terendah.

	mol	mseq	S	E_conf	E_place	E_score1	E_refine
1	RRD.mol	169	-35.7445	3.0000	46.0246	-13.7278	-35.7445
2	RGE.mol	158	-34.1848	3.6030	-59.4573	-15.7199	-34.1848
3	DRK.mol	28	-32.8157	3.2000	-29.7526	-16.4288	-32.8157
4	RSE.mol	176	-32.2406	2.8000	7.8888	-15.0704	-32.2406
5	DSK.mol	34	-31.1672	2.0012	-31.6553	-14.5116	-31.1672
6	RER.mol	155	-30.8855	4.6231	-19.3500	-14.6456	-30.8855
7	SGD.mol	193	-29.6122	3.0000	61.2608	-13.0004	-29.6122
8	ECE.mol	50	-29.0926	4.4147	-17.4479	-13.5190	-29.0926
9	DRE.mol	26	-28.9005	4.1997	31.3725	-14.0617	-28.9005
10	RRK.mol	172	-28.7757	3.2001	-34.0982	-14.8844	-28.7757
11	RKE.mol	164	-28.6572	2.1031	17.4710	-19.3887	-28.6572
12	DRD.mol	25	-28.6065	2.4224	1.5273	-17.0737	-28.6065
13	EKR.mol	59	-28.5331	5.4002	-10.7404	-18.6868	-28.5331
14	EGK.mol	52	-28.3187	2.2000	-36.2828	-16.4156	-28.3187
15	ERD.mol	61	-27.8326	3.4614	-30.1844	-14.9030	-27.8326
16	DDS.mol	6	-26.9447	3.6590	9.8341	-15.6710	-26.9447
17	DEE.mol	8	-25.6901	4.0791	33.2727	-15.9405	-25.6901

E_{refine} yang merupakan total dari perhitungan energi yang lainnya digambarkan pada persamaan:

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

Dengan E_{str} = energi *bond stretching*, E_{ang} = energi sudut, E_{stb} = energi *sterching-bending*, E_{oop} = energi *out-of-plane*, E_{tor} = Energi torsi, E_{vdw} = energi van der Waals, E_{ele} = energi elektrostatis, E_{sol} = energi solvasi pelarut, dan E_{res} = energi *restraint*. Karena pada proses *docking* digunakan solvasi dengan *gas phase*, maka perhitungan terhadap energi solvasi dihilangkan. Hasil data kemudian di urutkan berdasarkan harga S terendah hingga terbesar (Lampiran 3).

$\Delta G_{binding}$ (S) menggambarkan kuat ikatan antara enzim dengan ligan. Semakin rendah harga $\Delta G_{binding}$ maka ikatan kompleks enzim-ligan akan

semakin kuat. Hal ini didasarkan pada persamaan yang dijabarkan dalam jurnal yang ditulis oleh Kitchen *et al*:

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

Dengan ΔG adalah energi bebas pengikatan, R= tetapan gas konstan (J/mol-K), T= temperatur absolut (K), K_A = konstanta aktivasi enzim, dan K_i = konstanta inhibitor. Berdasarkan distribusi normal dengan variabel bebas maka diambil 20% data ligan dengan $\Delta G_{binding}$ terendah (sekitar 15 ligan) untuk dilakukan *drugscan*.

Pada persamaan terlihat hubungan antara K_i dan ΔG yang berbanding terbalik. Semakin kecil nilai ΔG maka nilai K_i akan semakin kecil. Harga K_i yang kecil mengindikasikan pengikatan kompleks enzim-inhibitor yang kuat.

4.6.2 *Drugscan* Ligan Kandidat

Drugscan merupakan cara tercepat dalam mengevaluasi senyawa *drug-like* atau *lead-like*. Proses ini dilakukan untuk mengurangi biaya *screening* akibat kegagalan pada proses ADMET (Absorpsi, Distribusi, Metabolime, Ekskresi, dan Toksisitas). Proses *drugscan* yang dilakukan melalui alamat situs <http://service.bioinformatik.uni-saarland.de/edrugscan/> membutuhkan format molekul yang berasal dari *hyperchem*, yaitu *hin format*. oleh karena itu, 20% ligan dengan $\Delta G_{binding}$ terendah dan ligan yang

digunakan Bian (DEE), diubah formatnya dengan menggunakan perangkat lunak *hyperchem 8*.

Enam belas ligan kemudian diunggah ke situs tersebut untuk kemudian dilakukan *screening*. *Screening* yang digunakan berdasarkan lipinski *rule's of five* (RO5) yang terdiri dari 4 aturan berbasis kelipatan 5. Hasil drugscan dapat dilihat pada Lampiran 4.

Tabel 3. Tabel data 15 ligan dengan energi bebas pengikatan terendah dan ligan standar DEE serta spesifikasinya terhadap RO5.

Ligan	S (Kkal/mol)	Mr (g/mol)	H donor	H aseptor	ClogP
RRD	-35,7445	648,787	9	8	-8,826
RGE	-34,1848	563,657	7	8	-7,481
DRK	-32,8157	621,761	8	8	-8,090
RSE	-32,2406	593,683	8	9	-8,120
DSK	-31,1672	522,604	6	8	-7,135
RER	-30,8855	662,814	9	8	-8,435
SGD	-29,6122	480,532	6	8	-8,615
EGE	-29,0926	535,555	5	10	-7,627
DRE	-28,9005	620,685	7	10	-8,972
RRK	-28,7757	663,890	10	6	-7,553
RKE	-28,6572	635,788	8	8	-7,700
DRD	-28,6065	606,658	7	10	-9,362
EKR	-28,5331	635,788	8	8	-7,700

Lanjutan tabel 3.

EGK	-28,3187	536,631	6	8	-6,745
ERD	-27,8326	620,685	7	10	-8,972
DEE	-25,6901	592,583	5	12	-9,119

RO5 menggunakan parameter *screening* untuk memprediksi kemungkinan konsumsi obat secara oral. Konsumsi obat secara oral lebih diutamakan dibandingkan dua jalur masuk lainnya (dermal dan rektum). Hal ini ditujukan untuk mengurangi resiko terhadap tubuh akibat dosis obat yang diberikan ataupun dari bakteri maupun virus yang mungkin ikut masuk ke tubuh.

Lagorce *et al* dalam jurnalnya menyatakan bahwa Dr. Lipinski menyarankan senyawa yang akan dijadikan obat mempunyai sifat ADME dan sifat toksisitasnya dapat diterima untuk lolos pada tahap 1 fasa klinis terhadap tubuh manusia. Aturan yang digunakan seperti massa molekul maksimal 500 g/mol; secara berurutan, hidrogen donor dan akseptor tidak lebih dari 5 dan 10, dan Clog P (*calculated logP*) kurang dari 5.

Konsumsi obat secara oral harus melewati dinding usus kemudian ditransportasikan dalam cairan darah, dan melakukan penetrasi terhadap dinding sel membran untuk masuk ke dalam sel. Oktanol merupakan senyawa model dari membran sel yang akan membantu dalam penentuan lipofilisitas dari molekul obat. Lipofilisitas dan koefisien partisi (Log P) merupakan ukuran untuk menggambarkan kelarutan dan nilai Log P

dihasilkan dari logaritma oktanol terhadap air.

(<http://www.cosmeticsandtoiletries.com/research/chemistry/12120536.html?page=1>. 2 desember 2009. 16:03 WIB).

Syarat yang lainnya adalah massa molekul obat. Semakin kecil bobot massa molekul senyawa obat akan semakin baik, karena mempengaruhi kemampuan difusi, dan 80% obat memiliki berat molekul dibawah 450 g/mol.

Molekul obat seharusnya juga mudah larut dalam air, disebabkan obat ditransportasikan dalam media cair seperti darah maupun cairan sel. Kelarutan dalam air dapat diestimasi dari jumlah hidrogen donor dibanding rantai alkil samping. Semakin banyak hidrogen donor maka semakin mudah larut air, tetapi daya penetrasi terhadap sel membran semakin kecil. Ikatan hidrogen terbentuk antara tiga atom, satu atom hidrogen dan dua atom elektronegatif (biasanya atom N atau O). Hidrogen donor adalah atom hidrogen yang berikatan secara kovalen dengan atom yang memiliki keelektronegatifan, sedangkan atom elektronegatif yang lain disebut hidrogen akseptor (<http://www.web-books.com/MoBio/Free/Ch2C3.htm>. diakses 3 Desember 2009. 22:17 WIB)

Dari hasil *screening* terhadap enam belas ligan ternyata hanya ada satu ligan yang lolos, yaitu CSGDC. Ligan ini berdasarkan urutan $\Delta G_{binding}$ terendah berada pada urutan 7, dan memiliki $\Delta G_{binding}$ yang lebih rendah dibandingkan ligan CDEEC (Tabel 3).

4.6.3 Analisis Kontak Residu Terhadap Ligan Kandidat

Analisis kontak residu dilakukan hanya pada ligan yang memiliki energi babas ikatan yang rendah, serta memenuhi kriteria dari *drugscan* (CSGDC) dan ligan standar Bian (CDEEC). Tabel 4 memberikan data kontak residu ligan terhadap enzim RdRp virus dengue.

Tabel 4. Tabel data kontak residu CSGDC dan CDEEC terhadap enzim.

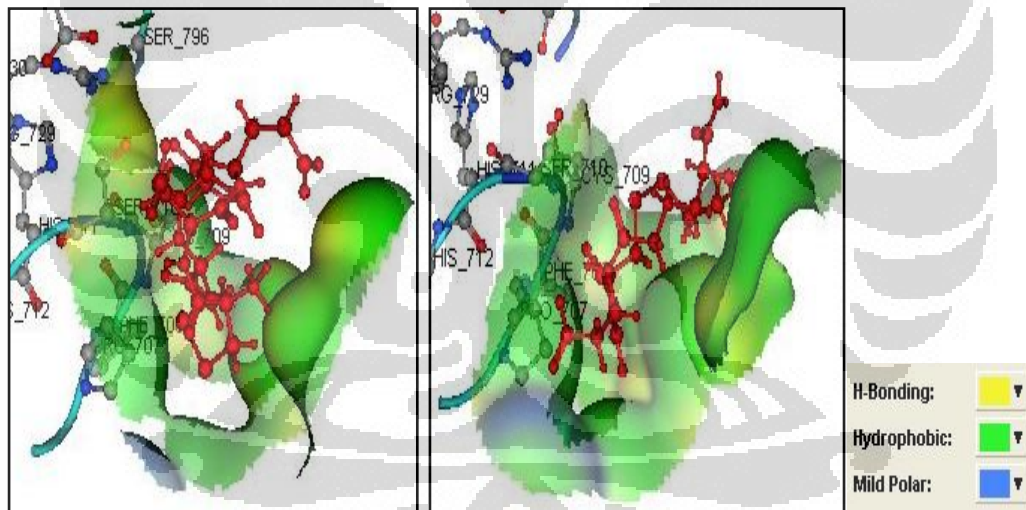
Ligan	Kontak residu *
CDEEC	asp-690, lis-689, ser-710 , asp-533, asp-664, lis-689, pro-707, cis-709
CSGDC	asp-533, thr-534, asp-663 , ala-531, ala-535, gli-536, asp-664, trp-700, pro-707, phe-708, ser-710, asp-664, cis-665.

*)ikatan hidrogen ligan-enzim ditandai dengan huruf tebal.

Berdasarkan kontak residu, kedua ligan mengadakan interaksi ke arah sisi aktif, yaitu berada atau berdekatan dengan asam amino asp-533 dan asp-663 atau asp-664. Jumlah kontak residu ligan CDEEC terlihat lebih sedikit dibandingkan CSGDC. Hal ini dapat mengindikasikan bahwa pengikatan ligan CSGDC pada enzim RdRp lebih disukai dibandingkan ligan CDEEC.

4.6.4 Analisis Interaksi Ligan Kandidat Terhadap Enzim RdRp

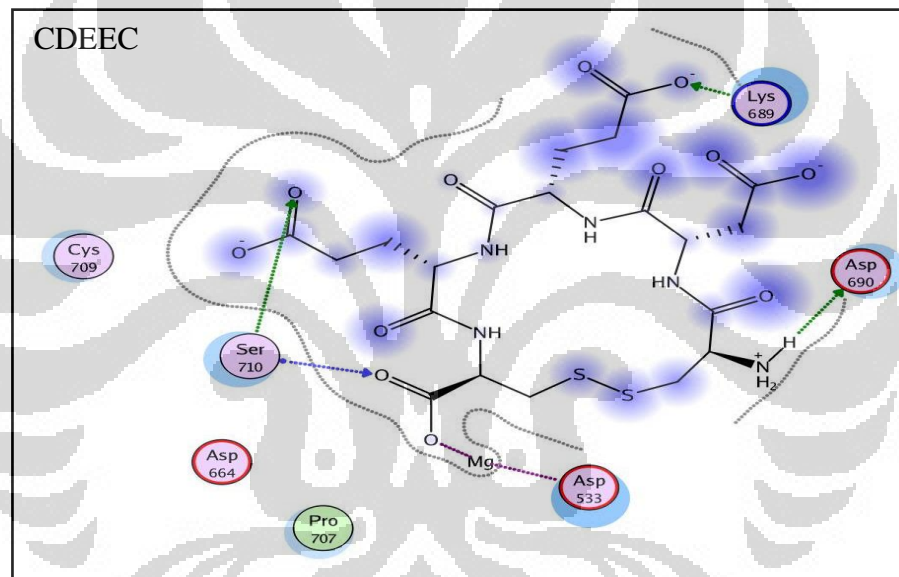
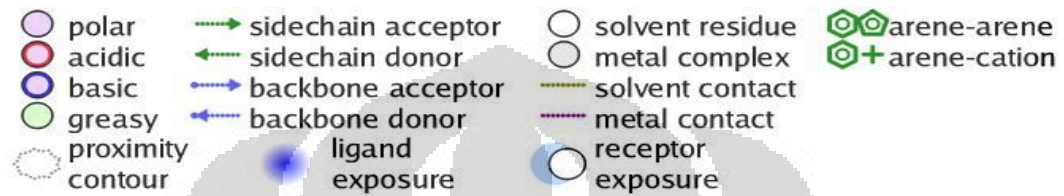
Pada Gambar 14 dapat terlihat interaksi ligan terhadap enzim RdRp virus dengue yang memiliki posisi sedikit berbeda. Ligan CSGDC berada lebih dekat dengan sisi aktif, sedangkan ligan CDEEC berada sedikit jauh dari sisi aktif. Selain itu, dapat terlihat pada bahwa bagian pengikatan sisi aktif bersifat hidrofobik. Ligan CSGDC dapat berikatan lebih kuat disebabkan memiliki sifat hidrofobik yang lebih besar dibandingkan ligan CDEEC. Perbedaan ini terletak pada asam amino glisin yang bersifat hidrofob.

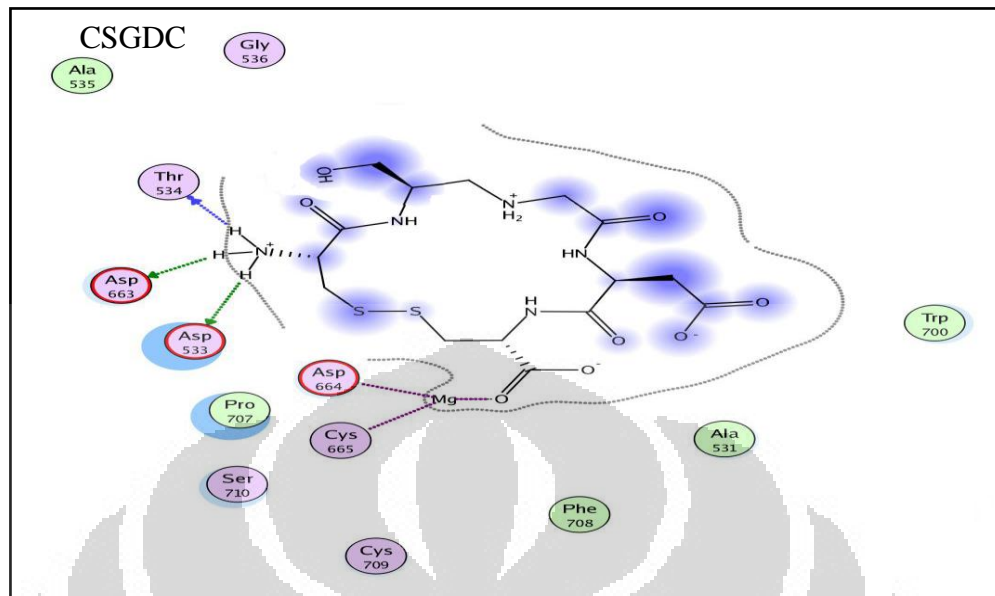


Gambar 14. Posisi ligan CDEEC (kiri) dan CSGDC (kanan) pada reseptor. Ligan digambarkan berwarna merah.

Pada Gambar 15 terlihat bahwa ikatan hidrogen yang terjadi pada CSGDC lebih sedikit dari pada CDEEC. Jumlah ikatan hidrogen untuk CSGDC sebanyak 3 buah, sedangkan CDEEC memiliki 4 ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen ini menggambarkan kuat interaksi kompleks. Jumlah ikatan

hidrogen yang lebih sedikit ini kemungkinan disebabkan oleh asam amino glisin yang ada pada CSGDC. Walaupun jumlah ikatan hidrogen antara CSGDC dengan enzim lebih kecil dibandingkan ikatan kompleks CDEEC, tetapi ikatan hidrogen CSGDC terjadi pada dua residu katalitik enzim.





Gambar 15. Interaksi ligan CDEEC dan CSGDC.

Dua residu yang mengadakan ikatan hidrogen dengan ligan CSGDC (asp-533 dan asp-633) menggambarkan bahwa ligan berikatan dengan sisi aktif. Asp-533 berperan sebagai *general base* dan deprotonasi gugus 3'hirosil pada NTP, yang kemudian menyerang α -fosfat NTP. Asp-663 memberikan geometri yang sesuai untuk reaksi katalisis.

Kedua ligan juga memiliki interaksi dengan ion Mg^{2+} . Fungsi ion ini masih sulit dipahami, karena ditemukan berada pada posisi non-katalitik ketika enzim dalam keadaan aktif. Tetapi, ion kalsium yang tidak berperan pada proses katalisis WNV, berada pada posisi yang sama. Pendapat para peneliti yang ada saat ini adalah, ion tersebut mungkin berperan pada mekanisme inisiasi *de novo* untuk memfasilitasi pergerakan ds RNA *nascent* setelah pembentukan dua nukleotida pertama di luar sisi aktif. Berdasarkan data interaksi kedua ligan tersebut, dapat terlihat bahwa ligan CSGDC

memiliki potensi yang lebih besar untuk berikatan dengan sisi aktif enzim. Adanya ikatan ionik antara ligan dengan ion Mg^{2+} menandakan bahwa terdapat interaksi yang akan menghambat pergerakan ds RNA *nascent*.

4.7. Simulasi Dinamika Molekul

Simulasi dinamika molekul (SDM) terhadap ligan DEE dan SGD yang dilakukan hanya pada tahap inialisasi. Tahap ini adalah tahap persiapan SDM dari kompleks enzim-ligan yang dihasilkan pada simulasi *docking*. Witoelar pada skripsinya menjelaskan bahwa pada tahap inialisasi terdiri dari penentuan sistem unit, algoritma, parameter simulasi dan inialisasi molekul-molekul. Inialisasi molekul melibatkan penentuan posisi awal dan kecepatan awal molekul-molekul.

Kompleks enzim-ligan yang akan digunakan dilakukan optimasi *partial charges* dan minimisasi terlebih dulu dengan kalkulasi energi menggunakan *force field* MMFF94x. Berbeda dengan simulasi *docking* yang menggunakan solvasi *gas phase*, SDM menggunakan solvasi implisit *born*. Penggunaan solvasi implisit untuk menerapkan kondisi pelarut sebagai medium dan tidak terlalu terlibat pada proses simulasi. Solvasi *born* ini merupakan satu-satunya jenis solvasi pada MOE.2008.10 yang mengikutsertakan perhitungan E_{sol} pada sistem, yang berarti simulasi dilakukan dengan menggunakan pelarut. Perhitungan energi solvasi *born* mengikuti persamaan:

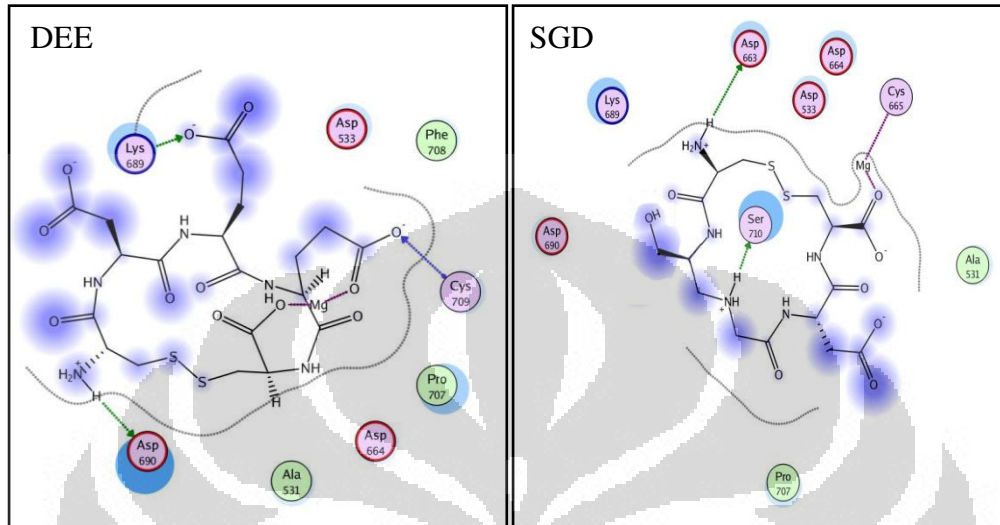
$$E_{sol} = -w_{sol}W(d^{-1} - d_x^{-1}) \frac{e^2}{4\pi\epsilon_0} \frac{1}{2} \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^n \frac{q_i q_j \sqrt{G_i G_j}}{\sqrt{y_{ij} + \exp(-y_{ij})/4}} s(r_{ij}) T_{ij}, \quad y_{ij} = r_{ij}^2 G_i G_j$$

dengan w_{sol} dan W adalah berat molekul, d adalah konstanta dielektrik pada zat terlarut, d_x adalah konstanta dielektrik pelarut, s dan T adalah energi van der Waals, dan G_i adalah energi diri dari atom i (MOE *tutorial*, 2008).

Spesifikasi statistik yang akan digunakan pada simulasi untuk menghasilkan konformasi, diatur pada *ensemble*. Parameter yang digunakan sesuai dengan default pada MOE yaitu *ensemble* NVT (N , jumlah atom; V , volume; T , temperatur) dengan temperatur konstan 300K dan tekanan 101kPa. Parameter ini digunakan karena pada eksperimen yang sebenarnya, lebih mudah melakukan pengaturan terhadap temperatur. 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* simulasi disimpan setiap 0,5 piko detik sampai 100 piko detik. Pengamatan simulasi dilakukan dengan melihat interaksi kompleks enzim-ligan antara atom ligan dengan atom-atom enzim pada akhir simulasi (100 piko detik). Pengaturan waktu simulasi inisialisasi ini berdasarkan yang dilakukan oleh Balatsos. Pada tahap ini, sistem belum mencapai keadaan ekuilibrium. Tujuan dari SDM pada penelitian ini untuk melakukan pengamatan terhadap interaksi ligan akibat sistem walaupun hanya pada tahap inisialisasi. Pengamatan gerakan dari

kompleks enzim-ligan pada waktu 0, 25, 50, 75, dan 100 piko detik dapat dilihat pada Lampiran 7.



Gambar 16. Interaksi ligan CDEEC dan CSGDC setelah 100 piko detik.

Pengamatan inisialisasi simulasi dinamika molekul terhadap kedua ligan (gambar 16) menggambarkan bahwa ligan CSGDC masih memiliki interaksi dengan salah satu residu sisi aktif, yaitu asp-663. Hal ini berbeda dengan ligan CDEEC yang sama sekali tidak memiliki interaksi terhadap sisi aktif.

Berdasarkan hasil analisis *docking* dan *drugscan*, dapat disimpulkan bahwa ligan peptida siklik CSGDC (Cis-Ser-Gli-Asp-Cis) dapat dijadikan inhibitor kompetitif yang potensial terhadap sisi aktif enzim RdRp virus dengue, berlandaskan:

1. Memiliki energi bebas ikatan yang rendah dibandingkan ligan CDEEC, yaitu sebesar -29,6122 Kkal/mol.

2. Memiliki parameter yang sesuai sebagai kandidat obat oral, yaitu sesuai dengan *lipinski rule's of five*.
3. Memiliki kontak residu yang lebih banyak dibandingkan ligan CDEEC, yaitu asp-533, thr-534, asp-663, ala-531, ala-535, gli-536, asp-664, trp-700, pro-707, phe-708, ser-710, asp-664, cis-665.
4. Memiliki interaksi berupa ikatan hidrogen dengan motif A (asp-533) dan C (asp-663) pada sisi katalitik enzim.
5. Memiliki ikatan ionik dengan ion Mg^{2+} yang akan menghambat pergerakan ds RNA *nascent*.
6. Pada inisialisasi simulasi dinamika molekul, ligan CSGDC masih memiliki interaksi dengan salah satu residu sisi aktif, yaitu asp-663.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil analisis *docking* dan *drugscan* dapat disimpulkan bahwa ligan pentapeptida siklik CSGDC dapat dijadikan sebagai inhibitor yang potensial bagi sisi aktif enzim RdRp virus dengue, disebabkan beberapa hal, yaitu energi bebas ikatan sebesar -29,6122 Kkal/mol, dan kenyataan bahwa ligan ini sesuai dengan kriteria obat yang dirumuskan Lipinski dalam RO5 (*rule's of five*).

Kontak residu CSGDC yang lebih banyak dibandingkan ligan CDEEC, yaitu asp-533, thr-534, asp-663, ala-531, ala-535, gli-536, asp-664, trp-700, pro-707, phe-708, ser-710, asp-664, dan cis-665 membuat ligan lebih kuat berinteraksi dengan enzim.

Interaksi berupa ikatan hidrogen dengan motif A (asp-533) dan C (asp-663) pada sisi katalitik enzim oleh ligan CSGDC dapat menghambat proses katalisis.

Ikatan ionik terhadap ion Mg^{2+} oleh ligan menggambarkan kemungkinan penghambatan pergerakan ds RNA *nascent* pada mekanisme inisiasi secara *de novo*.

Hasil inisialisasi simulasi dinamik terhadap ligan CDEEC dan CSGDC menggambarkan bahwa ligan CSGDC mengadakan interaksi dengan residu pada bagian katalitik (asp-633).

5.2. Saran

Disarankan untuk penelitian selanjutnya melakukan studi lebih lanjut terhadap simulasi dinamika molekul diperlukan untuk melihat efek pengikatan ligan terhadap sisi aktif enzim serta, efek ADMET dari ligan ataupun kemungkinan terjadinya mutasi pada enzim akibat pengikatan dengan ligan.

DAFTAR PUSTAKA

- Agopian, Audrey, Edwige Gros, Gudrun Aldrian-herrada, Nathalie Bosquet, Pascal Clayette dan Gilles Divita. 2009. *A New Generation of Peptide-Based Inhibitors Targeting HIV-1 Reverse Transcriptase Conformational Flexibility. The Journal of Biological Chemistry* 284,1: 254-64.
- Balatsos, Nikolaos A. A, Dimitrios Vlachakis, Panagiotis Maragozidis, Stella Manta, Dimitrios Anastasakis, Athanasios Kyritsis, Metaxia Vlasi, Dimitri Komiotis, Constantinos Stathopoulos. 2009. *Competitive Inhibition of Human Poly(A)-Specific Ribonuclease (PARN) by Synthetic Fluoro-Pyranosyl Nucleosides. Biochemistry*, 48: 6044-6051.
- Bian, Wahyu Ronggo W. 2009. Karya Sarjana Utama Kimia: Studi Pendahuluan Perancangan Inhibitor Peptida Potensial bagi Enzim *Rna-Dependent Rna Polymerase* pada Virus Dengue secara *In Silico*. Depok: Departemen Kimia FMIPA -UI.
- Djik, Alerdina A. Van, Eugene V. Makeyev, Dennis H. Bamford. 2004. *Initiation of Viral RNA-Dependent RNA Polymerization. Journal of General Virology*, 85: 1077-1093.

- Hecht, David dan Gary B. Fogel. 2009. *A Novel In Silico Approach to Drug Discovery via Computational Intelligence*. *J.Chem. Inf. Model*, 49: 1105-1121.
- Huther, Alexandra dan Dietrich, Ursula. 2007. *The Emergence of Peptides as Therapeutics Drug for Inhibition of HIV-1*. *AIDS Review*. 9:208-17.
- Jacobs dan Young. 1998. *Curr Opin Infect Dis* 11:319.
- Kitchen DB, Decornez H, Furr JR, Bajorath. 2004. *Docking and Scoring in Virtual Screening for Drug Discovery: Methods and Applications*. *Nature Reviews :Drug discovery* 3 (11): 935–49.
- Lagorce, David, Oliver Sperandio, Herve Galons, Maria A. Miteva, Bruno O. Villoutreix. 2008. *FAF-Drugs2: Free ADME/tox Filtering Tool to Assist Drug Discovery and Chemical Biology Projects*. *BMC Bioinformatics*, 9: 396.
- Malet, H el ene, Marie-Pierre Egloff, Barbara Selisko, Rebecca .E Butcher, Peter J. Wright, Michael Roberts, Arnaud Gruez, Gerlind Sulzenbacher, Clemens Vornhein, Gerard Bricogne, Jason M. Mackenzie, Alexander A. Khromykh, Andrew D. Davidson, Bruno Canard. 2007. *Crystal Structure of The RNA Polymerase Domain of The West Nile Virus Non-Structural Protein 5*. *The Journal of Biological Chemistry* vol 282, 14: 10678-10689.
- Malet, H el ene, Nicolas Mass e, Barbara Selisko, Jean-Louis Romette, Karine Alvarez, Jean Claude Guillemot, Hughes Tolou, Thai Leong Yap,

- Subash Vasudevan, Julien Lescar, Bruno Canard. 2008. The Flavivirus Polymerase as A Target for Drug Discovery. *Review, Antiviral Research*, 80: 23–35.
- Matheus, Severine, Xavier Deparis, Bhety Labeau, Josiane Lelarge, Jacques Morvan, Philippe Dussart. 2005. *Use of Four Dengue Virus for Determination of Dengue Immune Status by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay of Immunoglobulin G Avidity. Journal of Clinical Microbiology*: 5784-5786.
- MOE Tutorial. 2008.
- Morris, May C, Veronique Robert-Hebmann, Laurent Chaloin, Jean Mery, Frederic Heitz, Christian Devaux, Roger S. Goodyi, dan Gilles Divita. 1999. *New Potent HIV-1 Reverse Transcriptase Inhibitor. The journal of biological chemistry*: Vol. 274, No. 35.
- Nurbaiti, Santi. 2009. Disertasi: Stabilitas Termal dan Pergerakan Dinamis *Klenow-Like* DNA Polimerase I ITB-1 Berdasarkan Simulasi Dinamika Molekul. Bandung: FMIPA ITB.
- Nylander, Eva. 2007. *DockControl: a New Integrated Software for Design of Experiments and Molecular Docking: Application to HIV-Protease Inhibitors*. Umeå University. SWEDEN.
- Qi,Rui-Feng, Ling Zhang, Cheng Wu Chi. 2008. *Biological Characteristics of Dengue Virus and Potential Targets for Drug Design. Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 40: 91-101.

- Sampath dan Padmanabhan. 2009. *Molecular targets for flavivirus drug discovery. Antiviral Research* 81: 6–15.
- Shattuck, Thomas W. 2003. *Colby College Molecular Mechanics Tutorial MOE Version. Department of Chemistry Colby College.*
- Tomlinson, S. M., Malmstrom, R. D. dan Watowich, S. J.. 2009. *New Approaches to Structure-Based Discovery of Dengue Protease Inhibitors. Infectious Disorders - Drug Targets: 000-000.*
- Umareddy, Indira. 2007. *Inauguraldissertation: Towards Understanding of the Replication and Pathogenesis of Dengue Infection. Basel University.*
- Witoelar, Aree. 2002. Karya Sarjana Utama Teknik Fisika: Perancangan dan Analisa Simulasi Dinamika Molekul Ensemble Mikrokanonikal dan Kanonikal dengan Potensial Lennard Jones. Departemen Teknik Fisika Fakultas Teknologi Industri-ITB.
- Yap, Thai Leong, Ting Xu, Yen-Liang Chen, Helene Malet, Marie-Pierre Egloff, Bruna Cannard, Subash G Vasudevan, Julian Lescar. 2007. *Crystal Structure of Dengue Virus RNA-dependent RNA Polymerase Catalytic Domain at 1.85 Å Resolution. Journal of Virology*; 81(9):4753-4765.
- Yagi, Yukiko, Kotaro Terada, Takahisa Noma, Kazunori Ikebukuro and Koji Sode. 2007. *In silico panning for a non-competitive peptide inhibitor. BMC Bioinformatics. doi:10.1186/1471-2105-8-11.*

Yennamalli, Ragothaman, Naidu Subbarao, Thorsten Kampmann, Ross P.

McGeary, Paul R. Young, Bostjan Kobe. 2009. *Identification of novel target sites and an inhibitor of the dengue virus E protein*. *J Comput Aided Mol Des*. 23:333–341.

<http://www.bloomberg.com/apps/news?pid=newsarchive&sid=aDzYfhgBydAQ>

, diakses 4 oktober 2009, 7:40 WIB.

<http://www.combichemistry.com/drug-discovery.html>, diakses 26 September

2009, 12:30 WIB.

<http://www.cosmeticsandtoiletries.com/research/chemistry/12120536.html?page=1>,

diakses 2 desember 2009. 16:03 WIB.

http://en.allexperts.com/e/e/en/enzyme_inhibitor.htm, diakses 26 September

2009. 15:04 WIB.

http://en.wikipedia.org/wiki/Enzyme_inhibitor, diakses 26 September 2009.

12:15 WIB.

http://en.wikipedia.org/wiki/Molecular_dynamics, diakses 14 November 2009,

13:31 WIB.

http://en.wikipedia.org/wiki/Molecular_modelling, diakses 14 November 2009,

12:41 WIB.

http://en.wikipedia.org/wiki/RNA-dependent_RNA_polymerase, diakses 26

September 2009. 19:28 WIB.

<http://www.everythingbio.com/glos/definition.php?word=inhibitor%20constant>,

diakses 27 September 2009. 17:29 WIB.

http://www.iscid.org/encyclopedia/Peptide_Bond, diakses 26 September 2009. 21:26 WIB.

http://www.macresearch.org/review_moe_molecular_operating_environment. diakses 27 September 2009. 20:01 WIB.

<http://www.mannfbe.org/commercialize/approval-process.htm>, diakses 4 Desember 2009. 12:04 WIB.

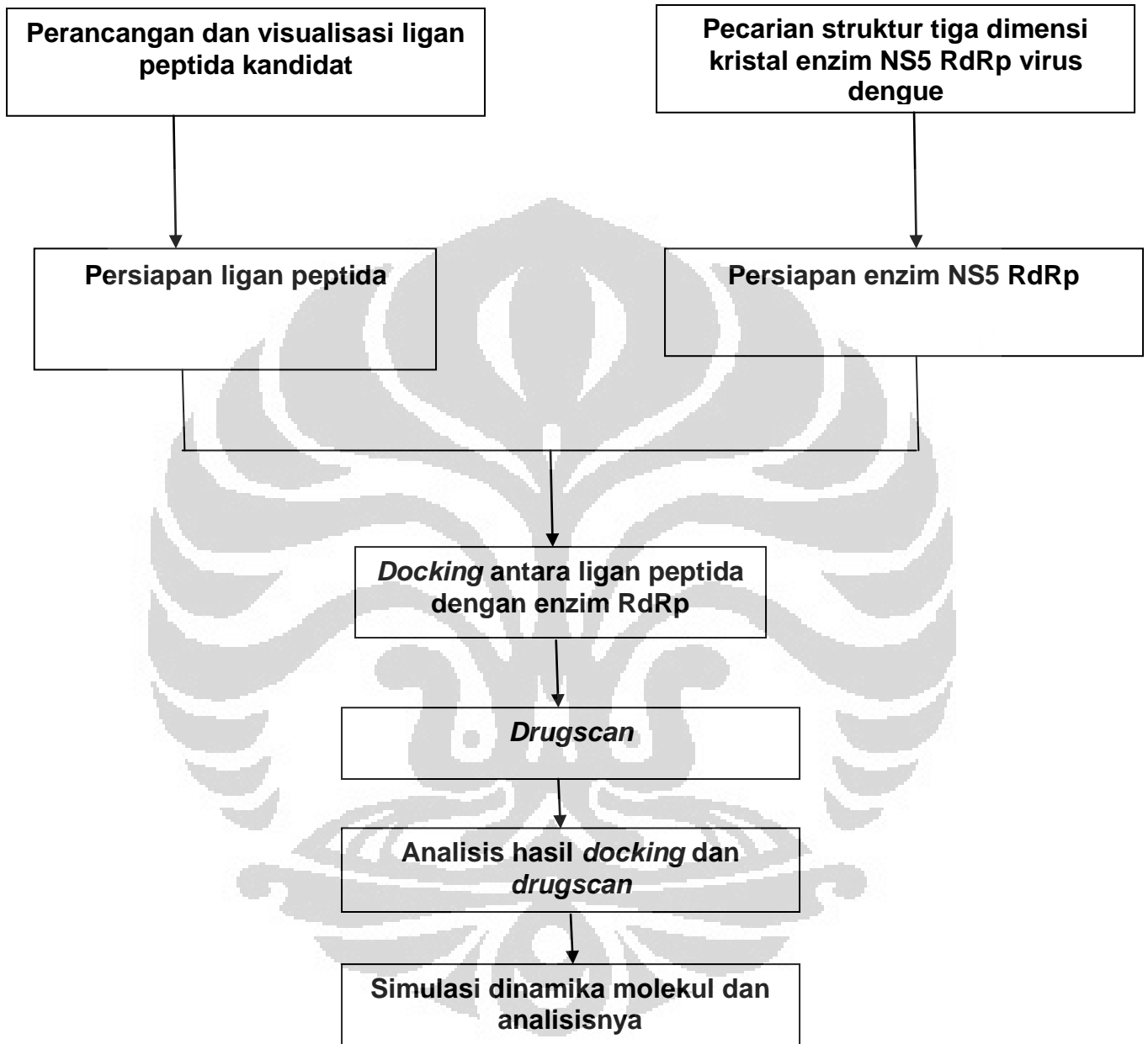
<http://www.medterms.com/script/main/art.asp?articlekey=24643>, diakses 26 September 2009. 20:44 WIB.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/About/primer/bioinformatics.html>, diakses 5 Juli 2009, 16:07 WIB.

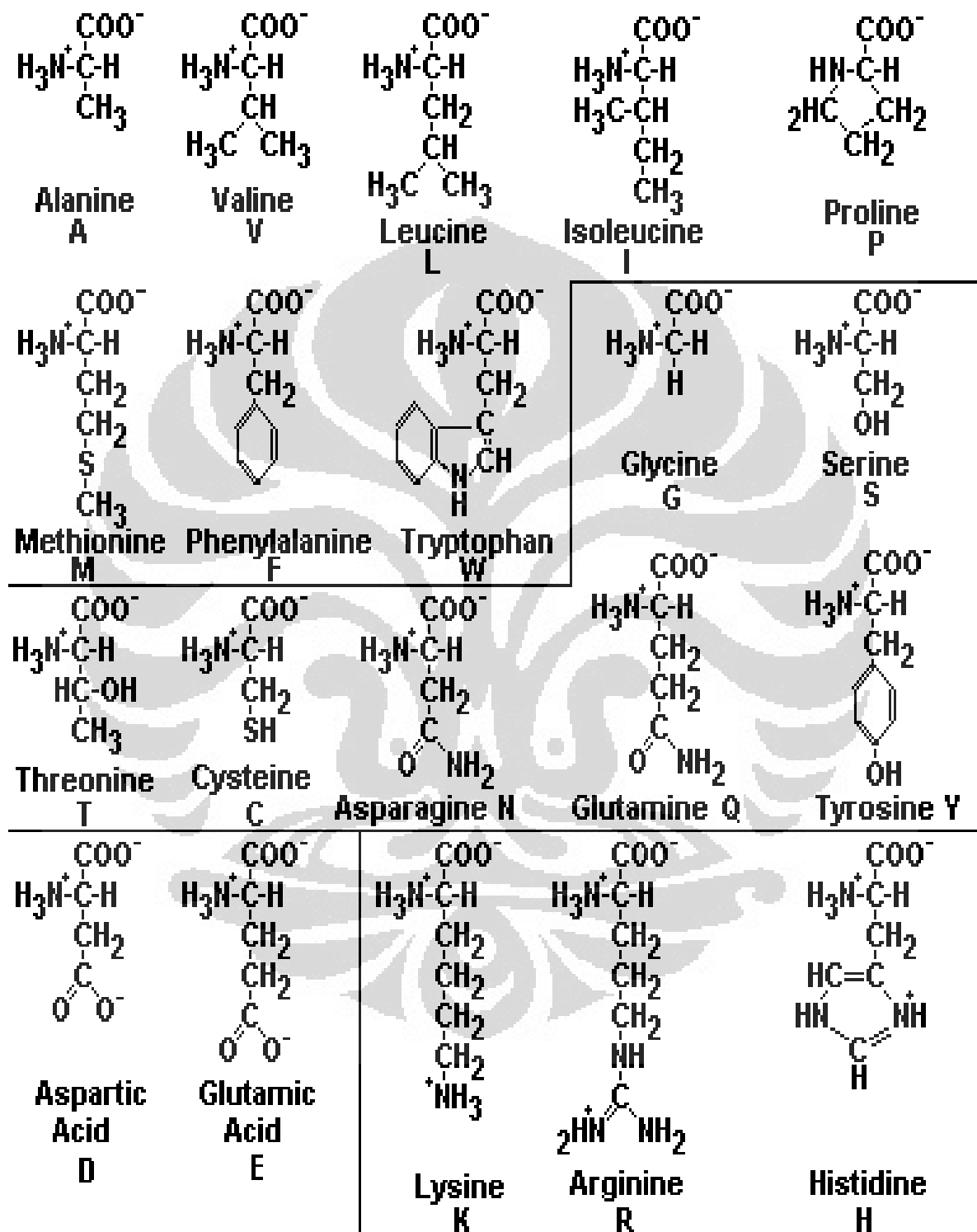
<http://www.peptideguide.com/peptides-drug-discovery.html>, diakses 26 September 2009. 13:05 WIB.

<http://www.web-books.com/MoBio/Free/Ch2C3.htm>, diakses 3 Desember 2009. 22:17 WIB.

Lampiran 1. Bagan kerja



Lampiran 2. Daftar asam amino dan kodenya



Lampiran 3. Hasil *docking*

	mol	mseq	S	E_conf	E_place	E_score1	E_refine
1	RRD.mol	169	-35.7445	3.0000	46.0246	-13.7278	-35.7445
2	RGE.mol	158	-34.1848	3.6030	-59.4573	-15.7199	-34.1848
3	DRK.mol	28	-32.8157	3.2000	-29.7526	-16.4288	-32.8157
4	RSE.mol	176	-32.2406	2.8000	7.8888	-15.0704	-32.2406
5	DSK.mol	34	-31.1672	2.0012	-31.6553	-14.5116	-31.1672
6	RER.mol	155	-30.8855	4.6231	-19.3500	-14.6456	-30.8855
7	SGD.mol	193	-29.6122	3.0000	61.2608	-13.0004	-29.6122
8	EGE.mol	50	-29.0926	4.4147	-17.4479	-13.5190	-29.0926
9	DRE.mol	26	-28.9005	4.1997	31.3725	-14.0617	-28.9005
10	RRK.mol	172	-28.7757	3.2001	-34.0982	-14.8844	-28.7757
11	RKE.mol	164	-28.6572	2.1031	17.4710	-19.3887	-28.6572
12	DRD.mol	25	-28.6065	2.4224	1.5273	-17.0737	-28.6065
13	EKR.mol	59	-28.5331	5.4002	-10.7404	-18.6868	-28.5331
14	EGK.mol	52	-28.3187	2.2000	-36.2828	-16.4156	-28.3187
15	ERD.mol	61	-27.8326	3.4614	-30.1844	-14.9030	-27.8326
16	DDS.mol	6	-26.9447	3.6590	9.8341	-15.6710	-26.9447
17	DEE.mol	8	-25.6901	4.0791	33.2727	-15.9405	-25.6901
18	RRR.mol	173	-25.2766	3.3709	-15.4310	-14.3343	-25.2766
19	EDE.mol	38	-24.1553	1.9237	3.8804	-15.0894	-24.1553
20	EGS.mol	54	-23.8497	4.0000	-37.8763	-12.8807	-23.8497
21	DEK.mol	10	-23.4616	2.4020	-42.7419	-13.1731	-23.4616
22	RDK.mol	148	-23.4306	2.4000	-18.2562	-17.2199	-23.4306
23	RKD.mol	163	-23.1456	2.2000	8.1102	-16.7631	-23.1456
24	DGR.mol	17	-23.0870	2.8000	18.5661	-13.2042	-23.0870
25	REK.mol	154	-21.7685	0.8000	-53.3813	-13.5166	-21.7685
26	RDS.mol	150	-21.6335	3.0000	40.0762	-13.9151	-21.6335
27	DKE.mol	20	-21.4068	3.2852	-30.4030	-17.2367	-21.4068
28	RSS.mol	180	-21.2938	3.0000	-38.5469	-16.0111	-21.2938
29	GDD.mol	73	-20.6443	2.5123	-42.3834	-13.7635	-20.6443
30	DDE.mol	2	-20.4631	2.4281	-35.2203	-14.2578	-20.4631
31	RRG.mol	171	-20.1410	2.6023	-35.7945	-15.6001	-20.1410
32	ERS.mol	66	-20.0150	1.8000	-25.9629	-13.1573	-20.0150
33	RDG.mol	147	-20.0101	0.4000	-52.5003	-19.0337	-20.0101
34	ESG.mol	69	-19.9396	2.8331	11.3607	-14.3661	-19.9396
35	DER.mol	11	-19.9290	2.2000	-43.7206	-13.9564	-19.9290
36	DKK.mol	22	-19.9276	3.5931	-35.9543	-14.0912	-19.9276
37	ESR.mol	71	-19.6109	3.3270	26.6217	-15.4067	-19.6109
38	GRR.mol	101	-19.3445	2.4000	-37.0390	-12.3970	-19.3445
39	SKE.mol	200	-19.3214	3.9545	33.0542	-12.9521	-19.3214
40	GKD.mol	91	-19.2663	1.6065	-61.6549	-13.2191	-19.2663

	mol	mseq	S	E_conf	E_place	E_score1	E_refine
41	DSR.mol	35	-19.0619	2.9993	33.4463	-17.1785	-19.0619
42	RDE.mol	146	-18.8016	3.0000	-56.6212	-15.1999	-18.8016
43	RSD.mol	175	-18.2506	2.0000	-43.4363	-15.3192	-18.2506
44	DKR.mol	23	-18.2233	3.8922	-27.9377	-14.0599	-18.2233
45	SRS.mol	210	-18.1163	2.8000	-83.3512	-12.4886	-18.1163
46	EGG.mol	51	-18.0639	0.8000	-40.8616	-15.4910	-18.0639
47	KES.mol	120	-17.8445	1.9513	-55.9273	-13.6430	-17.8445
48	SSG.mol	213	-17.6309	1.2000	41.2151	-12.0568	-17.6309
49	KRS.mol	138	-17.5059	2.8828	-62.7236	-11.9724	-17.5059
50	RGD.mol	157	-17.4203	2.6000	-42.1045	-16.2411	-17.4203
51	GDR.mol	77	-17.2477	1.6000	-59.0068	-12.8376	-17.2477
52	SRG.mol	207	-17.1297	2.2000	-55.6987	-13.8294	-17.1297
53	RRE.mol	170	-16.9715	1.6000	21.0106	-15.0344	-16.9715
54	SKR.mol	203	-16.9442	1.8000	21.3945	-15.6867	-16.9442
55	GCR.mol	89	-16.8341	0.6000	-27.4146	-13.2178	-16.8341
56	KSG.mol	141	-16.6652	0.8000	-26.6268	-13.7797	-16.6652
57	GKK.mol	94	-16.5676	4.2608	13.3105	-12.6304	-16.5676
58	SRD.mol	205	-16.5632	2.7218	-34.3534	-12.6251	-16.5632
59	DGS.mol	18	-16.4255	1.3481	-28.9512	-12.8446	-16.4255
60	DRR.mol	29	-16.4224	4.4313	-64.4256	-13.6762	-16.4224
61	GCK.mol	88	-16.3435	0.4000	-24.2087	-12.4441	-16.3435
62	GRE.mol	98	-16.1921	3.2000	-66.1970	-12.6896	-16.1921
63	GER.mol	83	-16.0241	1.9140	-65.4621	-13.2607	-16.0241
64	DGG.mol	15	-15.9517	1.2000	-62.1127	-12.5254	-15.9517
65	SRR.mol	209	-15.9040	2.1986	-4.6246	-12.6916	-15.9040
66	KKK.mol	130	-15.8560	2.5570	-43.8048	-12.1371	-15.8560
67	KRG.mol	135	-15.7919	2.1740	-42.1190	-11.8267	-15.7919
68	GKE.mol	92	-15.7731	4.0263	-51.6941	-13.4454	-15.7731
69	KDS.mol	114	-15.7311	2.3925	-50.4545	-13.7102	-15.7311
70	RKK.mol	166	-15.7276	3.0000	-37.6961	-14.5323	-15.7276
71	SKK.mol	202	-15.6929	3.4671	-33.4782	-13.7524	-15.6929
72	KEK.mol	118	-15.6379	2.8000	-18.6663	-13.0535	-15.6379
73	RKG.mol	165	-15.6253	3.6053	-77.5241	-12.9886	-15.6253
74	RED.mol	151	-15.5723	3.6281	-55.3347	-15.1848	-15.5723
75	SGE.mol	194	-15.5591	2.6000	-26.9959	-15.0077	-15.5591
76	EER.mol	47	-15.3199	3.9346	0.1515	-13.9847	-15.3199
77	RSR.mol	179	-15.2138	3.6000	16.8027	-17.5842	-15.2138
78	SGK.mol	196	-15.1970	3.4140	-31.8112	-12.4915	-15.1970
79	RSK.mol	178	-15.1415	2.0499	-12.7409	-14.8782	-15.1415
80	KER.mol	119	-15.0964	2.7738	20.1552	-13.7143	-15.0964

	mol	mseq	S	E_conf	E_place	E_score1	E_refine
81	SKG.mol	201	-15.0836	4.0000	-92.7788	-12.8874	-15.0836
82	REE.mol	152	-14.9906	4.0000	-32.1163	-15.3658	-14.9906
83	SEE.mol	188	-14.8863	1.0020	-79.7997	-13.7994	-14.8863
84	EGR.mol	53	-14.8381	3.6005	-38.2134	-13.2137	-14.8381
85	SRE.mol	206	-14.7516	4.0000	47.4575	-12.8671	-14.7516
86	EKG.mol	57	-14.7403	3.1560	-53.4882	-11.7547	-14.7403
87	GDE.mol	74	-14.6710	2.0028	53.2379	-13.9454	-14.6710
88	DEG.mol	9	-14.5941	2.5987	-85.9201	-13.8126	-14.5941
89	SKS.mol	204	-14.4226	3.0000	0.1662	-13.7386	-14.4226
90	GSK.mol	106	-14.4212	2.2710	-54.1907	-11.0699	-14.4212
91	DRG.mol	27	-14.4120	2.2000	-59.0510	-13.3021	-14.4120
92	KDK.mol	112	-14.3559	1.5562	27.3491	-13.2918	-14.3559
93	KKS.mol	132	-14.1898	3.8013	-42.3783	-12.8523	-14.1898
94	RGR.mol	161	-14.0631	2.0000	-51.8263	-13.9463	-14.0631
95	EKS.mol	60	-14.0510	1.3966	-39.2298	-12.1348	-14.0510
96	SSK.mol	214	-14.0281	0.8000	-43.3563	-11.5844	-14.0281
97	KGG.mol	123	-13.9242	0.0000	-15.7589	-13.5962	-13.9242
98	SGG.mol	195	-13.9045	1.0001	12.9755	-14.1285	-13.9045
99	KRD.mol	133	-13.8978	2.6000	22.7970	-14.1952	-13.8978
100	DSS.mol	36	-13.5931	1.3133	-50.0778	-12.3301	-13.5931
101	RGS.mol	162	-13.5789	2.8032	-44.2324	-12.8700	-13.5789
102	GKG.mol	93	-13.5546	3.8009	-78.4557	-11.9027	-13.5546
103	KSS.mol	144	-13.4458	3.4128	-34.0831	-11.5664	-13.4458
104	KDR.mol	113	-13.3497	3.7921	-12.9193	-14.3006	-13.3497
105	DSG.mol	33	-13.3136	3.5754	-63.1633	-13.1143	-13.3136
106	EGD.mol	49	-13.2812	3.8000	-78.5601	-13.0041	-13.2812
107	GSR.mol	107	-13.2258	2.8000	-22.5277	-14.3021	-13.2258
108	DDG.mol	3	-13.1901	1.9797	21.1318	-13.8195	-13.1901
109	RSG.mol	177	-13.1872	0.6000	-7.2703	-13.5867	-13.1872
110	DSE.mol	32	-13.1849	3.1942	-81.1772	-14.9582	-13.1849
111	RGK.mol	160	-13.1806	1.8000	-8.7780	-14.9228	-13.1806
112	GGE.mol	86	-13.0965	1.4000	-20.3305	-14.1078	-13.0965
113	ERK.mol	64	-13.0749	3.7975	-62.4019	-13.1463	-13.0749
114	DDK.mol	4	-13.0624	2.0026	-25.6647	-14.5829	-13.0624
115	SEK.mol	190	-13.0514	1.0003	-48.7690	-13.7408	-13.0514
116	KKD.mol	127	-13.0073	2.6086	8.2964	-14.6205	-13.0073
117	KSK.mol	142	-12.9872	4.1082	-45.1872	-12.9331	-12.9872
118	KDG.mol	111	-12.9483	3.3905	-41.4588	-13.9303	-12.9483
119	RRS.mol	174	-12.7237	3.6000	-71.3805	-16.7101	-12.7237
120	KGR.mol	125	-12.6909	3.3978	-93.2851	-13.3181	-12.6909

	mol	mseq	S	E_conf	E_place	E_score1	E_refine
121	KGD.mol	121	-12.6848	1.6000	-22.5564	-12.1533	-12.6848
122	SSS.mol	216	-12.6582	1.8000	-77.7430	-13.0535	-12.6582
123	GKR.mol	95	-12.6185	2.3140	-25.8219	-12.6994	-12.6185
124	EEG.mol	45	-12.5850	2.8000	-45.6468	-13.1912	-12.5850
125	RKR.mol	167	-12.4034	3.0147	-44.5136	-16.5721	-12.4034
126	EKD.mol	55	-12.3906	4.8000	-67.9978	-16.2359	-12.3906
127	ERE.mol	62	-12.3828	4.2927	-58.3986	-13.0088	-12.3828
128	DGK.mol	16	-12.3252	3.3013	-41.6616	-13.7568	-12.3252
129	RGG.mol	159	-12.2415	2.7995	-73.3025	-12.8768	-12.2415
130	RDR.mol	149	-12.1654	2.2000	-44.4386	-14.2085	-12.1654
131	DED.mol	7	-12.1466	2.5085	-47.4385	-13.4488	-12.1466
132	ERR.mol	65	-12.0645	3.4058	-65.8470	-14.8416	-12.0645
133	KGK.mol	124	-12.0250	2.5999	-0.1821	-13.3782	-12.0250
134	GRD.mol	97	-11.9985	3.8439	-76.1432	-13.2396	-11.9985
135	KGE.mol	122	-11.9863	3.6297	-49.6797	-13.5905	-11.9863
136	DKG.mol	21	-11.9409	2.4698	65.7518	-13.4419	-11.9409
137	KRE.mol	134	-11.9029	4.0735	-10.8655	-13.2782	-11.9029
138	SRK.mol	208	-11.8750	3.2935	-19.0349	-14.1342	-11.8750
139	GGG.mol	87	-11.8290	0.0000	0.4225	-14.3381	-11.8290
140	KKG.mol	129	-11.8268	1.4000	30.8124	-14.5021	-11.8268
141	KKR.mol	131	-11.7654	4.4535	-30.0160	-13.1716	-11.7654
142	SSR.mol	215	-11.7267	2.4000	-48.9837	-13.9775	-11.7267
143	DES.mol	12	-11.5919	3.8000	-52.5097	-12.7756	-11.5919
144	KSE.mol	140	-11.4144	4.1771	-73.8394	-12.4028	-11.4144
145	KKE.mol	128	-11.2450	3.1990	59.4045	-13.5997	-11.2450
146	SGR.mol	197	-11.2417	3.8000	-47.1696	-13.0609	-11.2417
147	KSR.mol	143	-10.9559	3.7961	-63.2396	-12.3597	-10.9559
148	DRS.mol	30	-10.9001	3.8573	-44.3447	-12.9125	-10.9001
149	EDG.mol	39	-10.5698	3.9901	9.5412	-13.0557	-10.5698
150	EED.mol	43	-10.4866	4.2015	-57.6677	-13.5271	-10.4866
151	SSE.mol	212	-10.4271	2.7694	-48.4019	-13.9207	-10.4271
152	E EK.mol	46	-10.4036	2.6252	-53.3903	-15.0907	-10.4036
153	KED.mol	115	-10.2004	2.3347	-40.8477	-13.2533	-10.2004
154	DDR.mol	5	-10.1084	4.2309	27.7914	-13.6746	-10.1084
155	ERG.mol	63	-10.0905	2.6000	-53.2971	-13.6383	-10.0905
156	EDD.mol	37	-10.0624	2.4692	4.1839	-14.2763	-10.0624
157	KEG.mol	117	-10.0461	3.5314	-72.1571	-12.3744	-10.0461
158	REG.mol	153	-9.9784	2.2000	-27.0036	-12.6980	-9.9784
159	SKD.mol	199	-9.9255	3.1999	-36.3659	-14.5929	-9.9255
160	RDD.mol	145	-9.9212	3.0398	-82.3415	-14.9055	-9.9212

	mol	mseq	S	E_conf	E_place	E_score1	E_refine
161	GSG.mol	105	-9.8638	1.6000	-61.1477	-11.4810	-9.8638
162	KRR.mol	137	-9.6390	1.6000	39.1573	-15.1026	-9.6390
163	EKK.mol	58	-9.4792	2.6000	-18.0973	-14.1738	-9.4792
164	KDD.mol	109	-9.4069	4.3599	-57.4649	-14.7750	-9.4069
165	GKS.mol	96	-9.3625	3.0000	-76.3919	-12.7094	-9.3625
166	ESE.mol	68	-9.3037	4.0952	-89.6145	-13.4128	-9.3037
167	RKS.mol	168	-9.1822	3.2000	-65.4911	-16.3192	-9.1822
168	EED.mol	67	-9.1822	3.0775	-62.9832	-14.3414	-9.1822
169	GRS.mol	102	-9.1768	1.4000	-45.9123	-12.5619	-9.1768
170	EES.mol	48	-9.1764	3.8516	-86.9904	-13.4889	-9.1764
171	SDK.mol	184	-9.1484	1.6000	-57.9886	-15.2204	-9.1484
172	EDR.mol	41	-9.1046	2.6779	-24.3512	-13.4991	-9.1046
173	GSE.mol	104	-9.0996	1.6000	-31.9684	-12.8479	-9.0996
174	EDS.mol	42	-9.0735	3.0312	-52.4122	-13.2102	-9.0735
175	KEE.mol	116	-9.0611	3.8166	-55.5251	-13.5753	-9.0611
176	KGS.mol	126	-8.8847	3.8242	-58.7390	-11.7259	-8.8847
177	KSD.mol	139	-8.8505	4.1472	-42.5139	-12.2932	-8.8505
178	GED.mol	79	-8.7575	2.5264	-64.8832	-14.0716	-8.7575
179	SED.mol	187	-8.6699	0.9695	-80.2970	-13.2758	-8.6699
180	SDG.mol	183	-8.6686	1.9358	-59.7835	-12.2496	-8.6686
181	SES.mol	192	-8.6362	3.3916	-21.5667	-12.7106	-8.6362
182	DKS.mol	24	-8.6104	2.3481	13.4637	-12.0438	-8.6104
183	GGS.mol	90	-8.4186	2.2000	-45.0113	-12.2219	-8.4186
184	SER.mol	191	-8.4112	3.5986	56.3521	-12.8795	-8.4112
185	EKE.mol	56	-8.1980	3.6793	-26.5092	-14.5684	-8.1980
186	ESK.mol	70	-8.0387	2.4061	-84.9413	-12.7463	-8.0387
187	SDE.mol	182	-7.8399	1.3078	-42.8048	-14.4326	-7.8399
188	GEG.mol	81	-7.8187	3.2441	-61.2320	-13.1517	-7.8187
189	ESS.mol	72	-7.5010	3.3111	-49.1049	-12.7887	-7.5010
190	SSD.mol	211	-7.4886	3.0000	-68.2938	-13.4834	-7.4886
191	GGD.mol	85	-7.4583	1.5500	-13.7388	-12.2519	-7.4583
192	GDC.mol	75	-7.4235	2.9368	31.9504	-12.2647	-7.4235
193	GDS.mol	78	-7.3843	2.4040	27.2334	-12.5762	-7.3843
194	SDR.mol	185	-7.3186	2.7964	-23.8549	-14.8193	-7.3186
195	SEG.mol	189	-6.9933	1.8000	-44.1415	-14.5297	-6.9933
196	GRK.mol	100	-6.9406	3.6243	-28.8694	-13.8226	-6.9406
197	DGE.mol	14	-6.9343	2.1991	-59.5819	-12.7515	-6.9343
198	GEK.mol	82	-6.9161	3.5713	-22.9344	-11.9468	-6.9161
199	GEE.mol	80	-6.7873	3.5467	-11.6221	-13.8893	-6.7873
200	SGS.mol	198	-6.6645	1.0000	-92.4479	-13.3393	-6.6645

201	RES.mol	156	-6.5221	2.2000	-75.5616	-13.6397	-6.5221
202	GRG.mol	99	-6.4254	2.0000	-35.6409	-14.8658	-6.4254
203	DSD.mol	31	-6.2387	3.4250	-78.1501	-13.7093	-6.2387
204	DKD.mol	19	-5.8613	3.7874	17.1677	-13.5735	-5.8613
205	DDD.mol	1	-5.4366	2.4662	-51.4418	-14.2542	-5.4366
206	GSS.mol	108	-5.4219	0.6000	-35.5621	-11.8333	-5.4219
207	SDD.mol	181	-5.1319	3.2417	-68.1550	-13.7826	-5.1319
208	GES.mol	84	-4.6666	1.8940	-86.6919	-12.8140	-4.6666
209	KDE.mol	110	-4.5285	3.2352	-40.1159	-13.5267	-4.5285
210	DGD.mol	13	-4.4815	0.6046	-84.1496	-13.3953	-4.4815
211	GDK.mol	76	-4.3158	0.8704	-15.4713	-12.8970	-4.3158
212	KRK.mol	136	-3.0164	3.8824	-52.6316	-12.7739	-3.0164
213	EDK.mol	40	-2.6199	3.6445	-86.2629	-13.5943	-2.6199
214	SDS.mol	186	-2.5029	0.6000	-77.9982	-11.5444	-2.5029
215	GSD.mol	103	-1.4576	1.0000	-49.7074	-12.3985	-1.4576
216	EEE.mol	44	-0.3759	1.0000	-63.0769	-14.9335	-0.3759

Lampiran 4. Hasil *drugscan*

View your results here:

Number of molecules:	Number of molecules passed:	Number of screening steps:
16	1 (6.25%)	1

[show list of remaining files](#)

Step 1

show details	file names	RO5 criteria
<input type="checkbox"/>	DEE.hin	failed
<input type="checkbox"/>	DRD.hin	failed
<input type="checkbox"/>	DRE.hin	failed
<input type="checkbox"/>	DRK.hin	failed
<input type="checkbox"/>	DSK.hin	failed
<input type="checkbox"/>	EGE.hin	failed
<input type="checkbox"/>	EGK.hin	failed
<input type="checkbox"/>	EKR.hin	failed
<input type="checkbox"/>	ERD.hin	failed
<input type="checkbox"/>	RER.hin	failed
<input type="checkbox"/>	RGE.hin	failed
<input type="checkbox"/>	RKE.hin	failed
<input type="checkbox"/>	RRD.hin	failed
<input type="checkbox"/>	RRK.hin	failed
<input type="checkbox"/>	RSE.hin	failed
<input type="checkbox"/>	SGD.hin	passed

[Show details](#) [create result file](#) [Help](#)

Lampiran 5. Interaksi ligan CDEEC hasil *docking*

Interaction Data

Ligand: : DEE

Receptor: 2J7U: VIRAL PROTEIN

Heavy atoms: ligand = 39, receptor = 4645

==== Ligand 1: 2J7U.A (# heavy atoms = 66) =====

ligand	receptor	residue	chain	type	score	distance
H 9257	OD 6079	ASP 690	2J7U 1	H-don	71.4%	1.39
O 9237	NZ 6064	LYS 689	2J7U 1	H-acc	86.0%	2.56
O 9243	OG 6407	SER 710	2J7U 1	H-acc	53.3%	2.54
O 9251	N 6398	SER 710	2J7U 1	H-acc	30.2%	2.84
Mg 9213	CG 3576	ASP 533	2J7U 1	weak	0.0%	2.37
Mg 9213	CB 3573	ASP 533	2J7U 1	weak	0.0%	3.85
C 9247	OD 3578	ASP 533	2J7U 1	weak	0.0%	3.82
C 9247	OD 3577	ASP 533	2J7U 1	weak	0.0%	4.14
C 9247	CG 3576	ASP 533	2J7U 1	weak	0.0%	4.35
C 9248	OD 3578	ASP 533	2J7U 1	weak	0.0%	3.89
C 9248	CG 3576	ASP 533	2J7U 1	weak	0.0%	4.48
C 9249	OD 3578	ASP 533	2J7U 1	weak	0.0%	3.81
C 9249	OD 3577	ASP 533	2J7U 1	weak	0.0%	4.18
C 9249	CG 3576	ASP 533	2J7U 1	weak	0.0%	4.00
O 9252	OD 3578	ASP 533	2J7U 1	weak	0.0%	2.85
O 9252	OD 3577	ASP 533	2J7U 1	weak	0.0%	3.01
O 9252	CG 3576	ASP 533	2J7U 1	weak	0.0%	3.33
Mg 9213	OD 5667	ASP 664	2J7U 1	weak	0.0%	3.60
Mg 9213	OD 5666	ASP 664	2J7U 1	weak	0.0%	1.74
Mg 9213	CG 5665	ASP 664	2J7U 1	weak	0.0%	2.94
Mg 9213	CB 5662	ASP 664	2J7U 1	weak	0.0%	4.08
Mg 9213	CA 5658	ASP 664	2J7U 1	weak	0.0%	4.46
C 9247	OD 5666	ASP 664	2J7U 1	weak	0.0%	4.05
O 9251	OD 5667	ASP 664	2J7U 1	weak	0.0%	4.46

O	9252	OD 5667	ASP	664	2J7U 1	weak	0.0%	3.87
O	9252	OD 5666	ASP	664	2J7U 1	weak	0.0%	2.92
O	9252	CG 5665	ASP	664	2J7U 1	weak	0.0%	3.74
C	9233	NZ 6064	LYS	689	2J7U 1	weak	0.0%	3.18
C	9233	CE 6061	LYS	689	2J7U 1	weak	0.0%	3.76
O	9234	NZ 6064	LYS	689	2J7U 1	weak	0.0%	3.11
O	9234	CE 6061	LYS	689	2J7U 1	weak	0.0%	3.48
O	9235	NZ 6064	LYS	689	2J7U 1	weak	0.0%	3.91
O	9237	CE 6061	LYS	689	2J7U 1	weak	0.0%	3.38
C	9214	OD 6079	ASP	690	2J7U 1	weak	0.0%	4.32
C	9215	OD 6079	ASP	690	2J7U 1	weak	0.0%	3.40
C	9216	OD 6079	ASP	690	2J7U 1	weak	0.0%	3.28
C	9216	CG 6077	ASP	690	2J7U 1	weak	0.0%	4.37
N	9218	OD 6078	ASP	690	2J7U 1	weak	0.0%	3.78
N	9218	CG 6077	ASP	690	2J7U 1	weak	0.0%	3.42
O	9237	OD 6078	ASP	690	2J7U 1	weak	0.0%	4.08
C	9247	CG 6361	PRO	707	2J7U 1	weak	0.0%	3.75
C	9247	CB 6358	PRO	707	2J7U 1	weak	0.0%	4.19
O	9251	CG 6361	PRO	707	2J7U 1	weak	0.0%	3.14
O	9251	CB 6358	PRO	707	2J7U 1	weak	0.0%	3.18
C	9242	CB 6393	CYS	709	2J7U 1	weak	0.0%	3.92
C	9242	O 6392	CYS	709	2J7U 1	weak	0.0%	4.46
C	9242	C 6391	CYS	709	2J7U 1	weak	0.0%	3.81
C	9242	CA 6389	CYS	709	2J7U 1	weak	0.0%	3.89
O	9243	CB 6393	CYS	709	2J7U 1	weak	0.0%	4.18
O	9243	O 6392	CYS	709	2J7U 1	weak	0.0%	3.97
O	9243	C 6391	CYS	709	2J7U 1	weak	0.0%	3.61
O	9243	CA 6389	CYS	709	2J7U 1	weak	0.0%	4.14
O	9246	CB 6393	CYS	709	2J7U 1	weak	0.0%	3.20
O	9246	C 6391	CYS	709	2J7U 1	weak	0.0%	3.90
O	9246	CA 6389	CYS	709	2J7U 1	weak	0.0%	3.50
O	9251	C 6391	CYS	709	2J7U 1	weak	0.0%	3.84
O	9251	CA 6389	CYS	709	2J7U 1	weak	0.0%	3.87
O	9251	N 6387	CYS	709	2J7U 1	weak	0.0%	4.18

C 9238	OG 6407	SER	710	2J7U 1	weak	0.0%	4.31
C 9240	OG 6407	SER	710	2J7U 1	weak	0.0%	3.98
C 9241	OG 6407	SER	710	2J7U 1	weak	0.0%	3.89
C 9241	N 6398	SER	710	2J7U 1	weak	0.0%	4.15
C 9242	OG 6407	SER	710	2J7U 1	weak	0.0%	3.53
C 9242	CB 6404	SER	710	2J7U 1	weak	0.0%	4.37
C 9242	CA 6400	SER	710	2J7U 1	weak	0.0%	4.47
C 9242	N 6398	SER	710	2J7U 1	weak	0.0%	3.76
O 9243	CB 6404	SER	710	2J7U 1	weak	0.0%	3.49
O 9243	CA 6400	SER	710	2J7U 1	weak	0.0%	3.98
O 9243	N 6398	SER	710	2J7U 1	weak	0.0%	3.59
O 9244	OG 6407	SER	710	2J7U 1	weak	0.0%	4.05
O 9246	N 6398	SER	710	2J7U 1	weak	0.0%	4.16
C 9247	N 6398	SER	710	2J7U 1	weak	0.0%	3.95
O 9251	C 6402	SER	710	2J7U 1	weak	0.0%	4.48
O 9251	CA 6400	SER	710	2J7U 1	weak	0.0%	3.52
Mg 9213	OD 3578	ASP	533	2J7U 1	ionic	79.4%	2.00
Mg 9213	OD 3577	ASP	533	2J7U 1	ionic	74.3%	1.97
O 9252	MG 9213	MG	1886	2J7U 2	ionic	100.0%	1.77

Lampiran 6. Interaksi ligan CSGDC hasil *docking*

Interaction Data

Ligand: : SGD

Receptor: 2J7U: VIRAL PROTEIN

Heavy atoms: ligand = 31, receptor = 1017

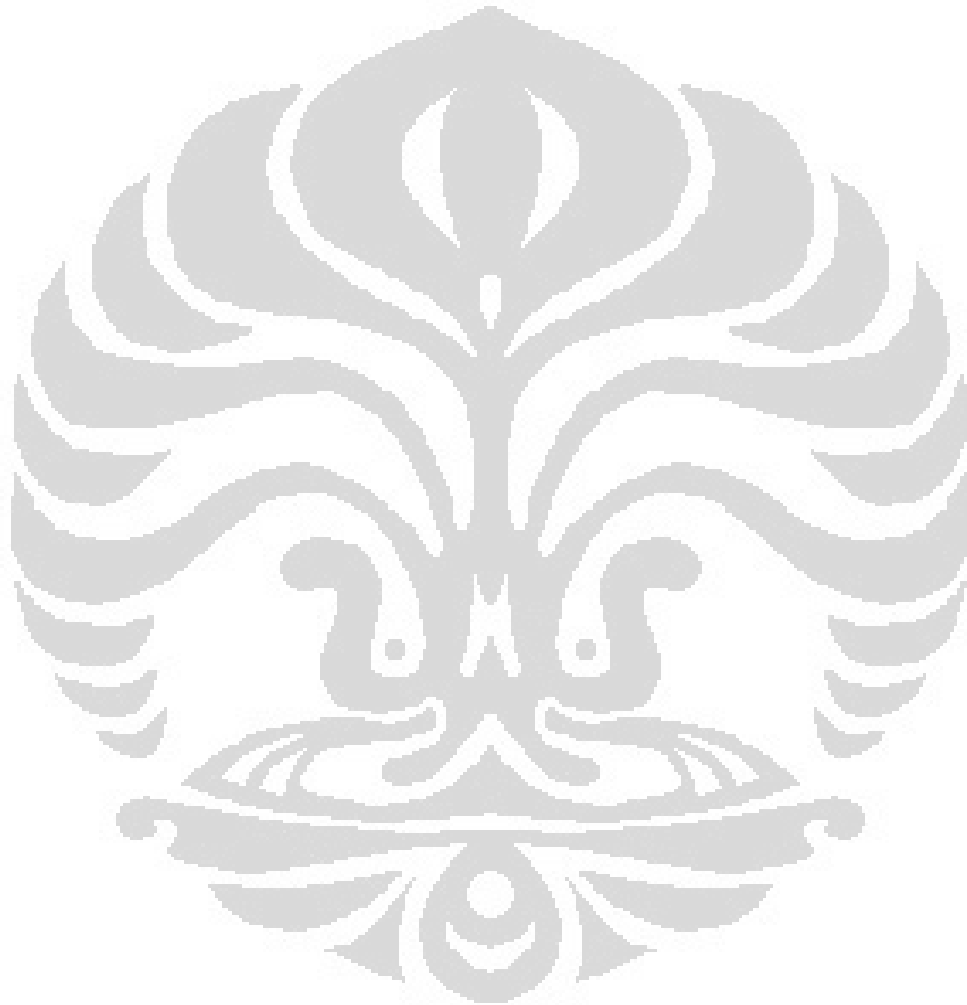
==== Ligand 1: 2J7U.A (# heavy atoms = 56) =====

ligand	receptor	residue	chain	type	score	distance
H 9249	OD 3578	ASP 533	2J7U 1	H-don	51.4%	1.53
H 9250	O 3584	THR 534	2J7U 1	H-don	24.8%	1.76
H 9248	OD 5654	ASP 663	2J7U 1	H-don	51.6%	1.41
O 9235	CB 3551	ALA 531	2J7U 1	weak	0.0%	3.61
Mg 9213	OD 3578	ASP 533	2J7U 1	weak	0.0%	4.05
Mg 9213	OD 3577	ASP 533	2J7U 1	weak	0.0%	1.85
Mg 9213	CG 3576	ASP 533	2J7U 1	weak	0.0%	3.10
Mg 9213	CB 3573	ASP 533	2J7U 1	weak	0.0%	3.92
C 9214	OD 3578	ASP 533	2J7U 1	weak	0.0%	4.00
C 9215	OD 3578	ASP 533	2J7U 1	weak	0.0%	3.24
C 9215	CG 3576	ASP 533	2J7U 1	weak	0.0%	4.28
C 9216	OD 3578	ASP 533	2J7U 1	weak	0.0%	2.88
C 9216	OD 3577	ASP 533	2J7U 1	weak	0.0%	3.68
C 9216	CG 3576	ASP 533	2J7U 1	weak	0.0%	3.56
N 9218	OD 3577	ASP 533	2J7U 1	weak	0.0%	4.24
N 9218	CG 3576	ASP 533	2J7U 1	weak	0.0%	3.69
C 9231	OD 3577	ASP 533	2J7U 1	weak	0.0%	4.49
C 9231	CB 3573	ASP 533	2J7U 1	weak	0.0%	4.36
O 9235	CB 3573	ASP 533	2J7U 1	weak	0.0%	4.02
N 9236	OD 3577	ASP 533	2J7U 1	weak	0.0%	3.69
N 9236	CG 3576	ASP 533	2J7U 1	weak	0.0%	4.23
N 9236	CB 3573	ASP 533	2J7U 1	weak	0.0%	4.28
C 9239	OD 3577	ASP 533	2J7U 1	weak	0.0%	3.71
C 9240	OD 3577	ASP 533	2J7U 1	weak	0.0%	3.86

C 9241	OD 3578	ASP	533	2J7U 1	weak	0.0%	4.10
C 9241	OD 3577	ASP	533	2J7U 1	weak	0.0%	3.31
C 9241	CG 3576	ASP	533	2J7U 1	weak	0.0%	3.75
O 9243	OD 3577	ASP	533	2J7U 1	weak	0.0%	2.85
O 9243	CG 3576	ASP	533	2J7U 1	weak	0.0%	4.01
C 9214	O 3584	THR	534	2J7U 1	weak	0.0%	3.70
C 9215	O 3584	THR	534	2J7U 1	weak	0.0%	3.79
N 9218	C 3583	THR	534	2J7U 1	weak	0.0%	3.83
N 9218	N 3579	THR	534	2J7U 1	weak	0.0%	4.27
O 9219	O 3584	THR	534	2J7U 1	weak	0.0%	3.17
O 9219	C 3583	THR	534	2J7U 1	weak	0.0%	4.19
O 9219	C 3597	ALA	535	2J7U 1	weak	0.0%	3.69
O 9219	CA 3595	ALA	535	2J7U 1	weak	0.0%	3.84
O 9219	CA 3605	GLY	536	2J7U 1	weak	0.0%	3.95
O 9219	N 3603	GLY	536	2J7U 1	weak	0.0%	3.28
C 9214	OD 5654	ASP	663	2J7U 1	weak	0.0%	4.25
C 9215	OD 5654	ASP	663	2J7U 1	weak	0.0%	3.23
C 9216	OD 5654	ASP	663	2J7U 1	weak	0.0%	4.17
N 9218	OD 5655	ASP	663	2J7U 1	weak	0.0%	4.19
N 9218	CG 5653	ASP	663	2J7U 1	weak	0.0%	3.59
O 9219	OD 5654	ASP	663	2J7U 1	weak	0.0%	4.17
Mg 9213	OD 5667	ASP	664	2J7U 1	weak	0.0%	3.58
Mg 9213	CG 5665	ASP	664	2J7U 1	weak	0.0%	2.98
Mg 9213	CB 5662	ASP	664	2J7U 1	weak	0.0%	4.19
Mg 9213	CA 5658	ASP	664	2J7U 1	weak	0.0%	4.28
C 9239	OD 5667	ASP	664	2J7U 1	weak	0.0%	4.07
C 9239	OD 5666	ASP	664	2J7U 1	weak	0.0%	3.87
C 9239	CG 5665	ASP	664	2J7U 1	weak	0.0%	4.34
O 9243	OD 5667	ASP	664	2J7U 1	weak	0.0%	3.62
O 9243	OD 5666	ASP	664	2J7U 1	weak	0.0%	2.89
O 9243	CG 5665	ASP	664	2J7U 1	weak	0.0%	3.62
O 9244	OD 5667	ASP	664	2J7U 1	weak	0.0%	3.84
O 9244	OD 5666	ASP	664	2J7U 1	weak	0.0%	4.33
O 9244	CG 5665	ASP	664	2J7U 1	weak	0.0%	4.43

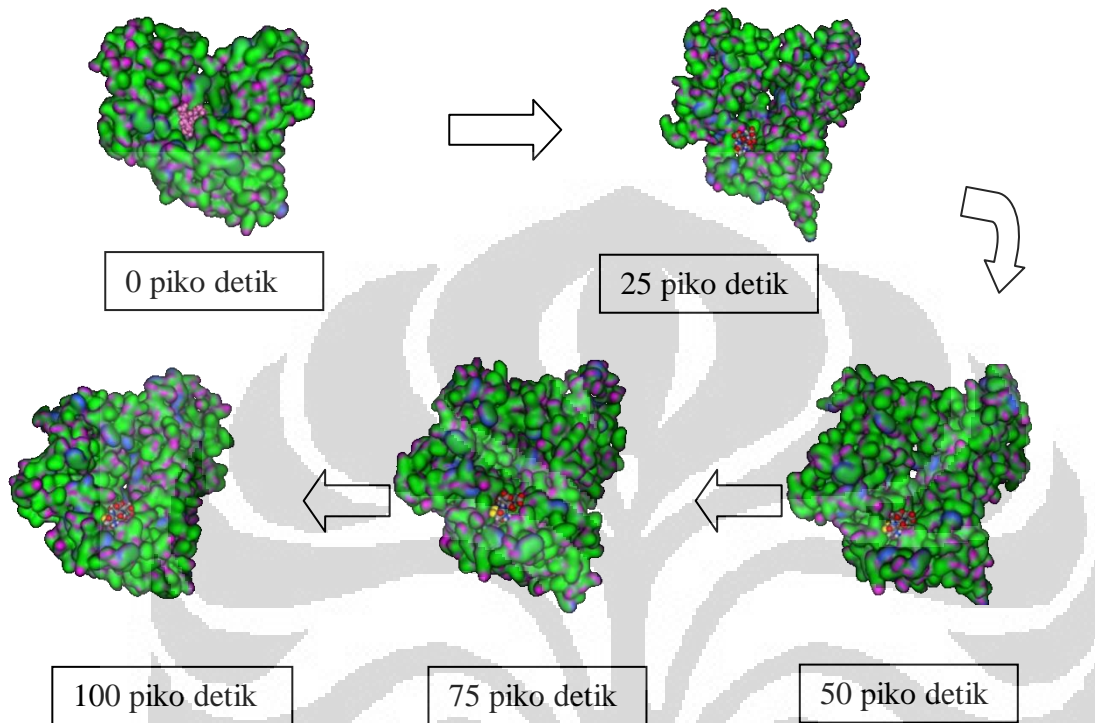
Mg 9213	CB 5674	CYS	665	2J7U 1	weak	0.0%	3.90
Mg 9213	N 5668	CYS	665	2J7U 1	weak	0.0%	3.65
O 9243	SG 5677	CYS	665	2J7U 1	weak	0.0%	3.84
O 9237	CH 6247	TRP	700	2J7U 1	weak	0.0%	3.42
O 9237	CZ 6243	TRP	700	2J7U 1	weak	0.0%	3.42
C 9231	CG 6361	PRO	707	2J7U 1	weak	0.0%	4.01
C 9234	CG 6361	PRO	707	2J7U 1	weak	0.0%	3.88
C 9234	CB 6358	PRO	707	2J7U 1	weak	0.0%	4.44
O 9235	CG 6361	PRO	707	2J7U 1	weak	0.0%	4.29
N 9236	CG 6361	PRO	707	2J7U 1	weak	0.0%	3.59
N 9236	CB 6358	PRO	707	2J7U 1	weak	0.0%	4.06
O 9237	CD 6364	PRO	707	2J7U 1	weak	0.0%	4.34
O 9237	CG 6361	PRO	707	2J7U 1	weak	0.0%	3.98
O 9238	CG 6361	PRO	707	2J7U 1	weak	0.0%	3.60
O 9238	CB 6358	PRO	707	2J7U 1	weak	0.0%	3.72
C 9239	CG 6361	PRO	707	2J7U 1	weak	0.0%	3.98
C 9239	CB 6358	PRO	707	2J7U 1	weak	0.0%	3.69
C 9239	O 6357	PRO	707	2J7U 1	weak	0.0%	4.37
C 9239	C 6356	PRO	707	2J7U 1	weak	0.0%	4.26
C 9240	CG 6361	PRO	707	2J7U 1	weak	0.0%	4.03
C 9240	CB 6358	PRO	707	2J7U 1	weak	0.0%	3.93
O 9243	CG 6361	PRO	707	2J7U 1	weak	0.0%	4.23
O 9243	CB 6358	PRO	707	2J7U 1	weak	0.0%	4.30
O 9243	O 6357	PRO	707	2J7U 1	weak	0.0%	4.17
O 9243	C 6356	PRO	707	2J7U 1	weak	0.0%	4.42
O 9244	CG 6361	PRO	707	2J7U 1	weak	0.0%	4.34
O 9244	CB 6358	PRO	707	2J7U 1	weak	0.0%	3.60
O 9244	O 6357	PRO	707	2J7U 1	weak	0.0%	4.35
O 9244	C 6356	PRO	707	2J7U 1	weak	0.0%	3.94
O 9244	CA 6354	PRO	707	2J7U 1	weak	0.0%	4.33
O 9244	C 6371	PHE	708	2J7U 1	weak	0.0%	3.96
O 9244	N 6367	PHE	708	2J7U 1	weak	0.0%	3.77
O 9244	C 6391	CYS	709	2J7U 1	weak	0.0%	3.80
O 9244	CA 6389	CYS	709	2J7U 1	weak	0.0%	3.78

O 9244 N 6387 CYS 709 2J7U 1 weak 0.0% 3.34
O 9244 CA 6400 SER 710 2J7U 1 weak 0.0% 3.59
O 9244 N 6398 SER 710 2J7U 1 weak 0.0% 2.85
Mg 9213 OD 5666 ASP 664 2J7U 1 ionic 11.5% 1.80
Mg 9213 SG 5677 CYS 665 2J7U 1 ionic 24.4% 2.38
O 9243 MG 9213 MG 1886 2J7U 2 ionic 100.0% 1.80

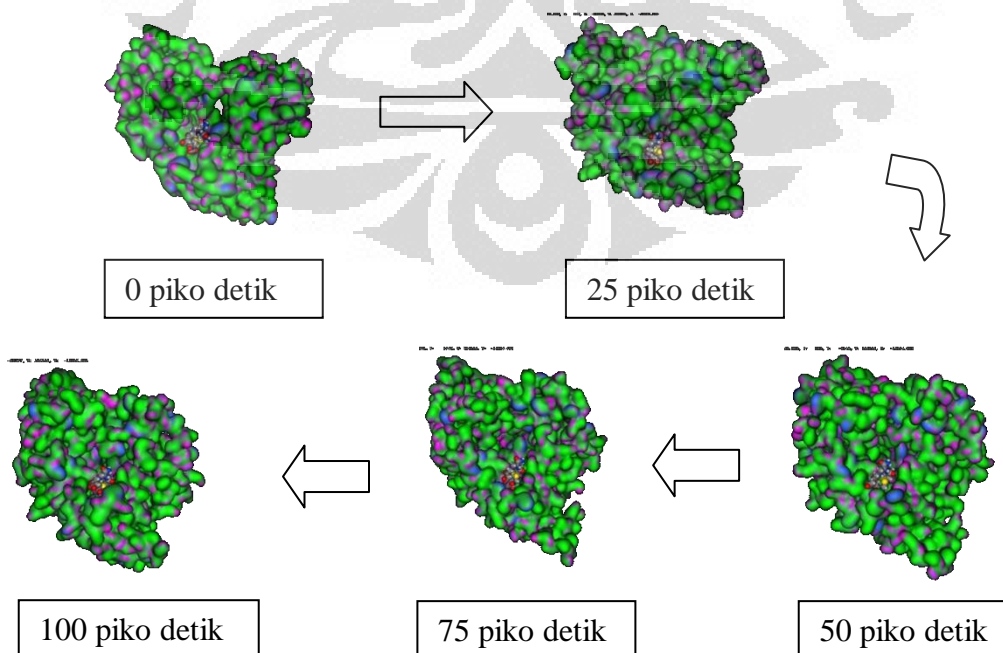


Lampiran 7. Pengamatan pergerakan kompleks enzim-ligan pada simulasi dinamika molekul

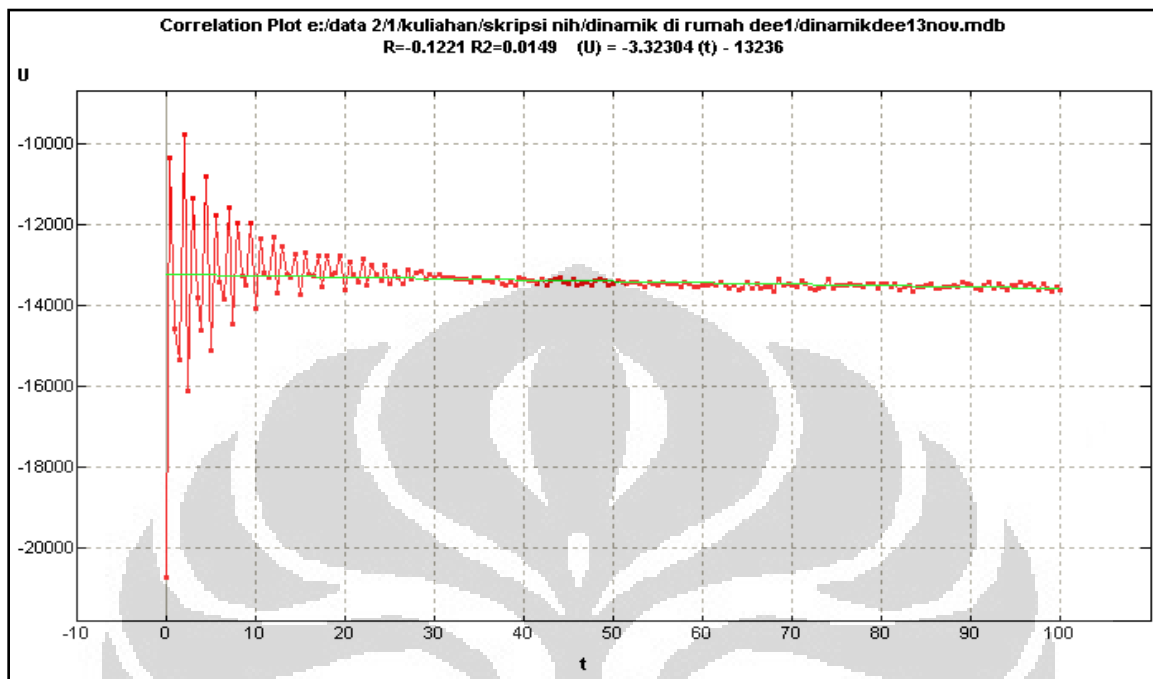
- Kompleks enzim-CDEEC



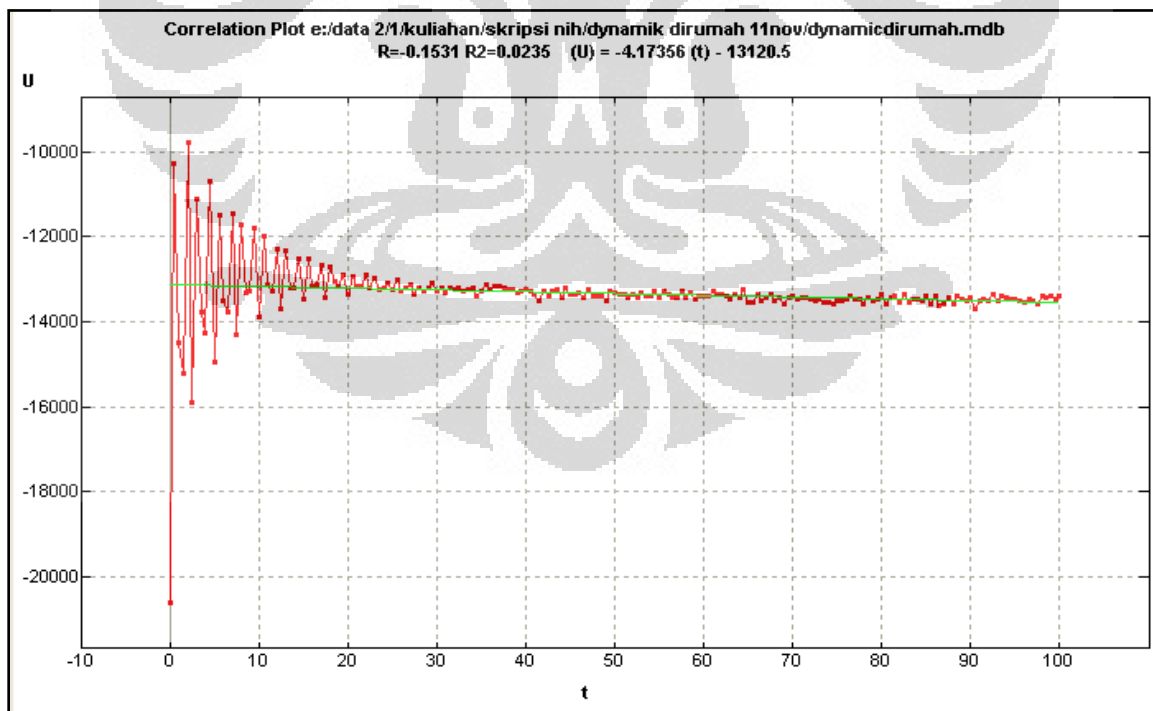
- Kompleks enzim-CSGDC



Lampiran 8. Grafik energi potensial sistem pada inialisasi simulasi dinamika molekul



Gambar 17. Grafik energi potensial sistem kompleks enzim-CDEEC pada inialisasi SDM selama 100 piko detik.



Gambar 18. Grafik energi potensial sistem kompleks enzim-CSGDC pada inialisasi SDM selama 100 piko detik.