



UNIVERSITAS INDONESIA

**SIMULASI DINAMIKA MOLEKUL KOMPLEKS *HISTONE*
DEACETYLASE (HDAC) KELAS II *HOMO SAPIENS* DENGAN
SUBEROYLANILIDE HYDROXAMIC ACID (SAHA) DAN TURUNANNYA
SEBAGAI INHIBITOR KANKER SERVIKS**

SKRIPSI

**TIRTANA PRASETIA
0606069395**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM SARJANA
DEPOK
2011**



UNIVERSITAS INDONESIA

SIMULASI DINAMIKA MOLEKUL KOMPLEKS *HISTONE DEACETYLASE* (HDAC) KELAS II *HOMO SAPIENS* DENGAN *SUBEROYLANILIDE HYDROXAMIC ACID* (SAHA) DAN TURUNANNYA SEBAGAI INHIBITOR KANKER SERVIKS

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana sains

**TIRTANA PRASETIA
0606069395**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM SARJANA
DEPOK
2011**

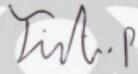
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : Tirtana Prasetia

NPM : 0606069395

Tanda Tangan :



Tanggal : 6 Juli 2011

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :

Nama : Tirtana Prasetya

NPM : 0606069395

Program Studi : Kimia

Judul Skripsi : SIMULASI DINAMIKA MOLEKUL KOMPLEKS
*HISTONE DEACETYLASE (HDAC) KELAS II HOMO
SAPIENS DENGAN SUBEROYLANILIDE
HYDROXAMIC ACID (SAHA) DAN TURUNANNYA
SEBAGAI INHIBITOR KANKER SERVIKS*

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Program Studi Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia

DEWAN PENGUJI

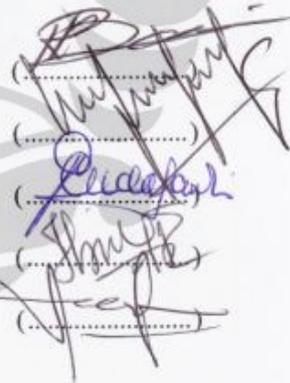
Pembimbing I : Dr. Ridla Bakri, M.Phil

Pembimbing II : Prof. Dr. Usman Sumo Friend Tambunan

Penguji : Dr. Widajanti Wibowo

Penguji : Dr. Yuni K. Krisnandi

Penguji : Dr. Endang Saepudin



(.....)

(.....)

(.....)

(.....)

(.....)

Ditetapkan di : Depok

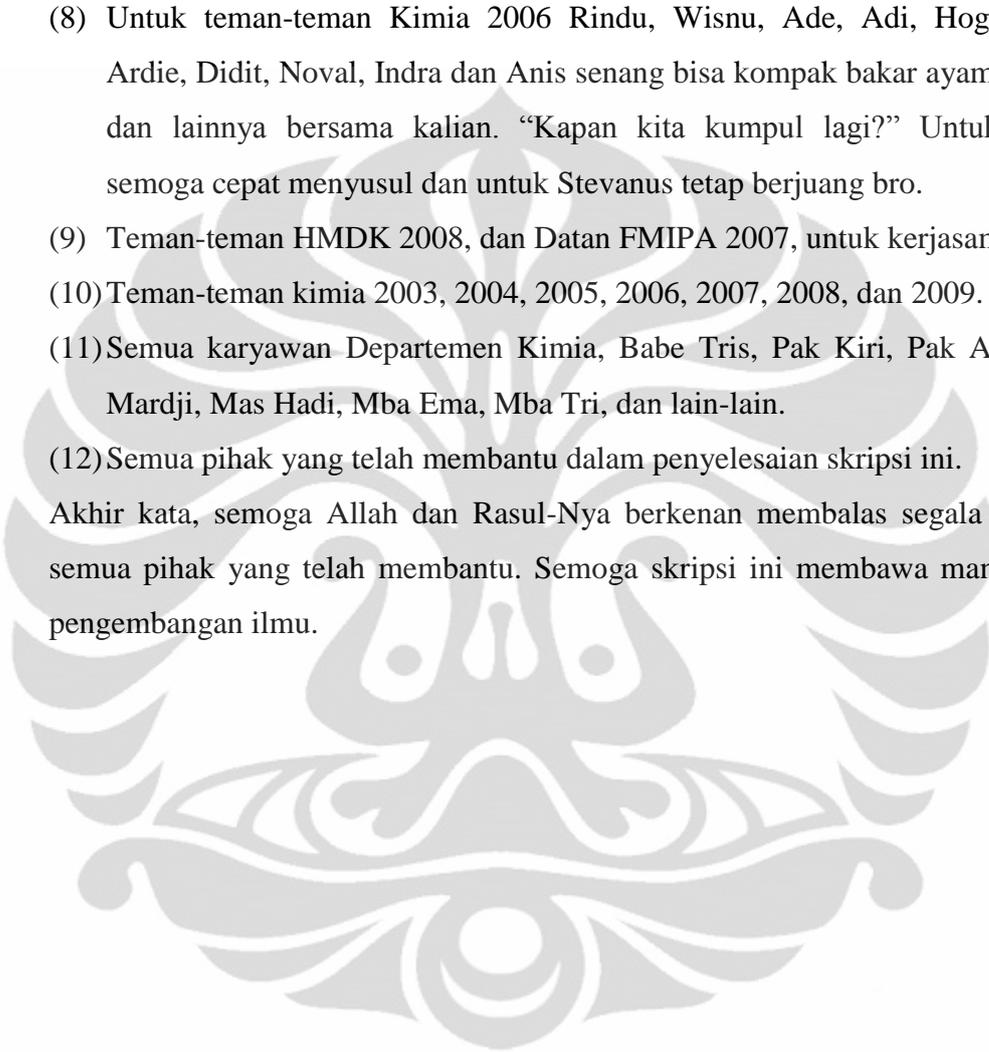
Tanggal : 6 Juli 2011

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah swt., Dzat yang menguasai kesetimbangan. Atas berkat dan karunia-Nya, kita semua merasakan nikmat yang tak terhingga pada saat ini. Teriring salam kepada junjungan Rasulullah saw yang telah membawa cahaya terang ke dalam dunia ini. Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Sains Jurusan Kimia pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Penulis menyadari bahwa, tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai pada penyusunan skripsi ini, sangatlah sulit bagi penulis untuk menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

- (1) Dr. Ridla Bakri, M.Phil dan Prof. Dr. Usman Sumo F.T selaku pembimbing penelitian yang telah bersedia membimbing penulis dalam penelitian ini serta untuk semangat dan motivasi yang selalu ditanamkan kepada penulis untuk menjadi pribadi yang lebih baik dari sebelumnya.
- (2) Drs. Sultan Badjri, M.Si selaku pembimbing akademis yang telah memberikan nasehat-nasehat mengenai perkuliahan.
- (3) Dr. Ridla Bakri, M.Phil selaku Ketua Departemen Kimia FMIPA UI, Ir. Widyastuti Samadi, M.Si selaku Koordinator Pendidikan, Dra. Tresye Utari, M.Si selaku Koordinator Penelitian, Dr. Riwandi Sihombing selaku Kepala KBI Anorganik, dan untuk seluruh dosen departemen kimia atas pengajarannya selama penulis kuliah di Departemen Kimia FMIPA UI.
- (4) Mama dan papa beserta seluruh keluarga tercinta, atas segala dorongan moril, materiil, dan terutama doa restu yang selalu mendampingi penulis.
- (5) Untuk yang terkasih, Dian Novita Lestari atas supportnya selama ini mendampingi penulis dalam keadaan jatuh bangun menyelesaikan penelitian ini.
- (6) Rekan-rekan kelompok bioinformatik sebelumnya Noval, Irwan, Kanty, dan Didit (untuk tutorial Autodock dan data Dockingnya), Harry serta Reza, atas sharingnya sebelum penelitian.

- 
- (7) Rekan-rekan penelitian satu ruangan Johannes, Tyas, dan Riski (berempat ini memang tim yang aneh). Serta kepada tim riset bioinformatik William, Randy, dan Pak Idrus terima kasih atas sharing knowledgenya yang sangat berarti buat penulis.
- (8) Untuk teman-teman Kimia 2006 Rindu, Wisnu, Ade, Adi, Hogan, Zico, Ardie, Didit, Noval, Indra dan Anis senang bisa kompak bakar ayam, touring, dan lainnya bersama kalian. “Kapan kita kumpul lagi?” Untuk Firman semoga cepat menyusul dan untuk Stevanus tetap berjuang bro.
- (9) Teman-teman HMDK 2008, dan Datan FMIPA 2007, untuk kerjasamanya.
- (10) Teman-teman kimia 2003, 2004, 2005, 2006, 2007, 2008, dan 2009.
- (11) Semua karyawan Departemen Kimia, Babe Tris, Pak Kiri, Pak Amin, Pak Mardji, Mas Hadi, Mba Ema, Mba Tri, dan lain-lain.
- (12) Semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini.

Akhir kata, semoga Allah dan Rasul-Nya berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu.

Penulis

2011

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

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

Nama : Tirtana Prasetia
NPM : 0606069395
Departemen : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis karya : Skripsi

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

SIMULASI DINAMIKA MOLEKUL KOMPLEKS *HISTONE DEACETYLASE* (HDAC) KELAS II *HOMO SAPIENS* DENGAN *SUBEROYLANILIDE HYDROXAMIC ACID* (SAHA) DAN TURUNANNYA SEBAGAI INHIBITOR KANKER SERVIKS

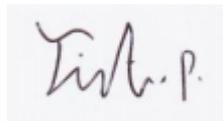
beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta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

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok

Pada tanggal : 6 Juli 2011

Yang menyatakan



(Tirtana Prasetia)

ABSTRAK

Nama : Tirtana Prasetya
Program Studi : Kimia
Judul : SIMULASI DINAMIKA MOLEKUL KOMPLEKS
HISTONE DEACETYLASE (HDAC) KELAS II *HOMO SAPIENS* DENGAN *SUBEROYLANILIDE HYDROXAMIC ACID* (SAHA) DAN TURUNANNYA SEBAGAI INHIBITOR KANKER SERVIKS

Kanker serviks merupakan kanker nomor dua yang paling sering menyerang perempuan di dunia. Kanker serviks disebabkan oleh *Human papillomavirus* (HPV) onkogenik. Inhibisi aktivitas *Histone deacetylase* (HDAC) telah diketahui sebagai strategi potensial untuk terapi kanker. SAHA merupakan inhibitor HDAC yang telah digunakan dalam terapi kanker namun masih memiliki efek samping. Modifikasi SAHA bertujuan untuk meminimalisir efek samping. Penggunaan gugus triazol pada rantai SAHA diketahui telah meningkatkan kemampuan inhibisi pada SAHA dan kurang bersifat toksik. Pada penelitian ini akan dilakukan simulasi dinamika molekul terhadap modifikasi SAHA yang terdiri dari ligan 1c, 2a, dan 2c untuk berinteraksi dengan keenam HDAC dalam kondisi yang dipengaruhi oleh pelarut. Terhadap keenam HDAC kelas II, terlebih dahulu dilakukan *docking* dengan satu inhibitor SAHA dan satu inhibitor modifikasi. Kemudian hasil *docking* tersebut dilakukan simulasi dinamika molekul untuk mengetahui afinitas inhibitor dalam kondisi tersolvasi. Hasil dari simulasi dinamika molekul menunjukkan afinitas ligan 2c dengan HDAC 4, 6, dan 7 lebih baik dibandingkan inhibitor SAHA. Afinitas yang baik juga ditunjukkan oleh ligan 2a dan 1c pada HDAC 5 dan 9. Diharapkan dari hasil penelitian ini dapat menjadi acuan untuk mendapatkan inhibitor yang lebih baik.

Kata kunci : kanker serviks, HPV, HDAC, triazol, SAHA, inhibitor modifikasi, *docking*, *dynamic*.

xiii + 144 hal : 26 gambar; 14 tabel

Bibliography : 54 (1982-2010)

ABSTRACT

Name : Tirtana prasetia
Major : Chemistry
Title : MOLECULAR DYNAMICS SIMULATION OF COMPLEX HISTONES DEACETYLASE (HDAC) CLASS II *HOMO SAPIENS* WITH SUBEROYLANILIDE HYDROXAMIC ACID (SAHA) AND ITS DERIVATIVES AS INHIBITORS OF CERVICAL CANCER

Cervical cancer is second most common cancer in woman worldwide. Cervical cancer caused by human papillomavirus (HPV) oncogene. Inhibition of histone deacetylase (HDAC) activity has been known as a potential strategy for cancer therapy. SAHA is an HDAC inhibitor that has been used in cancer therapy but still has side effects. SAHA modification proposed to minimize side effects. Triazole attachment on the chain of SAHA has been known to enhance the inhibition ability of SAHA and less toxic. In this study, it will be carried out with molecular dynamic simulations of SAHA modifications consisting ligand 1a, 2a and, 2c to interact with six HDAC in hydrated conditions. To all six Class II HDAC, performed docking with SAHA and a modified inhibitor. Then the docking results were carried out molecular dynamics simulations to determine the inhibitor affinities in hydrated conditions. Results from molecular dynamic simulations showed affinities of ligand 2c with HDAC 4, 6, and 7 were better than SAHA. Good affinity was also shown by ligand 2a and 1c on HDAC 5 and 9. The results of this study can be a reference to obtain better inhibitors.

Key word : cervical cancer, HPV, HDAC, triazole, SAHA, modified inhibitor, docking, dynamic.
xii + 144 pages : 26 pictures; 14 tables
Bibliography : 54 (1982-2010)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	vi
ABSTRAK	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	3
2. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Kanker	4
2.2 Kanker Mulut Rahim.....	4
2.3 <i>Human Papillomavirus</i> (HPV).....	6
2.4 <i>Histone Deacetylase</i> (HDAC).....	9
2.4.1 Histon dan Material Genetik.....	9
2.4.2 Klasifikasi <i>Histone Deacetylase</i> (HDAC).....	12
2.4.3 Mekanisme Aksi <i>Histone Deacetylase</i>	13
2.4.4 Inhibitor <i>Histone Deacetylase</i> (HDAC).....	14
2.4.5 <i>Suberoylanilide Hydroxamic Acid</i> (SAHA).....	14
2.4.6 Triazol.....	16
2.5 Bioinformatika.....	17
2.5.1 Definisi	17
2.5.2 <i>Protein Data Bank</i> (PDB).....	18
2.5.3 <i>Molecular Modeling</i>	17
2.5.4 <i>Docking</i>	20
2.5.5 Energi <i>Binding</i>	21
2.5.6 <i>Molecular Dynamic</i>	22
2.5.7 Parameter Simulasi Dinamika Molekul.....	22
2.5.7 Tahapan Simulasi Dinamika Molekul	24
3. METODE PENELITIAN.....	25
3.1 Peralatan	25
3.2 Prosedur Kerja	25
3.2.1 Penyiapan Struktur 3D HDAC Kelas II <i>Homo sapiens</i>	25
3.2.2 Penyiapan File HDAC Kelas II <i>Homo sapiens</i>	25
3.2.3 Penyiapan File Inhibitor HDAC Kelas II <i>Homo sapiens</i>	26
3.2.4 Penyiapan <i>Grid Box</i>	26

3.2.5 Simulasi <i>Docking</i>	26
3.2.6 Analisa Hasil <i>Docking</i>	26
3.2.7 Persiapan <i>Molecular Dynamic Simulation</i>	27
3.2.8 <i>Molecular Dynamic Simulation</i>	28
3.2.9 Proses <i>Molecular Dynamic Simulation</i>	28
3.2.10 Analisis Hasil <i>Molecular Dynamic Simulation</i>	28
4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	29
4.1 Penyiapan Struktur HDAC Kelas II <i>Homo sapiens</i>	29
4.2 Visualisasi Sisi Aktif HDAC Kelas II <i>Homo sapiens</i>	31
4.3 Penyiapan Inhibitor HDAC Kelas II <i>Homo sapiens</i>	32
4.4 Penyiapan Enzim dan Ligan untuk <i>Docking</i>	32
4.5 <i>Docking</i>	33
4.6 Analisa Hasil <i>Docking</i>	34
4.6.1 Interaksi Ligan dengan HDAC Kelas II <i>Homo sapiens</i>	34
4.6.2 Energi Bebas Ikatan ($\Delta G_{\text{binding}}$) dan Konstanta Inhibisi (K_i).....	36
4.6.3 Visualisasi 3D Hasil <i>Docking</i>	38
4.7 Simulasi Dinamika Molekul (<i>Molecular Dynamic Simulation</i>).....	40
4.7.1 Simulasi Dinamika Molekul pada Temperatur 300 K.....	43
4.8 Analisis Hasil <i>Dynamic</i> pada Temperatur 300 K.....	43
4.8.1 Analisis Interaksi Ligan dengan HDAC 4.....	43
4.8.2 Analisis Interaksi Ligan dengan HDAC 5.....	45
4.8.3 Analisis Interaksi Ligan dengan HDAC 6.....	46
4.8.4 Analisis Interaksi Ligan dengan HDAC 7.....	47
4.8.5 Analisis Interaksi Ligan dengan HDAC 9.....	48
4.8.6 Analisis Interaksi Ligan dengan HDAC 10.....	49
4.9 Analisis Hasil <i>Docking</i> dan Simulasi Dinamika Molekul.....	50
5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	53
5.1 Kesimpulan.....	53
5.2 Saran.....	54
DAFTAR PUSTAKA.....	55
LAMPIRAN.....	61

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Organ reproduksi wanita	5
Gambar 2.2	Tahapan infeksi HPV menjadi kanker.....	6
Gambar 2.3	Representasi struktur genom HPV	7
Gambar 2.4	Penyerangan oncogen E6 dan E7 terhadap gen supressor tumor ..	9
Gambar 2.5	Modifikasi histon dan pengaruhnya pada proses transkripsi.....	11
Gambar 2.6	Klasifikasi HDAC	12
Gambar 2.7	Mekanisme HDAC.....	13
Gambar 2.8	Struktur SAHA	14
Gambar 2.9	Mekanisme inhibisi HDAC oleh SAHA	15
Gambar 2.10	Struktur 1,2,3-triazole (kiri) dan 1,2,4-triazole (kanan)	16
Gambar 2.11	Hasil modifikasi triazol pada rantai SAHA.....	17
Gambar 2.12	Proses <i>molecular docking</i>	20
Gambar 4.1	Struktur kristal HDAC 4 <i>Homo sapiens</i>	30
Gambar 4.2	Struktur kristal HDAC 5 <i>Homo sapiens</i>	30
Gambar 4.3	Struktur kristal HDAC 6 <i>Homo sapiens</i>	30
Gambar 4.4	Struktur kristal HDAC 7 <i>Homo sapiens</i>	30
Gambar 4.5	Struktur kristal HDAC 9 <i>Homo sapiens</i>	30
Gambar 4.6	Struktur kristal HDAC 10 <i>Homo sapiens</i>	30
Gambar 4.7	Visualisasi sisi aktif HDAC kelas II <i>Homo sapiens</i>	31
Gambar 4.8	Parameter <i>Grid box</i> dari Autodock.....	33
Gambar 4.9	Interaksi 3D antara ligan 2c dan HDAC 4 <i>Homo sapiens</i> hasil simulasi docking	38
Gambar 4.10	Interaksi 3D antara ligan 2a dan HDAC 5 <i>Homo sapiens</i> hasil simulasi docking	38
Gambar 4.11	Interaksi 3D antara ligan 2c dan HDAC 6 <i>Homo sapiens</i> hasil simulasi docking	39
Gambar 4.12	Interaksi 3D antara ligan 2c dan HDAC 7 <i>Homo sapiens</i> hasil simulasi docking	39
Gambar 4.13	Interaksi 3D antara ligan 1c dan HDAC 9 <i>Homo sapiens</i> hasil simulasi docking	40
Gambar 4.14	Interaksi 3D antara ligan 1c dan HDAC 10 <i>Homo sapiens</i> hasil simulasi docking	40

DAFTAR TABEL

Tabel 3	Lokasi koordinat <i>grid box</i> pada HDAC.....	26
Tabel 4.1	Hasil pengambilan sekuen HDAC kelas II <i>Homo sapiens</i>	29
Tabel 4.2	Letak sisi katalitik HDAC kelas II <i>Homo sapiens</i>	31
Tabel 4.3	Pasangan HDAC kelas II <i>Homo sapiens</i> dengan ligan	32
Tabel 4.4	Pasangan interaksi hasil <i>docking</i> HDAC dengan ligan.....	35
Tabel 4.5	Energi bebas ikatan hasil simulasi <i>docking</i> ligan standar SAHA dan modifikasi terhadap HDAC kelas II <i>Homo sapiens</i>	37
Tabel 4.6	Konstanta inhibisi hasil simulasi <i>docking</i> ligan standar dan modifikasi terhadap HDAC kelas II <i>Homo sapiens</i>	37
Tabel 4.7	Kontak residu ligan-HDAC 4 selama simulasi dinamika molekul	44
Tabel 4.8	Kontak residu ligan-HDAC 5 selama simulasi dinamika molekul	45
Tabel 4.9	Kontak residu ligan-HDAC 6 selama simulasi dinamika molekul	46
Tabel 4.10	Kontak residu ligan-HDAC 7 selama simulasi dinamika molekul	47
Tabel 4.11	Kontak residu ligan-HDAC 9 selama simulasi dinamika molekul	48
Tabel 4.12	Kontak residu ligan-HDAC 10 selama simulasi dinamika molekul ..	49
Tabel 4.13	Perbandingan hasil interaksi <i>docking</i> dengan simulasi dinamika molekul.....	51

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Bagan kerja penelitian	63
Lampiran 2.	Urutan Sekuen HDAC 4	64
Lampiran 3.	Urutan Sekuen HDAC 5	65
Lampiran 4.	Urutan Sekuen HDAC 6	66
Lampiran 5.	Urutan Sekuen HDAC 7	67
Lampiran 6.	Urutan Sekuen HDAC 9	68
Lampiran 7.	Urutan Sekuen HDAC 10	69
Lampiran 8.	Model terbaik hasil <i>docking</i> HDAC 4 - 2c	70
Lampiran 9.	Model terbaik hasil <i>docking</i> HDAC 4 - SAHA	71
Lampiran 10.	Model terbaik hasil <i>docking</i> HDAC 5 -2a	72
Lampiran 11.	Model terbaik hasil <i>docking</i> HDAC 5 - SAHA	73
Lampiran 12.	Model terbaik hasil <i>docking</i> HDAC 6 - 2c	74
Lampiran 13.	Model terbaik hasil <i>docking</i> HDAC 6 - SAHA	75
Lampiran 14.	Model terbaik hasil <i>docking</i> HDAC 7 - 2c	76
Lampiran 15.	Model terbaik hasil <i>docking</i> HDAC 7 - SAHA	77
Lampiran 16.	Model terbaik hasil <i>docking</i> HDAC 9 - 1c	78
Lampiran 17.	Model terbaik hasil <i>docking</i> HDAC 9 - SAHA	79
Lampiran 18.	Model terbaik hasil <i>docking</i> HDAC 10 - 1c	80
Lampiran 19.	Model terbaik hasil <i>docking</i> HDAC 10 - SAHA	81
Lampiran 20.	Visualisasi hasil <i>docking</i> HDAC 4 - 2c	82
Lampiran 21.	Visualisasi hasil <i>docking</i> HDAC 4 - SAHA	83
Lampiran 22.	Visualisasi hasil <i>docking</i> HDAC 5 -2a	84
Lampiran 23.	Visualisasi hasil <i>docking</i> HDAC 5 - SAHA	85
Lampiran 24.	Visualisasi hasil <i>docking</i> HDAC 6 - 2c	86
Lampiran 25.	Visualisasi hasil <i>docking</i> HDAC 6 - SAHA	87
Lampiran 26.	Visualisasi hasil <i>docking</i> HDAC 7 - 2c	88
Lampiran 27.	Visualisasi hasil <i>docking</i> HDAC 7 - SAHA	89
Lampiran 28.	Visualisasi hasil <i>docking</i> HDAC 9 - 1c	90
Lampiran 29.	Visualisasi hasil <i>docking</i> HDAC 9 - SAHA	91
Lampiran 30.	Visualisasi hasil <i>docking</i> HDAC 10 - 1c	92
Lampiran 31.	Visualisasi hasil <i>docking</i> HDAC 10 - SAHA	93
Lampiran 32.	Visualisasi 2D Kontak Residu Hasil Simulasi Dinamika Molekul Terhadap HDAC 4	94
Lampiran 33.	Visualisasi 2D Kontak Residu Hasil Simulasi Dinamika Molekul Terhadap HDAC 5	104
Lampiran 34.	Visualisasi 2D Kontak Residu Hasil Simulasi Dinamika Molekul Terhadap HDAC 6	114
Lampiran 35.	Visualisasi 2D Kontak Residu Hasil Simulasi Dinamika Molekul Terhadap HDAC 7	124
Lampiran 36.	Visualisasi 2D Kontak Residu Hasil Simulasi Dinamika Molekul Terhadap HDAC 9	134
Lampiran 37.	Visualisasi 2D Kontak Residu Hasil Simulasi Dinamika Molekul Terhadap HDAC 10	144

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker serviks atau kanker mulut rahim merupakan penyakit kanker yang disebabkan terinfeksi sel-sel bagian serviks oleh *Human Papilloma Virus* (HPV). Kanker serviks merupakan kanker yang paling sering menyerang kaum wanita di seluruh dunia setelah kanker payudara. Pada tahun 2010, dilaporkan terjadi 529.000 kasus baru dengan lebih dari 80% terjadi di negara-negara berkembang dengan tingkat mortalitas global lebih dari 50%. Di Indonesia, kasus kanker serviks dilaporkan terdapat 13 kasus baru per 100.000 jumlah populasi wanita berusia 14-44 tahun dengan tingkat mortalitas 77% (WHO, 2010).

Kanker serviks yang disebabkan oleh HPV akan menyebabkan pertumbuhan sel-sel di area serviks menjadi tidak normal dan bahkan dapat menyebar ke bagian tubuh lain di luar serviks. HPV merupakan virus yang termasuk golongan *Papillomaviridae*. Terdapat lebih dari 120 jenis HPV berhasil diidentifikasi yang terdiri dari 15 jenis diklasifikasikan *high-risk* HPV (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, dan 82) dan 12 jenis diklasifikasikan *low-risk* HPV (6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81, dan CP6108) (Chaturvedi dan Gillison, 2010). Tipe 16 dan 18 menyebabkan lebih dari 70% kasus kanker serviks dan 20% kasus disebabkan oleh tipe 31, 33, 35, 45, 52 and 58 (WHO, 2010).

Metode pengobatan kanker serviks yang dilakukan pada saat ini adalah radioterapi dan kemoterapi. Radioterapi merupakan suatu metode pengobatan kanker serviks yang dilakukan dengan menyinari bagian serviks menggunakan radiasi sinar X. Namun di dalam perkembangannya, metode tersebut memberikan efek klinis yang buruk (Nakano *et al.*, 2010). Sedangkan kemoterapi merupakan suatu metode pengobatan kanker serviks yang dilakukan dengan menggunakan obat tertentu untuk menghambat aktivitas virus di dalam sel. Vorinostat atau SAHA (*suberoylanilide hydroxamic acid*) sebagai salah satu obat yang beredar ternyata masih memiliki beberapa efek samping yang tidak baik (Duvic *et al.*,

2007). Oleh karena itu, diperlukan suatu terobosan baru untuk memperoleh metode pengobatan kanker serviks dengan efek samping yang minimal.

Salah satu tujuan pengobatan kanker serviks ialah menghambat virus dalam melakukan proses replikasi di dalam sel. Pada HPV terdapat suatu enzim yaitu *Histone Deacetylase* atau HDAC (EC 3.5.1) yang berperan mengkatalisis proses deasetilasi histon pada eukariot. Deasetilasi merupakan proses pelepasan gugus asetil dari ekor histon, sehingga histon akan terlilit sangat rapat di sekitar DNA dan mempengaruhi transkripsi gen eukariot, yaitu menghambat jalan masuk faktor transkripsi dan berakibat gen penahan tumor menjadi inaktif (Subha *et.al.*, 2008). Inhibisi aktivitas HDAC tersebut merupakan strategi yang potensial untuk terapi kanker (Pan *et al.*, 2007) dan inhibisi HDAC oleh inhibitor yang spesifik akan menginduksi penahanan pertumbuhan, diferensiasi, dan apoptosis (kematian) sel kanker (Subha dan Kumar, 2008).

Pada saat ini sudah terdapat beberapa senyawa yang dapat digunakan sebagai inhibitor HDAC. Salah satu di antaranya merupakan Vorinostat atau SAHA yang telah lulus uji FDA sejak tahun 2006. Inhibitor tersebut memiliki gugus karbonil dan hidrosilamin yang akan berikatan dengan Zn^{2+} sebagai kofaktor HDAC, rantai alifatik sebagai penghubung, dan gugus hidrofobik pada ujung yang lain.

Kelemahan inhibitor HDAC kelompok asam hidroksamat seperti SAHA adalah memiliki sifat toksik yang cukup tinggi. Oleh karena itu, modifikasi dari gugus SAHA diperlukan untuk menghilangkan sifat toksik dan meminimalisir efek samping (Tambunan dan Wulandari, 2010). Salah satu caranya adalah menggantikan ataupun menambahkan gugus triazol ke dalam rantai SAHA. Triazol merupakan kelompok senyawa yang bisa bersifat sebagai *non classical bioisostere* pada gugus amida (Roffey, 1997) dan dapat menggantikan gugus amida pada rantai samping SAHA tanpa kehilangan aktivitasnya secara signifikan (Pirali *et al.*, 2008). Beberapa senyawa hasil modifikasi triazol pada rantai SAHA ternyata memiliki kemampuan inhibisi yang lebih baik dibandingkan SAHA dan telah melewati parameter farmakologi menurut *Lipinski's Rule of Five* (Nindyapati, 2010).

Pada penelitian ini telah dilakukan suatu simulasi dinamika molekul terhadap senyawa hasil modifikasi SAHA untuk mengetahui interaksi senyawa-senyawa tersebut dengan HDAC pada kondisi terhidrasi yang menggambarkan kondisi dinamis dalam keadaan sebenarnya. Hasil simulasi senyawa-senyawa tersebut akan dibandingkan dengan interaksi SAHA sebagai standar dengan HDAC. Terakhir, hasil interaksi tersebut dievaluasi agar diperoleh ligan atau senyawa hasil modifikasi tersebut yang potensial dikembangkan sebagai obat.

1.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan sebagai berikut:

- Mempelajari interaksi dari inhibitor SAHA dan SAHA termodifikasi dengan kompleks enzim HDAC kelas II *Homo sapiens* kanker serviks dalam kondisi terhidrasi menggunakan metode simulasi dinamika molekul.
- Mengevaluasi hasil simulasi dinamika molekul dan menentukan ligan yang potensial untuk dikembangkan sebagai obat.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kanker

Kanker merupakan segolongan penyakit yang disebabkan oleh pertumbuhan secara tidak terkendali dari sel-sel yang tidak normal dan bersifat *malignant*. Sel-sel kanker yang bersifat *malignant* tersebut mengalami proliferasi atau perbanyakan menghasilkan *progeny* yang juga *malignant*. Sel kanker tersebut memiliki kemampuan untuk terus tumbuh dan dapat menyebar ke dalam jaringan lain di dalam tubuh, baik dengan menyebar ke jaringan yang bersebelahan (invasi) atau dengan migrasi sel ke tempat yang jauh (metastasis) (Tannock dan Hill, 1998). Pertumbuhan sel-sel yang tidak normal tersebut diakibatkan oleh kerusakan material genetik akibat terpaparnya sel oleh zat-zat karsinogenik, radiasi, polutan, dan virus yang melalui berbagai jalur etiologis (Garea *et al.*, 2004).

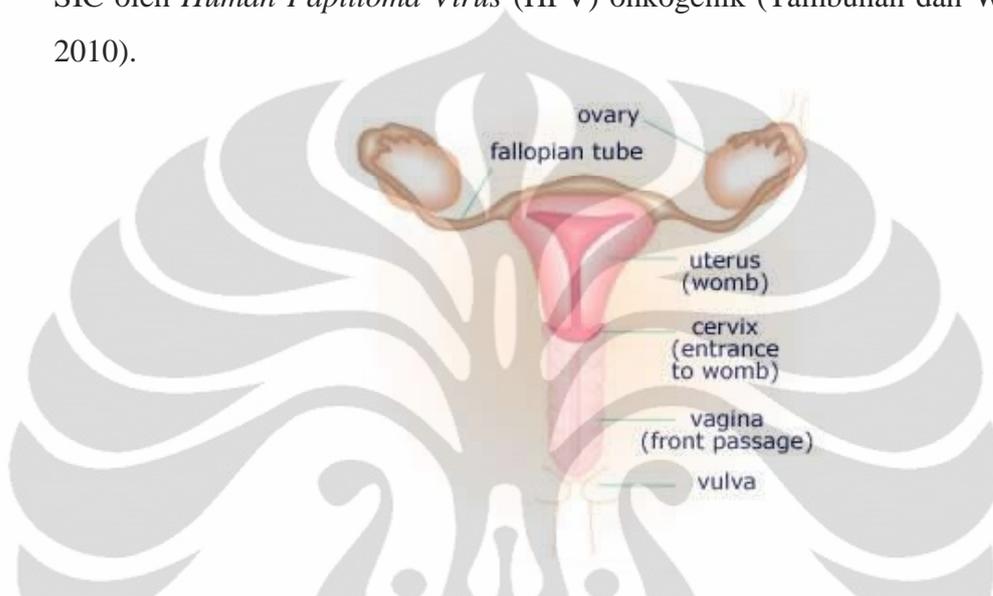
Sel kanker memiliki bentuk yang berbeda dengan sel normal yang sehat. Sel ini tidak berfungsi sebagaimana mestinya dan dapat menyebar ke seluruh bagian tubuh. Sel kanker dapat tumbuh secara cepat, menyerang dan menghancurkan jaringan normal di sekitarnya, dan dapat menyebar ke seluruh tubuh (Alberts *et al.*, 2002).

Gejala-gejala yang dihasilkan kanker dapat berbeda-beda, tergantung pada lokasi, keganasan, dan metastasis. Seseorang yang diduga mengidap kanker akan dilakukan serangkaian tes medis berupa cek darah, X-ray, CT *scan*, dan endoskopi. Apabila diketahui positif terkena kanker, maka upaya pengobatan yang dilakukan adalah dengan operasi, kemoterapi, dan radiasi. Pengobatan kanker akan memiliki peluang keberhasilan yang tinggi bila dilakukan pada pemeriksaan dini untuk mengetahui ada atau tidaknya peluang sel tersebut berubah menjadi ganas.

2.2 Kanker Mulut Rahim

Kanker serviks atau kanker mulut rahim merupakan pertumbuhan yang abnormal dari *Squamous Intraepithelial Cell* (SIC) di daerah sekitar mulut rahim,

bagian terbawah uterus (rahim), yang merupakan daerah berbentuk rongga antara vagina dan rahim. Sel-sel tersebut akan berubah menjadi *pre-cancer cells*, kemudian akan berubah sepenuhnya menjadi sel kanker. Proses perubahan tersebut dinamakan displasia dan dapat berlangsung dalam hitungan tahun maupun dalam hitungan hari. Penyebab utama dari kanker serviks adalah infeksi SIC oleh *Human Papilloma Virus* (HPV) onkogenik (Tambunan dan Wulandari, 2010).



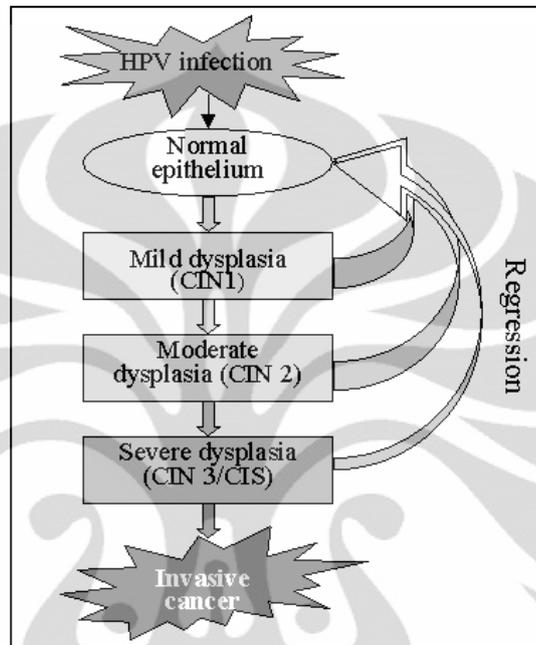
Gambar 2.1 Organ reproduksi wanita

Sumber: [<http://www.mccn.nhs.uk/patients/cancer-types/cervix/what-is-the-cervix.php>]

Sebelum terbentuknya sel kanker yang invasif, sel normal yang telah terinfeksi HPV akan mengalami *pre-invasive cancer cells* dalam berbagai fase displasia atau *Cervical Intraepithelial Neoplasia* (CIN). CIN terdiri dari beberapa fase yaitu *mild dysplasia* (*low-grade CIN I*), *moderate dysplasia* (*high-grade CIN II*), *severe dysplasia* (CIN III), dan setelah CIN III sel kanker akan bersifat invasif (Sellors *et al.*, 2003).

Pada fase CIN I, sel-sel yang telah terinfeksi akan mengalami kerusakan yang dapat dibedakan dengan baik (*well-differentiated lesion*). Kerusakan pada *Squamous Intraepithelial Cell* (SIC) tersebut diakibatkan adanya perubahan karakterisasi oleh pengaruh *cytopathogenic* suatu virus penginfeksi, seperti adanya bentuk abnormal pada dua inti sel atau inti sel lainnya dan *koilocytosis* (terdapatnya sel dengan inti selnya tidak normal dan munculnya suatu lubang yang bisa disebabkan oleh kerusakan pada struktur internal sel). Perubahan yang

terjadi pada fase CIN I masih bersifat *transient* (sementara) dan dapat hilang dengan dengan sendirinya. Namun demikian, 10% dari *grade* CIN I dan 20% *grade* CIN II akan bertransformasi menjadi CIN III. Sedangkan 12% dari CIN III akan menjadi sel kanker yang invasif (Beskow, 2003).



Gambar 2.2. Tahapan infeksi HPV menjadi kanker

Sumber: [Beskow, 2003]

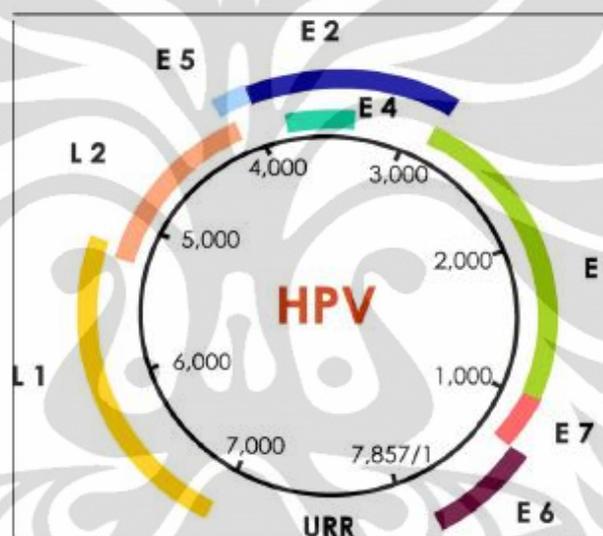
2.3 *Human Papillomavirus (HPV)*

Human Papilloma Virus (HPV) pertama kali ditemukan oleh Harald zur Hausen pada tahun 1976 dan digolongkan ke dalam famili *Papillomaviridae*. HPV memasuki tubuh melalui membran mukosa dan tidak menyebar secara sistematis. HPV tidak beredar dalam darah, tetapi terlokalisasi di tempat yang terinfeksi, dan tidak dapat ditumbuhkan di dalam kultur secara *in vitro*. HPV memiliki struktur icosahedral, *nonenveloped*, dan merupakan DNA untai ganda dengan diameter mencapai 55 nm. Semua informasi genetiknya dapat diperoleh di salah satu untai DNA-nya (Beskow, 2003).

Terdapat lebih dari 120 jenis HPV berhasil diidentifikasi yang terdiri dari 15 jenis diklasifikasikan *high-risk* HPV (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, dan 82) dan 12 jenis diklasifikasikan *low-risk* HPV (6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81, dan CP6108) (Chaturvedi dan Gillison, 2010). Tipe

low-risk HPV terkait dengan *cervical condylomas* dan CIN 1, sedangkan tipe *high risk* HPV yang terkait dengan kanker (Beskow, 2003). Kecenderungan untuk menjadi kanker pada tipe *low-risk* HPV dapat diabaikan, sedangkan tipe HPV *high risk* dapat menyebabkan *low grade* CIN, *high grade* CIN, dan *invasive cancer*, sehingga berpotensi untuk menimbulkan kanker (Singh, 2008).

HPV tersusun dari 7900 bp dan terbagi ke dalam tiga region fungsional yaitu *non coding upstream regulatory region – late control region* (LCR), *early region* yang mengandung *open reading frames* (ORFs) E1, E2, E4, E5, E6, E7, dan *late region* yang terdiri dari protein kapsid L1 dan L2 (Dillner *et al.*, 2004).



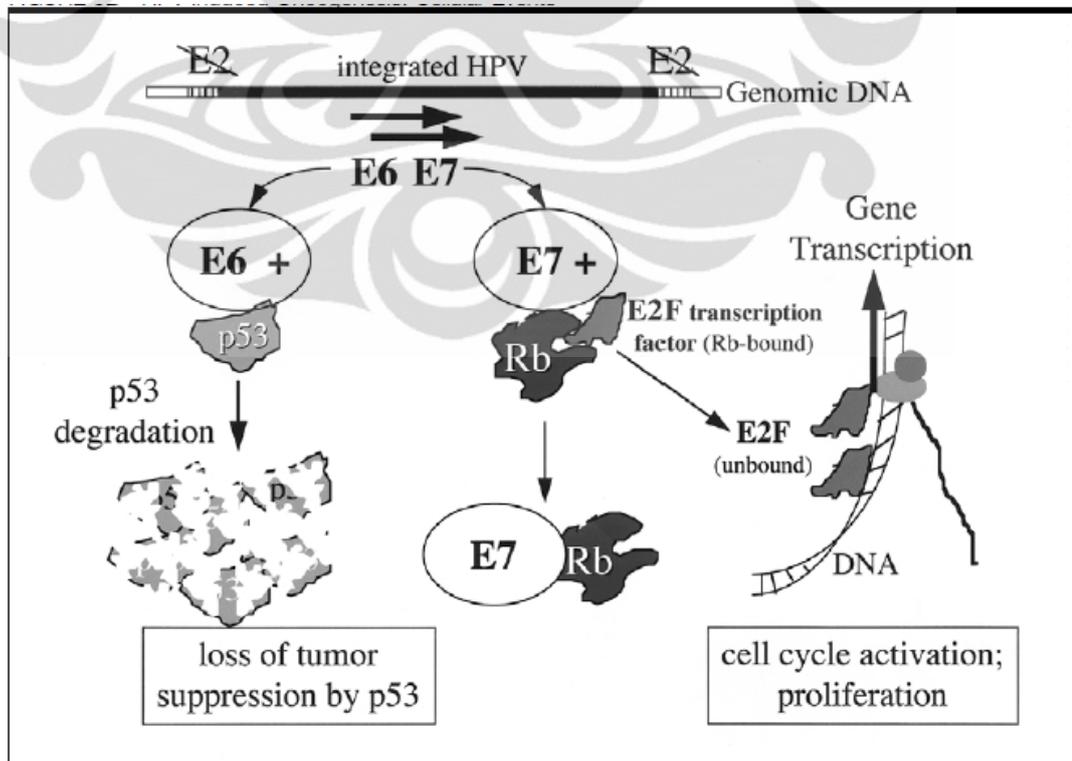
Gambar 2.3 Representasi struktur genom HPV

Sumber: [Munoz *et al.*, 2007]

The early open reading frames (ORFs) menyandikan protein regulator non-struktural. E1 dan E2 berperan dalam proses replikasi DNA. E1 bertanggung jawab terhadap pemeliharaan dan replikasi gen sedangkan E2 terlibat dalam transkripsi dan replikasi DNA virus. Genom virus direplikasi hingga mencapai 100 eksemplar dan dipertahankan untuk periode yang bervariasi dalam infeksi awal tetapi bereplikasi dan berkompetensi di dalam sel inang (Doorbar, 2005). Gen E4 berperan dalam proses pematangan dan pembentukan partikel HPV baru. Ketika E4 menginterupsi pembentukan sitokeratin, koilocytes muncul memfasilitasi pembentukan partikel virus baru (Wang *et al.*, 2009). E5 merupakan protein hidrofobik pada membran selular dan berperan dalam menstimulasi

pertumbuhan HPV, transformasi sel (Stoler, 2000), dan replikasi DNA virus (Fehrmann *et al.*, 2003).

Di dalam kaitannya terhadap sifat onkogenik dari kanker serviks, maka hal tersebut dapat dijelaskan melalui regulasi dan fungsi dari gen E6 dan E7. Gen E6 dan E7 berperan penting di dalam proses replikasi DNA dan termasuk di dalam regulasi E2 (Janicek dan Averette, 2001). Gen-gen tersebut memiliki kemampuan dalam hal menginduksi proliferasi sel, imortalisasi, dan akhirnya mengubah sel-sel inang menjadi sel-sel ganas (Munger *et al.*, 2004). E6 dan E7 dapat bereaksi dengan protein selular melalui pengikatan gen supresor tumor p53 dan pRb. Hasil interaksi E6 dan E7 pada kedua gen supresor tumor tersebut dapat dibuktikan melalui mutasi dari kedua gen supresor dan hasil mutasi tersebut sering ditemukan pada penderita kanker (Munoz *et al.*, 2007). E6 berikatan dengan p53 menyebabkan degradasi p53, sedangkan E7 berikatan dengan pRb yang akan mengaktifkan faktor transkripsi E2F. E2F berperan untuk mendorong terjadinya replikasi DNA. Aktivitas E6 dan E7 memberikan hasil pada ketidakstabilan genom, peningkatan mutasi onkogen, keterbelakangan pertumbuhan sel, dan berakibat sel menjadi kanker (Yue *et al.*, 2008).



E6 binds to p53 and induces its degradation. E7 binds the Rb gene product, causing the transcription factor E2F-1 to become unbound and free to induce cell cycle activation/growth.

Gambar 2.4 Penyerangan oncogen E6 dan E7 terhadap gen supresor tumor

Sumber: [Janicek dan Averette, 2001]

Sedangkan *the late* ORFs berperan dalam penyediaan protein struktural yang dibutuhkan untuk pembentukan virus dan pematangan partikel *progeny* menular (*major capsid protein* L1 dan *minor capsid protein* L2).

2.4 *Histone Deacetylase* (HDAC)

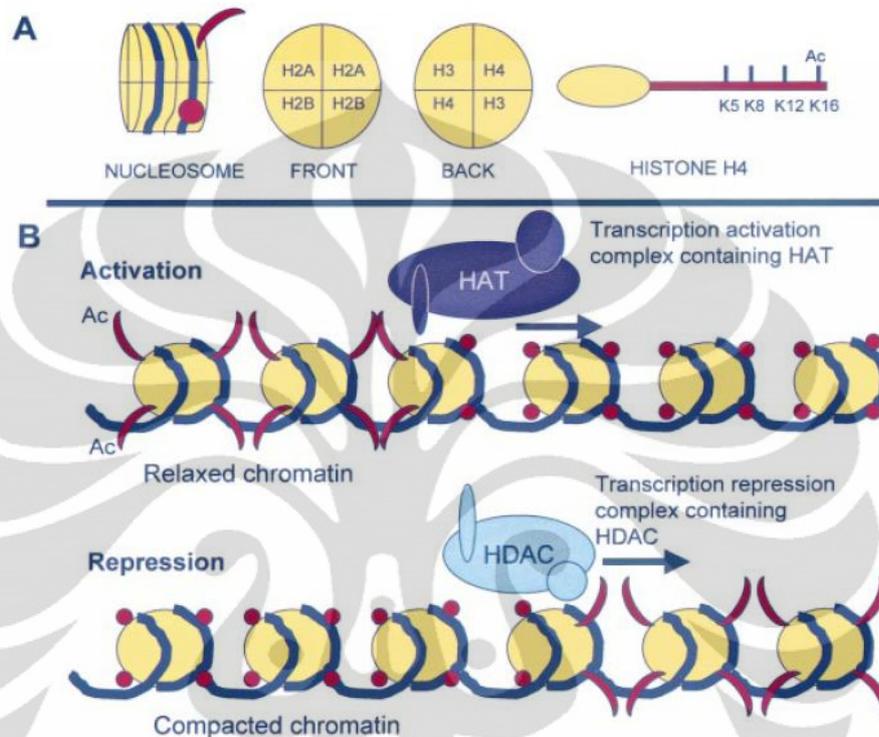
2.4.1 Histon dan Material Genetik

Histon merupakan protein fungsional yang berperan dalam berinteraksi dengan DNA agar menjadi unit-unit nukleosom yang memiliki ukuran lebih kecil. Histone memiliki berat molekul antara 11.000 – 21.000 dan kaya akan asam amino arginin dan lisin yang bersifat basa. Pada pH 7, residu arginin dan lisin pada histon akan mengikat proton dan menjadi bermuatan positif, sedangkan DNA pada pH 7 tersebut bermuatan negatif. Oleh karena itu, histon dapat berinteraksi dengan DNA melalui gaya elektrostatis untuk membentuk nukleosom (Lehninger, 1982).

Nukleosom merupakan subunit dasar kromatin yang tersusun oleh 146 basa DNA yang membungkus oktamer dari histon. Oktamer histone tersebut terdiri atas sebuah tetramer H3-H4 dan dua dimer H2A-H2B. Setiap nukleosom dipisahkan oleh *spacer* atau *linker* DNA yang mengandung H1 (Lindemann *et al.*, 2004).

Kromatin adalah struktur kompleks yang bertanggung jawab pada organisasi *spatiotemporal* dan fungsional pada genom yang terdiri atas DNA, histon, dan protein non-histon. Susunan struktur dari kromatin merupakan faktor penting dalam regulasi ekspresi gen. Selama aktivasi transkripsi gen, DNA yang tersusun sangat rapi dan rapat akan sukar untuk dimasuki. Pengikatan pada protein dapat dibuat melalui modifikasi nukleosom. Modifikasi struktural histon dapat dilakukan melalui proses asetilasi atau deasetilasi ekor N-terminal yang sangat penting dalam memodulasi ekspresi gen. Proses deasetilasi atau asetilasi ekor N-terminal tersebut dapat mempengaruhi interaksi DNA dengan kompleks protein non-nukleosomal yang meregulasi transkripsi. Asetilasi mengendurkan

konformasi DNA, menyebabkan transkripsi berjalan (aktivasi). Sedangkan deasetilasi merapatkan konformasi DNA, menyebabkan transkripsi tidak aktif (represi). Posisi penting untuk asetilasi adalah Lys9 dan Lys14 pada histon H3 dan Lys5, Lys8, Lys12, dan Lys16 pada histon H4 (De Ruijter *et al.*, 2003).



Gambar 2.5 Modifikasi histon dan pengaruhnya pada proses transkripsi

Sumber: [De Ruijter *et al.*, 2003]

Proses asetilasi dan deasetilasi residu lisin pada ekor N terminal dalam inti histon diregulasi oleh *histon acetyl transferase* (HAT) dan *histone deacetylase* (HDAC). HAT berperan dalam proses *transfer* gugus asetil pada protein histon yang menyebabkan netralisasi muatan positif pada histon sehingga melemahkan interaksi elektrostatis antara histon dengan DNA dan berakibat pada konformasi DNA yang mengendur. Konformasi tersebut lebih disukai untuk proses transkripsi (aktivasi). Sebaliknya, HDAC berperan dalam proses pelepasan gugus asetil dari ekor histon, menyebabkan histon terbelit sangat rapat di sekitar DNA sehingga menghalangi jalan masuk faktor transkripsi dan berakibat proses transkripsi menjadi terhambat (represi) (Pan *et al.*, 2007).

Peningkatan HAT berbanding lurus dengan peningkatan proses transkripsi akibat membukanya kromatin, sedangkan peningkatan HDAC berbanding lurus dengan menutupnya kromatin yang mengakibatkan represi transkripsi (Bhalla, 2005). Tidak seimbangnyanya kerja kedua enzim tersebut dapat menyebabkan penurunan regulasi transkripsi gen yang melibatkan kontrol progresi siklus sel, diferensiasi, dan/atau apoptosis (kematian sel). Penyimpangan pada HDAC yang disebabkan oleh gangguan pada aktivitas HAT atau ketidaknormalan HDAC berhubungan langsung dengan penyakit kanker (Islam *et al.*, 2009).

2.4.2 Klasifikasi *Histone Deacetylase* (HDAC)

HDAC merupakan enzim yang berperan dalam pelepasan gugus asetil pada histon sehingga menghalangi proses transkripsi DNA. HDAC dapat diklasifikasikan ke dalam tiga kelas berdasarkan persamaan struktur HDAC dengan protein pada *yeast*. HDAC kelas I (1, 2, 3 dan 8) memiliki struktur yang hampir sama dengan RPD3 pada *yeast* (*Saccharomyces cerevisiae*) dan dapat ditemukan dalam nukleus. HDAC kelas II (4, 5, 6, 7, 9 dan 10) memiliki kemiripan dengan *yeast* HDA1 dan dapat berpindah tempat di antara nukleus dengan sitoplasma. HDAC kelas III (Sir 1, 2, 3, 4, 5, 6, dan 7) merupakan kelas sirtuin yang memiliki kemiripan dengan *yeast* Sir2 (Dokmanovic *et al.*, 2007).

Class	HDAC	Subcellular localisation
Class I		
	HDAC1	nuclear
	HDAC2	nuclear
	HDAC3	nuclear/cytoplasmic
	HDAC8	nuclear
Class II		
	HDAC4	nuclear/cytoplasmic
	HDAC5	nuclear/cytoplasmic
	HDAC6	nuclear/cytoplasmic
	HDAC7	nuclear/cytoplasmic
	HDAC9	nuclear/cytoplasmic
	HDAC10	nuclear/cytoplasmic
	HDAC11*	nuclear/cytoplasmic
Class III (sirtuins)		
	SIRT1	nuclear
	SIRT2	
	SIRT3	
	SIRT4	
	SIRT5	
	SIRT6	
	SIRT7	

*HDAC11 shares features of class I and II HDACs.

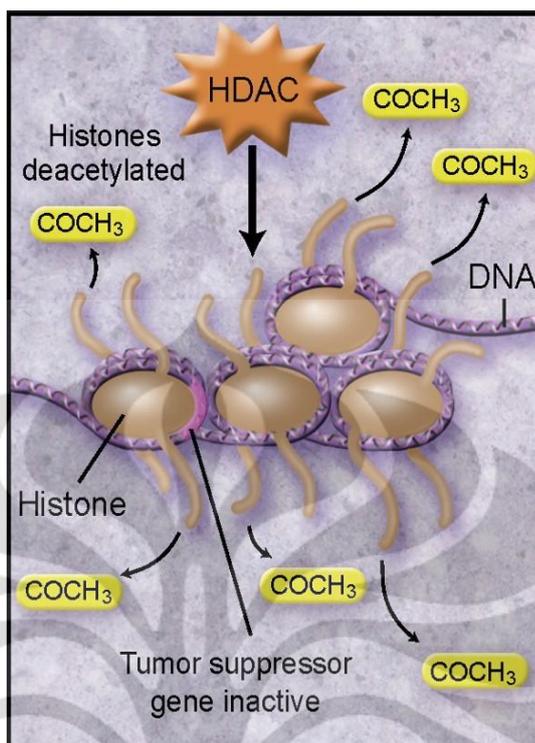
Gambar 2.6 Klasifikasi HDAC

Sumber: [Dokmanovic *et al.*, 2007]

HDAC kelas I dan II dipengaruhi oleh keberadaan kofaktor Zn^{2+} , mempunyai inti katalitik yang sama, tetapi berbeda dalam ukuran dan struktur domainnya. Sedangkan HDAC kelas III dipengaruhi oleh kofaktor NAD^+ dan berbeda dalam urutan serta mekanismenya dengan kelas I dan II (Ortore *et al.*, 2009).

2.4.3 Mekanisme Aksi *Histone Deacetylase*

HDAC berperan penting dalam mekanisme pelepasan gugus asetil pada histon. Proses tersebut diawali dengan mengembalikan muatan positif pada residu lisin sehingga menyebabkan residu lisin akan berada dalam posisi terbuka dan menempel dengan sangat erat pada gugus fosfat pada DNA. Hal tersebut akan mengakibatkan ruang antara nukleosom dan DNA menjadi lebih rapat, sehingga mengurangi jalan masuk faktor transkripsi dan berakibat pada represi transkripsional (De Ruijter *et al.*, 2003). Pada akhirnya, proses represi pada transkripsi gen tersebut akan mendeaktivasi gen supressor pada tumor (Tambunan dan Wulandari, 2010).



Gambar 2.7 Mekanisme HDAC

Sumber: [<http://mulicia.pixnet.net/blog/post/25199878>]

Secara umum HDAC kelas II tersusun dari ~ 390 residu asam amino yang terdiri dari residu yang menjadi *backbone*, residu yang berperan sebagai sisi katalitik, dan residu yang dapat mengikat kofaktor Zn^{2+} . Sisi aktif HDAC terdiri dari kantung (*pocket*) berbentuk pipa lengkung halus dengan bagian dasar yang lebih luas. Mekanisme deasetilasi diawali dengan mengaktivasi molekul air terhadap ion Zn^{2+} yang berikatan dengan residu histidin-aspartat melalui sistem relay muatan. Oleh karena itu, ion Zn^{2+} pada HDAC memiliki peranan penting dalam proses deasetilasi tersebut (Grozinger *et al.*, 2002).

2.4.4 Inhibitor Histone Deacetylase (HDAC)

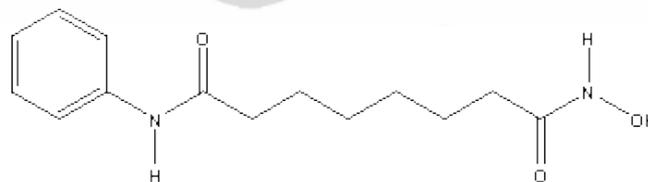
Inhibitor *histone deacetylase* (HDAC) merupakan kelompok senyawa yang ditargetkan sebagai zat antikanker. Hasil dari inhibisi aktivitas HDAC berpotensi untuk menahan pertumbuhan, diferensiasi, dan/atau apoptosis sel-sel yang bertransformasi secara *in vitro* dan *in vivo*. Inhibitor HDAC merupakan kelompok molekul-molekul yang secara struktur beragam, yang secara selektif mampu berinteraksi dengan sisi katalitik dari HDAC untuk mencegah HDAC

berinteraksi dengan substrat dan mengaktifkan kembali proses transkripsi gen (Pan *et al.*, 2007). Inhibitor HDAC dapat menyebabkan kematian sel kanker, sedangkan sel-sel normal relatif resisten atau tahan terhadap inhibitor HDAC (Dokmanovic, 2007).

Sejauh ini, inhibitor HDAC memiliki sifat-sifat dan struktur yang sangat beragam. Namun, terdapat tiga syarat utama bagi suatu molekul untuk dapat menjadi inhibitor HDAC, yaitu ujung polar yang akan berikatan dengan ion Zn^{2+} pada sisi katalitik HDAC, rantai penghubung (*linker*), dan gugus hidrofobik (*hydrofobic cap*) yang memberikan efek melalui memblok sisi aktif (Finnin *et al.*, 1999).

2.4.5 *Suberoylanilide Hydroxamic Acid (SAHA)*

Asam hidroksamat adalah senyawa kimia yang mempunyai gugus hidroksilamin yang terikat pada asam karboksilat. Senyawa ini memiliki struktur umum R-CO-NH-OH, dengan R sebagai residu organik, CO sebagai gugus karbonil, dan NH-OH sebagai hidroksilamin. Senyawa dapat disintesis dari aldehid melalui reaksi Angeli-Rimini dan biasa digunakan sebagai agen pengkelat logam. Salah satu turunan asam hidroksamat adalah Vorinostat atau *suberoylanilid hydroxamic acid* (SAHA) yang dapat berfungsi sebagai inhibitor HDAC. Gugus karbonil dan gugus hidroksilamin pada SAHA merupakan ujung polar yang akan berikatan dengan kofaktor Zn^{2+} . Sedangkan rantai samping SAHA yang panjang bersifat sebagai *hydrophobic cap* akan berfungsi sebagai pemblok sisi aktif (Drummond *et al.*, 2004).

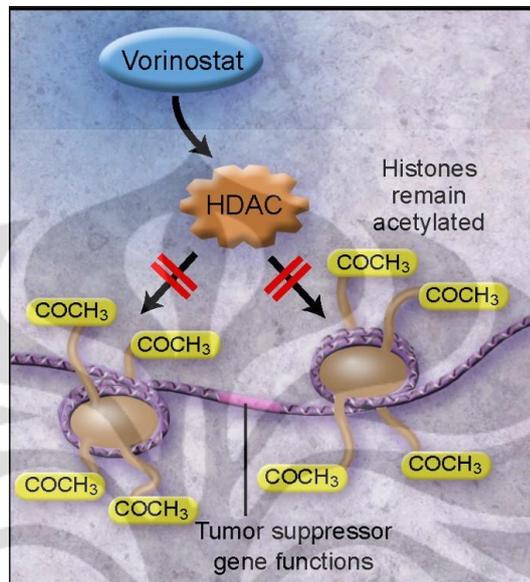


Gambar 2.8 Struktur SAHA

Sumber: [Pirali *et al.*, 2008]

Hasil inhibisi SAHA terhadap HDAC memberikan pengaruh terhadap proses transkripsi gen. SAHA akan menghalangi HDAC berinteraksi dengan gugus asetil pada histon. Akibatnya, muatan positif pada histon dinetralkan oleh

gugus asetil sehingga dapat mengendurkan kembali interaksi histon dengan DNA. Oleh karena itu, proses transkripsi gen mulai berlangsung normal dan gen supresor tumor dapat diaktifkan kembali.

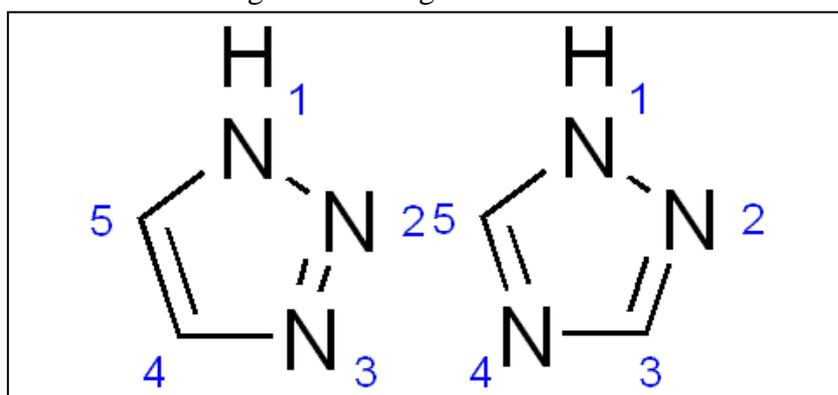


Gambar 2.9 Mekanisme inhibisi HDAC oleh SAHA

Sumber: [<http://mulicia.pixnet.net/blog/post/25199878>]

2.4.6 Triazol

Untuk meningkatkan kemampuan inhibisi terhadap HDAC, maka diperlukan suatu modifikasi terhadap inhibitor yang sudah ada. Salah satu cara modifikasi yang dilakukan terhadap SAHA ialah menambahkan maupun menggantikan rantai SAHA dengan gugus triazol. Triazol merupakan senyawa kimia yang memiliki dua buah isomer, yaitu 1,2,3-triazol dan 1,2,4-triazol dengan rumus molekul $C_2H_3N_3$ dan memiliki struktur cincin beranggota lima yang terdiri dari dua atom karbon dan tiga atom nitrogen.



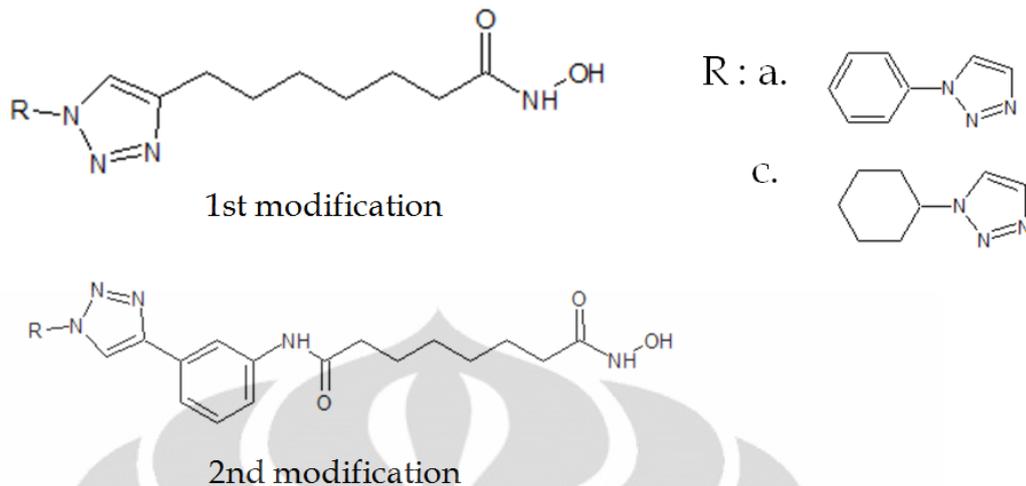
Gambar 2.10 Struktur 1,2,3-triazole (kiri) dan 1,2,4-triazole (kanan)

Sumber: [<http://en.wikipedia.org/wiki/Triazole>]

Triazol dapat berperan sebagai *non classical bioisostere* gugus amida. Triazol dapat menggantikan gugus amida pada SAHA tanpa kehilangan aktivitasnya secara signifikan. Triazol ini juga memiliki hidrofobisitas yang lebih baik dibandingkan gugus amida pada rantai SAHA (Pirali *et al.*, 2008). *Bioisosterism* pada triazol merupakan salah satu pendekatan yang digunakan dalam memodifikasi suatu senyawa calon obat (*lead compound*) menjadi lebih aman dan efektif secara klinis. *Bioisostere* dapat dianggap sebagai senyawa yang dihasilkan dari pertukaran sebuah atom atau kelompok atom dengan atom atau kelompok atom lainnya, yang secara umum sama. Tujuan dari penggantian *bioisostere* adalah untuk membuat senyawa baru dengan sifat biologis mirip dengan senyawa induknya (Roffey, 1997).

Senyawa *bioisostere* terbagi ke dalam dua jenis, yaitu *classical* dan *non classical bioisostere*. *Classical bioisostere* merupakan kelompok senyawa yang memiliki fitur sterik dan elektronik yang sama serta memiliki jumlah atom yang sama bila terikat dengan substituen yang akan digantikan. Sedangkan *non classical bioisostere* tidak mengikuti definisi sterik dan elektronik serta tidak memiliki jumlah atom yang sama bila terikat dengan substituen yang akan digantikan seperti *classical bioisostere*. Baik *classical* maupun *non classical bioisostere* ini mampu mempertahankan aktivitas biologis yang sama dengan senyawa induknya dengan cara meniru susunan ruang, sifat elektronik, atau beberapa sifat fisika-kimia dari molekul atau gugus fungsinya (Roffey, 1997).

Modifikasi triazol dapat pula dilakukan pada penggantian gugus anilida pada SAHA dan pemanjangan rantai SAHA dengan triazol. Senyawa hasil modifikasi tersebut juga telah melewati lima aturan Lipinski bila dilihat dari segi toksisitas. Modifikasi triazol ke dalam rantai SAHA ternyata memberikan hasil inhibisi yang lebih baik terhadap aktivitas HDAC (Nindyapati, 2010).



Gambar 2.11 Hasil modifikasi triazol pada rantai SAHA

Sumber: [Nindyapati, 2010]

2.5 Bioinformatika

2.5.1 Definisi

Bioinformatika merupakan suatu bidang keilmuan yang berdasarkan metode perhitungan matematis, statistik, dan komputasi untuk menyelesaikan masalah-masalah biologi molekuler dengan menggunakan sekuens DNA, asam amino, dan biomolekul lainnya dalam mempelajari interaksi pada tingkat molekuler (Fredj Tekaia, 2004). Data-data yang dihasilkan dari interaksi molekuler tersebut menjadi sumber utama dalam melakukan simulasi bioinformatika agar dapat diprediksikan interaksi-interaksi yang akan terjadi dalam kondisi yang berbeda (Elfaizi dan Aprijani, 2004). Penggunaan bioinformatika sangat luas dalam berbagai bidang, yaitu dalam bidang klinis (*clinical informatics*), bidang identifikasi agen penyakit baru, bidang diagnosa penyakit baru, dan bidang penemuan obat (*drug design*).

Salah satu tujuan penggunaan bioinformatika adalah untuk menemukan obat baru (*drug design*) yang memiliki aktivitas lebih baik dibandingkan obat yang telah beredar sebelumnya. *Drug design* merupakan suatu proses perancangan senyawa baru yang dapat bertindak sebagai obat berdasarkan pengetahuan mengenai target-target biologis dan kemampuan untuk mensintesis senyawa baru tersebut. Proses *drug design* melibatkan molekul kecil yang dirancang sangat aktif dalam menghambat atau menghentikan jalur metabolisme molekul-molekul

penyebab penyakit, karena dapat berinteraksi pada sasaran biomolekular dan membentuk suatu ikatan (Gunawan, 2009).

Bioinformatika merupakan suatu bidang interdisipliner, karena bioinformatika tidak bisa berdiri sendiri dan harus didukung oleh disiplin ilmu yang lain agar dapat saling menunjang sehingga dapat bermanfaat untuk kepentingan manusia. Disiplin ilmu yang terkait dengan Bioinformatika diantaranya adalah *Biophysics*, *Computational Biology*, *Medical Informatics*, *Cheminformatics*, *Genomic*, *Mathematical Biology*, *Proteomics*, dan *Pharmacogenomics* (Elfaizi dan Aprijani, 2004).

2.5.2 Protein Data Bank (PDB)

Protein Data Bank (PDB) merupakan kumpulan data yang berisi koleksi struktur 3 dimensi protein, DNA dan molekul kompleks lainnya yang telah dipublikasikan dan ditentukan secara eksperimen dengan menggunakan *X-Ray crystallography* atau *NMR spectroscopy*. Pada *X-Ray crystallography*, sinar X dipancarkan pada kristal yang mengandung jutaan salinan suatu molekul. Sinar X kemudian akan didifraksikan oleh kristal dan membentuk suatu pola yang bila dianalisis secara matematis akan menunjukkan posisi tiap atom di dalam molekul. *NMR spectroscopy* menggunakan molekul di dalam larutan dan akan memperlihatkan orientasi atom di dalam medan magnetik (Baxevanis *et al.*, 2001).

Sumber utama untuk data struktur protein adalah PDB yang tersedia pada situs <http://www.pdb.org/>. Situs ini adalah arsip data struktural tunggal tingkat dunia yang dibuat oleh *Research Collaboratory for Structural Bioinformatics* (RCSB).

2.5.3 Molecular Modeling

Molecular modeling merupakan suatu teknik untuk merancang dan menampilkan struktur dan sifat-sifat molekul tertentu dengan menggunakan teknik kimia komputasional dan visualisasi grafis. Teknik ini menggunakan visualisasi struktur secara otomatis, analisis tiga dimensi dari database, konstruksi struktur protein berdasarkan urutan-urutan yang homolog, dan *docking* terhadap

ligan (Sanchez, 2004). Salah satu hal yang berperan penting dalam *molecular modeling* adalah penghitungan energi konformasi dan interaksi molekular. Energi ini dapat dihitung dengan menggunakan metode mekanika kuantum hingga fungsi empiris energi (Teodoro *et al.*, 2001).

Terdapat tiga jenis aplikasi yang dapat digunakan dalam *molecular modeling*, yaitu: analisis struktur dan sifat, *homology modeling*, dan *molecular docking*. Tujuan dari penggunaan teknik ini adalah menyediakan struktur geometri tiga dimensi yang sesuai dengan parameter kondisi yang telah ditentukan (Bian, 2009).

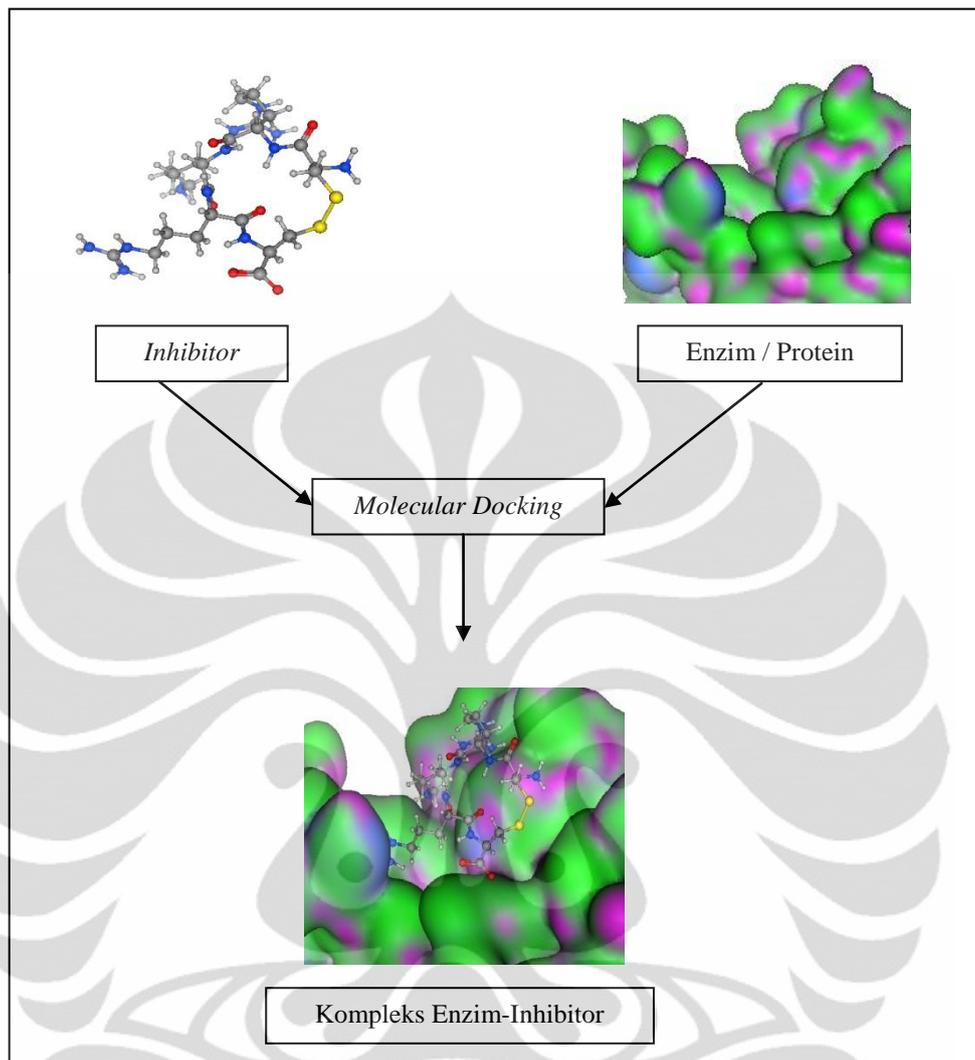
Dalam *molecular modeling* dikenal istilah *forcefields* yang merupakan fungsi empiris energi potensial dari protein. *Forcefield* ini diperoleh dengan mengembangkan model melalui kombinasi antara bentuk ikatan (jarak ikatan, sudut ikatan, sudut torsi, dan lain-lain) dan tanpa ikatan (van der Waals dan elektrostatik) (Teodoro, *et al.* 2001). Pada akhirnya, *forcefield* merupakan penjumlahan energi total menurut persamaan :

$$E_{\text{total}} = E_{\text{stretching}} + E_{\text{bending}} + E_{\text{torsi}} + E_{\text{vdw}} + E_{\text{elektrostatik}}$$

dari suatu protein yang meliputi energi *bonding-stretching*, *bending*, torsi, van der Waals, dan elektrostatik (Sanchez, 2004).

2.5.4 *Docking*

Molecular docking merupakan suatu teknik yang digunakan untuk mempelajari interaksi yang terjadi dari suatu kompleks molekul antara biomolekul dengan molekul kecil atau ligan. Interaksi kompleks molekul tersebut berorientasi untuk mencapai suatu kestabilan. Tujuan dari *molecular docking* ini adalah pemodelan struktur dan memprediksi aktivitasnya secara akurat (Kitchen, 2004). Proses pengikatan molekul kecil terhadap molekul target tidak sederhana, entropi dan enthalpi adalah faktor yang mempengaruhi interaksi antara molekul kecil dan molekul target tersebut (Alonso *et al.*, 2006). Terdapat dua aspek penting dalam *molecular docking*, yaitu fungsi *scoring* dan penggunaan algoritma.



Gambar 2.12 Proses *molecular docking*

Sumber: [Limans, 2010]

Algoritma *docking* berfungsi untuk mengidentifikasi energi yang dihasilkan dari konformasi molekular dan kemudian mencari konformasi yang memiliki energi bebas paling rendah dalam sistem. AutoDock merupakan salah satu *software* untuk *docking* ligan baik rigid ataupun fleksibel yang menggunakan *grid-based force field* untuk mengevaluasi interaksi suatu kompleks. Versi asli AutoDock menggunakan pendekatan Monte Carlo atau *stimulated annealing* agar diperoleh *docking* yang meminimalkan fungsi energi bebas. Algoritma Monte Carlo merupakan metode minimisasi energi yang umum digunakan, terutama membuat perubahan secara acak untuk posisi dan konformasi ligan dengan

menjaga hasilnya memiliki energi yang lebih rendah, sehingga mendapatkan konformasi yang lebih stabil (Krane dan Raymer, 2003).

2.5.5 Energi *Binding*

Energi *binding* adalah energi mekanik yang dibutuhkan untuk memisahkan suatu kesatuan menjadi beberapa bagian. Secara umum, energi *binding* mewakili kerja mekanik yang harus dilakukan untuk mengatasi gaya-gaya yang mempertahankan suatu objek bersama-sama. Kontribusi Coulombic turut diperhitungkan dalam penentuan energi *binding* menggunakan APBS (*Adaptive Poisson-Boltzmann Solver*), dengan rumus:

$$\Delta_{\text{coul}}G = -\Delta_1G = \Delta_{\text{coul}}G_{\text{complex}} - \Delta_{\text{coul}}G_{\text{mol1}} - \Delta_{\text{coul}}G_{\text{mol2}}$$

Pada proses *docking*, perangkat lunak AutoDock 4.2 juga mengkalkulasi energi bebas *binding* dan konstanta inhibisi (K_i). Dalam konteks AutoDock, K_i adalah konstanta disosiasi (K_d) (<http://mgldev.scripps.edu/pipermail/autodock/2007-june/002288.html>). K_d dalam konteks kimia, biokimia, dan farmakologi merupakan jenis konstanta keseimbangan spesifik yang mengukur kecenderungan suatu objek besar untuk terdisosiasi secara reversibel menjadi komponen-komponen yang lebih kecil. Pada umumnya, K_d digunakan untuk mendeskripsikan afinitas antara ligan (L) dan protein (P), yaitu seberapa kuat ligan menempel (*binding*) pada protein tertentu. Afinitas ligan-protein dipengaruhi oleh interaksi intermolekular non-kovalen antara dua molekul seperti ikatan hidrogen, interaksi elektrostatik, hidrofobik, dan gaya Van der Waals.

2.5.6 *Molecular Dynamics*

Simulasi dinamika molekul adalah salah satu aplikasi teknik komputasi yang digunakan untuk mempelajari makromolekul biologis sampai ke tingkat atom. Penggunaan aplikasi tersebut bertujuan untuk memahami perilaku dinamis dari protein pada skala waktu yang berbeda, pergerakan internal yang cepat hingga lambat maupun perubahan proses konformasi lipat protein. Hal tersebut dapat memungkinkan untuk mempelajari efek dari molekul pelarut pada struktur dan stabilitas protein (Alonso *et al.*, 2006). Metode simulasi dinamika molekul

tersebut dikembangkan untuk mempelajari stabilitas protein, perubahan konformasi, pelipatan protein, pengangkutan ion pada sistem biologi, evaluasi struktur hasil kristalografi sinar-X maupun NMR hingga perancangan obat (*drug design*), sehingga metode ini berperan sebagai ‘jembatan’ antara eksperimen dengan teori (Nurbaiti, 2009).

2.5.7 Parameter Simulasi Dinamika Molekul

Dalam melakukan simulasi dinamika molekul, terdapat beberapa parameter yang terkait pada proses simulasi tersebut, antara lain jari-jari *cutoff*, minimisasi energi, dan *ensemble*. Jari-jari *cutoff* R_c merupakan nilai batas partikel agar masuk ke dalam perhitungan gaya total atom (Nurbaiti, 2009). Dalam praktiknya, sering kali potensial diberikan jarak cutoff R_c dan interaksi antaratom yang berjarak lebih besar dari R_c diabaikan (Witoelar, 2002).

Minimisasi energi merupakan suatu proses perhitungan algoritma yang dikembangkan untuk mencari posisi geometri atom yang paling sesuai dengan tingkat energi terendah. Secara umum, terdapat dua jenis metode minimisasi energi yang banyak digunakan dalam simulasi tersebut, yaitu :

- Metode *Steepest Descent* (SD)

Metode SD berfungsi untuk mencari nilai minimum lokal yaitu dengan menggunakan turunan pertama dari fungsi energi. Dalam melakukan minimisasi, metode ini melakukan perulangan (iterasi) dimana posisi atom yang baru merupakan penjumlahan dari posisi sebelumnya dengan ukuran langkah yang diambil dan arah dari langkah yang baru tersebut (Nurbaiti, 2009).

- Metode *Conjugate Gradient* (CG)

Pada metode ini juga menggunakan turunan pertama untuk mencari nilai minimum lokal. Langkah awal pada metode ini sama dengan langkah pada metode *Steepest Descent* (SD). Tetapi pada algoritma yang digunakan pada metode CG turut memperhitungkan langkah sebelumnya untuk melangkah pada tahap berikutnya (Nurbaiti, 2009). Metode ini dapat mengatasi kekurangan metode *Steepest Descent* (SD) dalam mengenali informasi bentuk kurva energi potensial permukaan (Becker *et al.*, 2001).

Ensemble adalah koleksi dari keadaan sistem yang mungkin yang memiliki keadaan mikroskopis berbeda tetapi memiliki keadaan makroskopis sama. Contohnya adalah sistem dengan konfigurasi posisi atau momentum yang berbeda namun memiliki temperatur yang sama (Apriyanti, 2010). Terdapat empat jenis *ensemble*, yaitu:

- *Microcanonical Ensemble* (NVE)

Merupakan ensemble yang memiliki karakteristik jumlah molekul N dan volume V konstan serta energi E konstan. *Ensemble* ini diperoleh dari sistem terisolasi, sehingga tidak terdapat interaksi sistem dengan lingkungan. Dengan demikian, energi tidak dapat keluar-masuk dari sistem sehingga energi total E memiliki harga yang konstan (Sofyan, 2007).

- *Canonical Ensemble* (NVT)

Sistem diisolasi dari perubahan mol (N), volum (V), dan juga temperatur (T) atau dikenal dengan *constant temperature molecular dynamic* (CTMD). Dalam *ensemble* ini terjadi perubahan energi secara eksotermis maupun endotermis dengan suhu yang dijaga menggunakan suatu *thermostat*.

- *Isothermal-Isobaric Ensemble* (NPT)

Sistem diisolasi dari perubahan mol (N), tekanan, (P), dan temperatur (T). Penggunaan *design* ini tidak hanya membutuhkan suatu *thermostat*, tetapi juga suatu *barostat* (menjaga agar tekanan selalu tetap). Kondisi ini lebih menyerupai kondisi yang sering digunakan di dalam eksperimen laboratorium.

- *Generalized Ensemble*

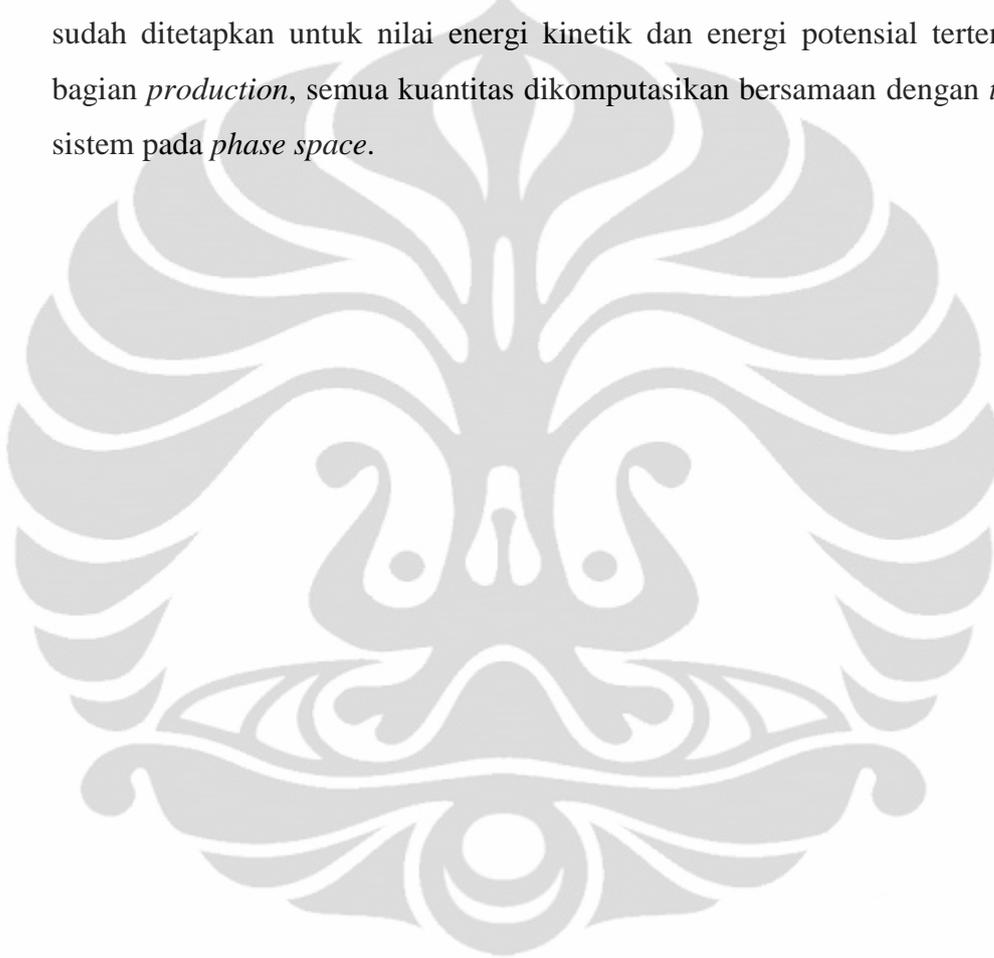
Jenis *ensemble* ini diatur untuk memprediksi pergerakan lambat, karena adanya ketidakteraturan perputaran (*spin*) dalam sistem. Formulasi *molecular dynamic* ini digunakan untuk mengkaji replika sistem yang bekerja pada perubahan temperatur tertentu (Sofyan, 2007).

2.5.8 Tahapan Simulasi Dinamika Molekul

Simulasi dinamika molekul dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak MOE (*Molecular Operating Enviroment*) 2008.10. Simulasi awal dilakukan pada sistem MOE dengan energi yang konstan. Properti dikalkulasikan dengan *microcanonical ensemble*, N adalah jumlah partikel, V adalah volume, dan E

adalah energi konstan. Terkadang T adalah temperatur konstan. Secara umum, tahapan simulasi dari sistem molekular dapat dibagi menjadi 3 bagian, yaitu *initialitation*, *equilibration*, dan *production*.

Pada bagian *initialitation*, dilakukan minimasi energi dari struktur yang ada dengan menghilangkan kemungkinan interaksi van der Waals. Selanjutnya dilakukan dengan penambahan pelarut. *Equilibration* dapat dibangun jika sistem sudah ditetapkan untuk nilai energi kinetik dan energi potensial tertentu. Pada bagian *production*, semua kuantitas dikomputasikan bersamaan dengan *trajectory* sistem pada *phase space*.



BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Peralatan

Dalam penelitian ini digunakan seperangkat komputer dengan *Processor* Intel Core 2 Duo 2,40 GHz, RAM DDR2 2GB, kartu grafis NVidia GeForce 9800 GT, dan dua buah sistem operasi, yaitu Windows XP 2003 serta Ubuntu 10. Untuk menunjang pencarian data secara *on line*, *browser* yang digunakan adalah Mozilla Firefox 3.6.6. Penelitian ini menggunakan beberapa perangkat lunak baik *on line* maupun *off line*. Berbagai perangkat lunak yang digunakan dalam penelitian ini adalah NCBI (<http://www.ncbi.nih.gov>), RCSB (<http://www.rcsb.org/pdb/>), SWISS model (<http://swissmodel.expasy.org/>), Autodock4.2 dan Autogrid 4.2 (<http://autodock.scripps.edu/>), AutoDockTools (<http://mgl.scripps.edu/>), PyMOL (<http://www.pymol.org/>), OpenBabel 2.2.3 (<http://openbabel.sourceforge.net/>), dan MOE 2008.10 (<http://www.chemcomp.com/software.htm>).

3.2 Prosedur Kerja

3.2.1 Penyiapan Struktur 3D HDAC Kelas II *Homo sapiens*

Hal pertama yang dilakukan adalah menyiapkan data sekuens HDAC kelas II (4, 5, 6, 7, 9, dan 10) yang telah tersedia di NCBI (<http://www.ncbi.nih.gov>) dan RCSB (<http://www.rcsb.org/pdb/>) berdasarkan *alignment* yang telah dilakukan oleh penelitian sebelumnya (Nindyapati, 2010). Seluruh data sekuens HDAC kelas II tersebut dimodelkan melalui SWISS model (<http://swissmodel.expasy.org/>) dan diperoleh format data dalam bentuk .pdb.

3.2.2 Penyiapan File HDAC Kelas II *Homo sapiens*

Histone deacetylase (HDAC) kelas II *Homo sapiens* yang telah disiapkan dalam format .pdb dibuka dengan perangkat lunak AutoDockTools. Setiap HDAC kelas II yang telah dibuka, lalu ditambahkan hidrogen polar ke dalam masing-masing HDAC tersebut. Penambahan hidrogen polar berfungsi untuk memberikan

muatan parsial (*partial charges/gasteiger charges*) ke dalam enzim tersebut. Kemudian enzim disimpan dalam format .pdbqt.

Setelah dalam bentuk pdbqt, muatan Zn pada HDAC kelas II *Homo sapiens* harus diubah dari 0 menjadi +2 dengan menggunakan *python script* melalui Linux terminal. Kemudian HDAC kelas II *Homo sapiens* diatur sebagai makromolekul untuk proses *docking*.

3.2.3 Penyiapan File Inhibitor HDAC Kelas II *Homo sapiens*

Hasil modifikasi Inhibitor atau ligan terbaik berdasarkan penelitian sebelumnya (Nindyapati, 2010) dibuka dengan perangkat lunak AutoDockTools dalam format .pdb. Kemudian jumlah *torsion* pada ligan diatur berdasarkan jumlah *rotatable bond* yang terdeteksi pada ligan. Ligan disimpan dalam format .pdbqt.

3.2.4 Penyiapan Grid Box

Grid box merupakan penentuan koordinat area untuk proses *docking*. *Grid box* diatur di dalam AutoDockTools. Penentuan ukuran *grid box* dalam penelitian ini didasarkan pada hasil *docking* penelitian sebelumnya (Tambunan dan Wulandari, 2010) yang juga menggunakan HDAC kelas II *Homo sapiens* sebagai target inhibitor. Ukuran *grid box* untuk masing-masing HDAC dapat dilihat pada tabel 3. Dimensi *grid box* yang digunakan adalah 50 x 60 x 50 dengan *grid spacing* 0.375 Å. Kemudian *grid box* disimpan dalam format *grid parameter file* (.gpf).

Tabel 3 Lokasi koordinat *grid box* pada HDAC

Enzim	Koordinat		
	x	y	z
HDAC 4	19.228	-6.296	0.177
HDAC 5	19.696	-6.093	0.513
HDAC 6	15.326	-7.608	8.495
HDAC 7	18.484	-6.198	-0.744
HDAC 9	18.078	-7.314	-2.129
HDAC 10	17.713	-6.707	1.288

3.2.5 Simulasi Docking

Docking dilakukan dengan menggunakan AutoGrid 4.2 dan AutoDock 4.2 melalui terminal. File yang harus disiapkan untuk melakukan *docking* adalah file enzim dalam format *pdbqt*, ligan dalam format *.pdbqt*, *grid parameter file* (.gpf), dan *docking parameter file* (.dpf). Algoritma yang digunakan adalah Lamarckian Genetic Algorithm (LGA) dengan ukuran populasi 150, evaluasi energi sebanyak 2.5×10^6 juta, pengulangan (*search runs*) sebanyak 100 kali dengan batas standar deviasi (RMSD) sebesar 1,5, dan dilakukan dua kali pengulangan setiap melakukan simulasi *docking*.

3.2.6 Analisa Hasil Docking

Hasil *docking* dengan AutoDock 4.2 diperoleh dalam format *docking log file* (.dlg). Kemudian dengan menggunakan *script* melalui terminal, hasil *docking* dalam format *dlg* dikonversi ke dalam format *.pdb*. Dari 100 model yang dihasilkan akan diambil satu model terbaik berdasarkan data energi bebas ikatan untuk kemudian dianalisa interaksinya.

Analisa energi bebas ikatan dan konstanta inhibisinya dapat dilihat melalui gedit Text Editor pada Ubuntu 10 atau Notepad pada Windows XP 2003. Sedangkan analisa interaksi kompleks enzim-ligan dilihat menggunakan perangkat lunak PyMOL.

3.2.7 Persiapan Dynamic Simulation

Pada persiapan *molecular dynamic*, dilakukan optimasi geometri dan minimisasi energi struktur tiga dimensi pada kompleks HDAC kelas II dan ligan dengan menggunakan perangkat lunak MOE 2008.10. Optimasi geometri *partial charge* kompleks enzim-ligan dilakukan dengan metode parameter yang menggunakan *current forcefield*. Selanjutnya, dilakukan tahap minimisasi energi dengan *force field* MMFF94x.

Dalam simulasi *molecular dynamics* diikutsertakan adanya efek pelarut terhadap interaksi kompleks enzim-ligan. Hal ini berbeda dengan proses yang dilakukan pada saat *docking*. Dalam perangkat lunak MOE, solvasi *dynamic*

ditentukan dalam *potential setup* yang menggunakan solvasi *born* dengan RMS gradient 0.05.

3.2.8 *Molecular Dynamic Simulation*

Proses *molecular dynamic* terhadap kompleks enzim-ligan dilakukan menggunakan perangkat lunak MOE 2008.10 dengan program *MOE-dynamic*. Parameter yang digunakan sesuai dengan *default* pada *MOE-dynamic*, yaitu *ensemble* NVT (N: jumlah atom; V: volume; T: temperatur) dengan algoritma NPA. Tahapan simulasi dinamika molekul:

- Inisialisasi : Sebelum simulasi dijalankan, dilakukan inisialisasi selama 300 piko detik.
- Ekuilibrasi
- Produksi : Menghasilkan *trajectory* yang akan dianalisis

3.2.9 *Proses Dynamic Simulation*

Simulasi dinamika molekul dilakukan dengan kompleks enzim-inhibitor pada suhu 300 K dengan *heating* selama 10 piko detik, lalu menjalankan simulasi selama 5 nano detik. Inhibitor yang dimaksud adalah ligan hasil modifikasi dan standar. Tahapan selanjutnya adalah dilakukan proses *cooling* selama 20 piko detik hingga suhu mencapai 1 K. Hasil *position*, *velocity* dan *acceleration* disimpan setiap 0,5 piko detik. Parameter lain sesuai dengan *default MOE-dynamic*.

3.2.10 *Analisis Hasil Dynamic Simulation*

Hasil kalkulasi dinamika molekul dapat dilihat pada *output database viewer MOE* dalam format *.mdb*. Kemudian interaksi antara enzim dan ligan selama proses *molecular dynamic* dapat dilihat pada *output database viewer MOE* dalam format *.mdb*. Pengamatan kontak residu serta ikatan hidrogen dapat dilihat pada *LigX Ligand Interaction* pada perangkat lunak MOE 2008.10.

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

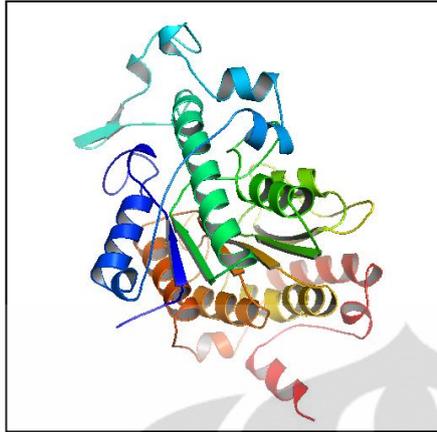
4.1 Penyiapan Struktur HDAC Kelas II *Homo sapiens*

Hasil pengambilan sekuen HDAC kelas II *Homo sapiens* berdasarkan *alignment* dari penelitian sebelumnya di situs NCBI (Nindyapati, 2010). Metode *alignment* itu sendiri merupakan metode pensejajaran beberapa sekuen baik itu sekuen DNA maupun protein. Sekuen yang memiliki kemiripan paling besar diambil sebagai sekuen untuk simulasi. Tabel 4.1 menunjukkan sekuen yang diambil untuk penelitian ini. Hasil sekuen diperoleh dalam format FASTA yang dapat dilihat pada **Lampiran 2-7**.

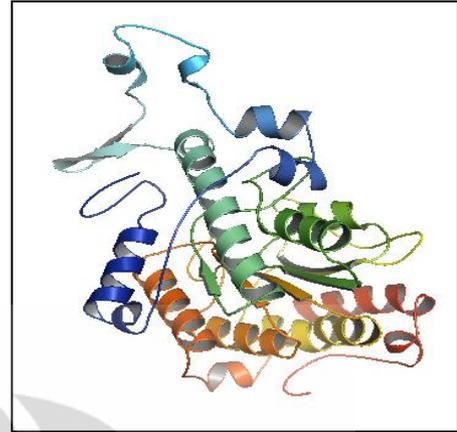
Tabel 4.1 Hasil pengambilan sekuen HDAC kelas II *Homo sapiens*

Enzim	Kode Sekuen
HDAC 4	NP_006028.2
HDAC 5	NP_005465.2
HDAC 6	NP_006035.2
HDAC 7	NP_056216.2
HDAC 9	NP_848510.1
HDAC 10	NP_114408.3

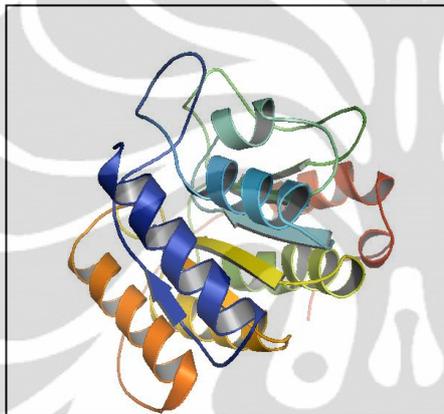
Kelompok HDAC kelas II *Homo sapiens* tersusun lebih dari 1000 residu asam amino, sehingga pada penelitian sebelumnya dilakukan pengeditan untuk memotong sekuen HDAC kelas II *Homo sapiens* tersebut. Struktur tiga dimensi HDAC kelas II *Homo sapiens* yang digunakan merupakan daerah katalitik yang berdasarkan pada daerah yang dipertahankan (*conserved region*) (Wulandari, 2010). Kumpulan sekuen HDAC tersebut dimodelkan dengan SWISS model secara *on line*, lalu disimpan dalam format .pdb. Hasil pemodelan tersebut dapat dilihat pada **Gambar 4.1-4.6**.



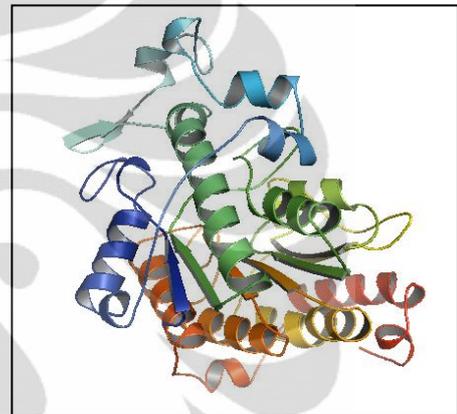
Gambar 4.1 HDAC 4



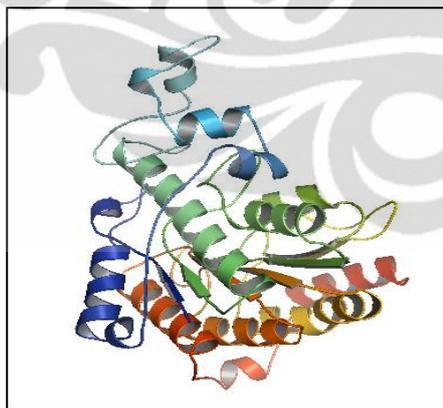
Gambar 4.2 HDAC 5



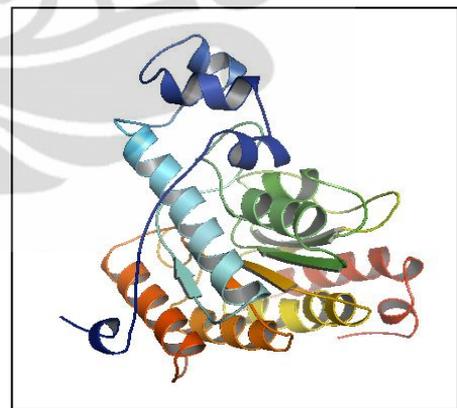
Gambar 4.3 HDAC 6



Gambar 4.4 HDAC 7



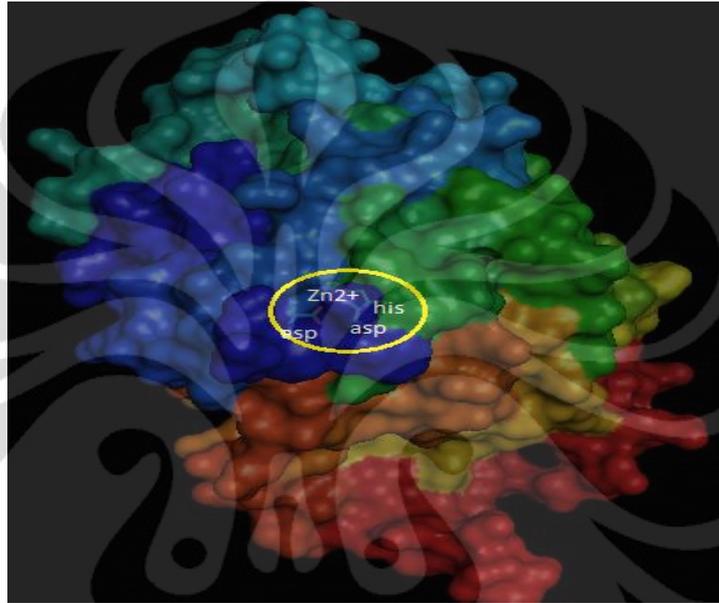
Gambar 4.5 HDAC 9



Gambar 4.6 HDAC 10

4.2 Visualisasi Sisi Aktif HDAC Kelas II *Homo sapiens*

Untuk mengetahui sisi katalitik pada HDAC kelas II *Homo sapiens*, dilakukan visualisasi struktur tiga dimensi menggunakan PyMOL. Hasil visualisasi tersebut menunjukkan bahwa enzim yang digunakan memiliki sisi katalitik berupa kofaktor Zn^{2+} yang berikatan dengan tiga residu asam amino, yaitu dua asam aspartat dan satu histidin.



Gambar 4.7 Visualisasi sisi aktif HDAC kelas II *Homo sapiens*

Setiap HDAC kelas II memiliki letak sisi katalitik yang berbeda. Letak daerah sisi katalitik untuk tiap-tiap enzim HDAC 4, HDAC 5, HDAC 6, HDAC 7, HDAC 9, dan HDAC 10 ditunjukkan oleh tabel 4.2.

Tabel 4.2 Letak sisi katalitik HDAC kelas II *Homo sapiens*

Enzim	Letak Daerah Sisi Katalitik Enzim
HDAC 4	Ion Zn^{2+} dengan residu Asp193, His195, dan Asp287
HDAC 5	Ion Zn^{2+} dengan residu Asp178, His180, dan Asp272
HDAC 6	Ion Zn^{2+} dengan residu Asp71, His73, dan Asp164
HDAC 7	Ion Zn^{2+} dengan residu Asp191, His193, dan Asp285
HDAC 9	Ion Zn^{2+} dengan residu Asp188, His190, dan Asp282
HDAC 10	Ion Zn^{2+} dengan residu Asp133, His135, dan Asp226

4.3 Penyiapan Inhibitor HDAC Kelas II *Homo sapiens*

Inhibitor atau ligan untuk HDAC disiapkan dalam format .pdb. Ligan yang disiapkan merupakan hasil dari modifikasi sebelumnya yang memiliki afinitas terbaik dan toksisitas yang rendah menurut *Lipinski's Rule of Five* (Nindyapati, 2010). Setiap HDAC akan dipasangkan dengan SAHA sebagai standar dan satu ligan terbaik agar dapat diketahui perbedaan interaksi antara kedua ligan tersebut dalam simulasi. Pasangan interaksi antara ligan dengan HDAC dapat dilihat pada tabel 4.3.

Tabel 4.3 Pasangan HDAC kelas II *Homo sapiens* dengan ligan

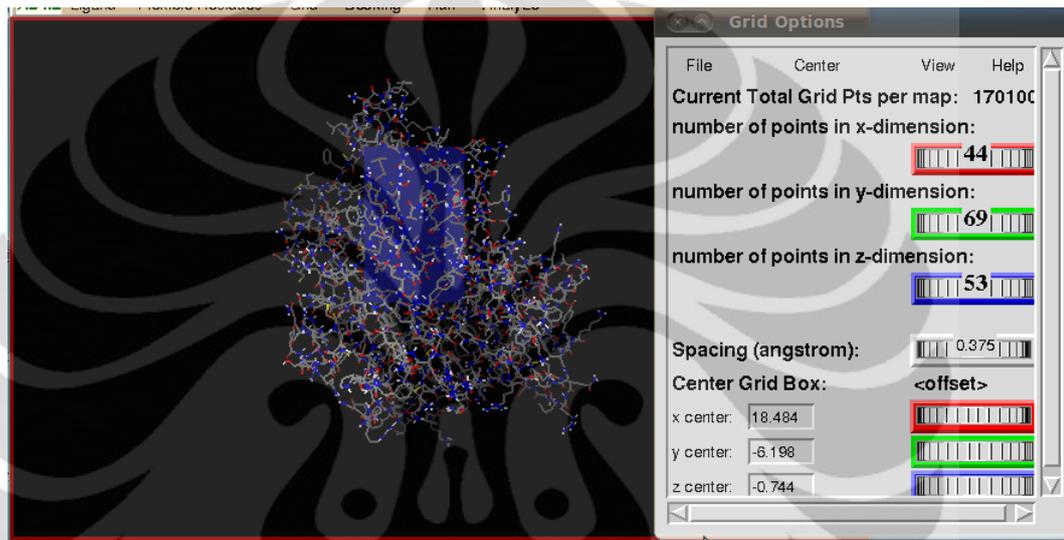
Enzim	Ligan	
HDAC 4	SAHA	2c
HDAC 5	SAHA	2a
HDAC 6	SAHA	2c
HDAC 7	SAHA	2c
HDAC 9	SAHA	1c
HDAC 10	SAHA	1c

4.4 Penyiapan Enzim dan Ligan untuk *Docking*

Format dasar file enzim dan ligan berupa .pdb yang tidak memiliki muatan. Untuk melakukan proses *docking*, format .pdb harus diubah ke dalam format .pdbqt agar dapat menunjukkan muatan parsial pada masing-masing atom. Dalam format .pdb, atom Zn memiliki muatan nol (*zero charges*), sehingga tidak terbaca sebagai kofaktor pada enzim oleh AutoDock. Oleh karena itu, muatan Zn harus diubah terlebih dahulu menjadi Zn^{2+} melalui *script* pada terminal Linux, sehingga ligan akan berinteraksi dengan kofaktor Zn^{2+} .

Pada proses penyiapan ligan, AutoDock akan merespon mengenai jumlah *rotatable bond* dari ligan. Jumlah *rotatable bond* tersebut menunjukkan derajat fleksibilitas dari suatu ligan. Semakin banyak *rotatable bond*, ligan akan menjadi semakin fleksibel, sehingga dapat menghasilkan jumlah model simulasi *docking* yang bervariasi. Dari jumlah *rotatable bond* tersebut dapat diatur derajat torsional ligan untuk menjalankan proses *docking*.

Sebelum melakukan proses *docking*, dilakukan terlebih dahulu suatu pengaturan *grid box*. *Grid box* merupakan suatu parameter di dalam AutoDock untuk mengatur area (*mapping*) pada proses *docking*. Hal tersebut bertujuan untuk menentukan letak sisi aktif dari enzim dan memberikan ruang (*spacing*) terhadap ligan agar dapat berotasi. Dimensi *grid box* yang digunakan harus cukup besar agar ligan dapat berotasi secara bebas (Samira, 2009). Setiap HDAC memiliki parameter *grid box* yang berbeda-beda.



Gambar 4.8 Parameter *grid box* dari AutoDock

4.5 *Docking*

Docking merupakan suatu metode simulasi untuk memprediksikan interaksi antara ligan dengan enzim. Proses *docking* itu sendiri terbagi ke dalam dua macam, yaitu *blind docking* dan *oriented docking*. *Blind docking* merupakan proses *docking* yang dilakukan tanpa mengetahui letak sisi aktif enzim secara pasti. Parameter *grid box* yang ditentukan bukan daerah yang spesifik, melainkan ke seluruh area enzim. Sedangkan *oriented docking* merupakan proses *docking* yang sudah memiliki parameter *grid box* yang spesifik dalam menentukan letak sisi aktif dari enzim. Pada penelitian ini proses *docking* yang dilakukan merupakan proses *oriented docking*, karena sudah mengetahui parameter *grid box* dari setiap enzim.

Setelah mengatur berbagai parameter untuk ligan dan enzim, maka proses selanjutnya adalah proses *docking*. Proses *docking* tersebut bersifat semi fleksibel,

yaitu enzim harus bersifat rigid sedangkan ligan menjadi fleksibel. Proses *docking* dimulai dengan melakukan *autogrid* dengan menggunakan Autogrid 4.2. Tujuan dari proses tersebut adalah menyiapkan area untuk proses *docking* berdasarkan *grid box* yang telah diatur sebelumnya. Proses *autogrid* dilakukan melalui *script* pada terminal Linux. Hasil *autogrid* diperoleh dalam format *grid log file* (.glg) dan kemudian akan digunakan sebagai parameter untuk proses *docking* selanjutnya.

Dalam proses *docking* ini algoritma yang digunakan adalah *Lamarckian Genetic Algorithm* (LGA). Penggunaan algoritma ini lebih direkomendasikan karena merupakan hibridisasi dari algoritma *Local Search* dan *Genetic Algorithm*. Nilai evaluasi energi dan *search runs* yang dipakai berpengaruh terhadap lamanya durasi *docking* dan nilai energi hasil *docking*. Jumlah *search runs* merupakan banyaknya pengulangan atau replikasi *docking* yang dilakukan (Samira, 2009). Dalam penelitian ini dilakukan 100 kali pengulangan sehingga dalam satu kali *docking* akan dihasilkan 100 model inhibitor.

4.6 Analisa Hasil Docking

4.6.1 Interaksi Ligan dengan HDAC Kelas II *Homo sapiens*

Hasil *docking* antara HDAC dengan ligan disimpan dalam format *docking log file* (.dlg) yang dapat dilihat pada **Lampiran 8-19**. Hasil *docking* dalam format .dlg tidak dapat menunjukkan interaksi secara visual antara HDAC dengan ligan. Oleh karena itu, format file .dlg terlebih dahulu diubah menjadi format file .pdb. Hasil *docking* berupa file .pdb tersebut dapat dilihat interaksi antara HDAC dengan ligan melalui perangkat lunak PyMOL.

Satu model ligan dari 100 model hasil *docking* akan diambil berdasarkan nilai energi ikatan yang paling negatif dan memiliki interaksi yang kuat gugus polar pada ligan dengan kofaktor Zn^{2+} sebagai sisi katalitik enzim. Interaksi yang dipilih berdasarkan terbentuknya kelat cincin segilima antara atom O di gugus C=O dan -OH pada ligan dengan kofaktor Zn^{2+} . Adanya kelat cincin segilima tersebut dapat mengakibatkan kofaktor Zn^{2+} terikat dengan kuat oleh gugus polar pada ligan. Kuatnya interaksi kelat segilima tersebut dikarenakan terbentuknya sudut ikatan yang cukup stabil dan berenergi rendah. Interaksi tiga dimensi antara

ligan standar SAHA dan ligan modifikasi dengan HDAC kelas II *Homo sapiens* dapat dilihat pada **Lampiran 20-31**.

Hasil *docking* antara SAHA dan ligan modifikasi dengan HDAC memiliki interaksi yang sama dikarenakan memiliki gugus pengikat kofaktor Zn^{2+} yang sama, sehingga interaksi yang diharapkan akan tetap menghasilkan kompleks cincin segilima. Perbedaan yang terjadi dari hasil *docking* antara SAHA dengan ligan modifikasi terletak pada rantai sampingnya. Diharapkan dengan adanya perubahan pada rantai samping tersebut terjadi interaksi dengan residu lain pada HDAC dan mampu menutup substrat untuk berinteraksi dengan sisi katalitik. Oleh karena itu, hasil interaksi antara ligan dengan HDAC tidak dapat menjadi satu-satunya tolak ukur dalam menentukan model ligan terbaik. Hasil interaksi ligan dengan HDAC dapat dilihat pada tabel 4.4.

Tabel 4.3 Pasangan interaksi hasil *docking* HDAC dengan ligan

Ligan	Docking Interaction					
	HDAC 4	HDAC 5	HDAC 6	HDAC 7	HDAC 9	HDAC 10
SAHA	Zn^{2+}, Asp287, His 155, His 195	Zn^{2+}, Asp 272, His 140, His 180	Zn^{2+}, His 32, His33, Tyr204	Zn^{2+}, Asp285, Thr 109, His 154, Gly 152	Zn^{2+}, Asp 282, His 150, His 151	Zn^{2+}, Asp133, His 95, His 96, Asn 103, Tyr266
1c	-	-	-	-	Zn^{2+}, Asp 188, His 150, His 151, Pro 290	Zn^{2+}, Asp 133, His 95, His 96, Tyr266
2a	-	Zn^{2+}, Asp178, His 140, Gly 312	-	-	-	-
2c	Zn^{2+}, Asp193, His155	-	Zn^{2+}, Asp71, His32, His33, Tyr204	Zn^{2+}, Asp191, Glu115, His153, His154,	-	-

* cetak tebal menunjukkan sisi katalitik enzim.

4.6.2 Energi Bebas Ikatan ($\Delta G_{\text{binding}}$) dan Konstanta Inhibisi (K_i)

Secara umum proses *docking* akan menghasilkan tiga hal, yaitu orientasi dan posisi yang dihasilkan suatu ligan sebagai inhibitor terhadap enzim. Kemudian dapat mengidentifikasi senyawa yang memiliki afinitas terhadap protein dan berfungsi sebagai salah satu cara yang dapat memprediksi suatu afinitas molekul terhadap enzim. Ketiga hal tersebut berupa fungsi *scoring* yang diestimasi sebagai harga energi bebas ikatan ($\Delta G_{\text{binding}}$) dalam Kkal/mol. Nilai $\Delta G_{\text{binding}}$ menggambarkan kuat ikatan yang terjadi antara enzim dengan ligan (Irene dan Harrison, 1998). Hubungan antara nilai energi bebas ikatan ($\Delta G_{\text{binding}}$) dengan konstanta inhibitor (K_i) dapat dilihat pada persamaan termodinamik berikut (Kitchen et al., 2004) :



$$K_i = \frac{[E][L]}{[EL]}$$

$$\Delta G^0 = -RT \ln [1/K_i] \quad K_i = \text{Konstanta inhibisi}$$

E adalah enzim, L adalah ligan, dan EL adalah kompleks enzim-ligan. Data konstanta inhibisi yang diperoleh pada hasil *docking* adalah menggunakan persamaan kesetimbangan tersebut. Sedangkan untuk melihat korelasi antara K_i dengan ΔG harus membalikkan terlebih dahulu reaksi tersebut sehingga akan menunjukkan korelasi yang benar. Semakin kecil nilai K_i , maka reaksi akan cenderung ke arah pembentukan kompleks enzim-ligan. Sebaliknya, semakin besar nilai K_i , maka reaksi ke arah pembentukan kompleks enzim-ligan lebih sulit terjadi. Semakin kecil nilai K_i , maka akan semakin negatif pula nilai ΔG pada kompleks enzim ligan. Dengan demikian, interaksi ikatan antara enzim-ligan menjadi lebih disukai.

Pengambilan model ligan terbaik hasil kalkulasi AutoDock 4.2 berdasarkan pada nilai energi bebas ikatan yang paling kecil serta interaksi ligan tersebut dengan ion Zn^{2+} pada enzim. Pengambilan model ligan terbaik tidak dilihat berdasarkan *cluster* (*pose* ligan) yang ada pada hasil kalkulasi AutoDock 4.2. Nilai energi bebas ikatan dan konstanta inhibisi tersebut dapat dilihat pada tabel 4.4 dan 4.5.

Tabel 4.4 Energi bebas ikatan hasil simulasi *docking* ligan standar dan modifikasi terhadap HDAC kelas II *Homo sapiens*

Ligan	Energi Ikatan, ΔG (kcal/mol)					
	HDAC 4	HDAC 5	HDAC 6	HDAC 7	HDAC 9	HDAC 10
SAHA	-7.04	-6.91	-6.92	-7.16	-6.67	-7.63
1c	-	-	-	-	-7.40	-7.94
2a	-	-8.55	-	-	-	-
2c	-9.26	-	-8.38	-9.49	-	-

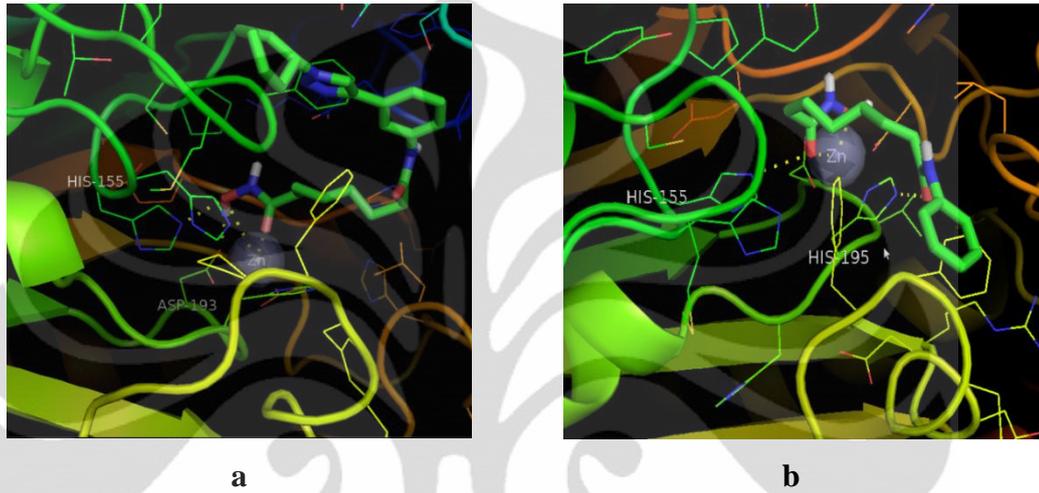
Tabel 4.5 Konstanta inhibisi hasil simulasi *docking* ligan standar dan modifikasi terhadap HDAC kelas II *Homo sapiens*

Ligan	Konstanta Inhibisi, K_i (μM)					
	HDAC 4	HDAC 5	HDAC 6	HDAC 7	HDAC 9	HDAC 10
SAHA	6.89	8.63	8.53	5.69	12.94	2.54
1c	-	-	-	-	3.78	1.52
2a	-	0.54	-	-	-	-
2c	0.16	-	0.72	0.11	-	-

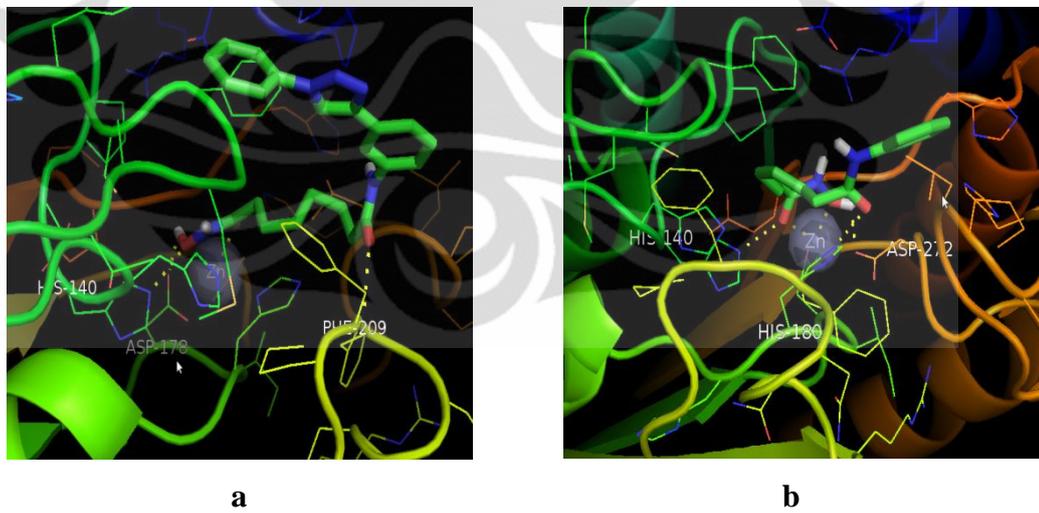
Nilai energi bebas ikatan ($\Delta G_{binding}$) hasil kalkulasi AutoDock 4.2 pada tabel 4.4 menunjukkan harga ΔG yang negatif untuk semua ligan, baik ligan standar SAHA maupun ligan modifikasi. Hal ini menunjukkan bahwa konformasi kompleks ligan standar SAHA dan ligan modifikasi dengan HDAC 4, HDAC 5, HDAC 6, HDAC 7, HDAC 9, dan HDAC 10 lebih stabil dibandingkan dengan konformasi individual, karena apabila terjadi interaksi ikatan (*binding*) akan membebaskan energi yang dapat digunakan untuk menurunkan energi aktivasi dalam rangka keberlangsungan reaksi katalitik (Wulandari, 2010). Meskipun demikian, nilai energi bebas ikatan ($\Delta G_{binding}$) pada ligan modifikasi lebih rendah dibandingkan dengan SAHA. Hal tersebut mengindikasikan bahwa afinitas ikatan antara ligan modifikasi dengan enzim lebih kuat dan stabil dibandingkan ligan standar SAHA dengan enzim untuk semua HDAC kelas II *Homo sapiens*. Data energi ikatan tersebut diperkuat dengan nilai konstanta inhibisi pada setiap ligan modifikasi lebih kecil dibandingkan dengan nilai pada SAHA.

4.6.3 Visualisasi 3D Hasil *Docking*

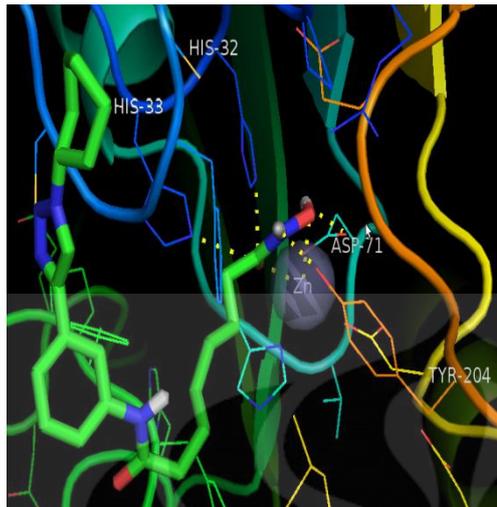
Visualisasi konformasi seluruh hasil *docking* ligan dengan HDAC kelas II *Homo sapiens* dilakukan dengan menggunakan PyMOL. Interaksi tiga dimensi ligan-ligan tersebut terhadap HDAC kelas II *Homo sapiens* dapat dilihat pada gambar 4.8 sampai 4.13. Hasil dari visualisasi tersebut menunjukkan interaksi ligan terhadap Zn^{2+} sebagai sisi katalitik dari HDAC kelas II *Homo sapiens*.



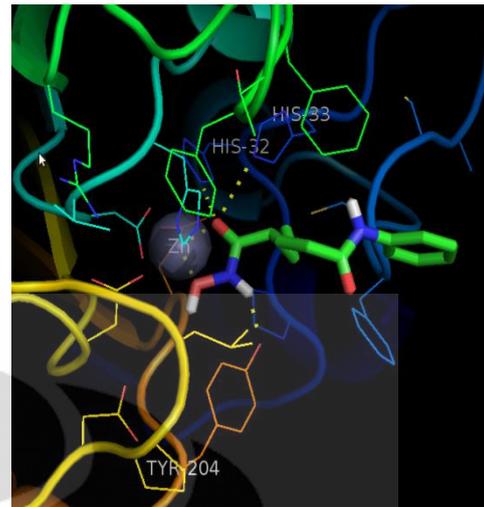
Gambar 4.9 Interaksi 3D antara (a) ligan 2c (b) SAHA dengan HDAC 4 hasil simulasi *docking*



Gambar 4.10 Interaksi 3D antara (a) ligan 2a (b) SAHA dengan HDAC 5 hasil simulasi *docking*

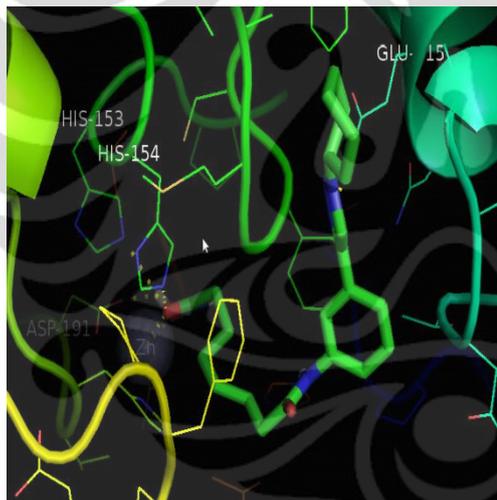


a

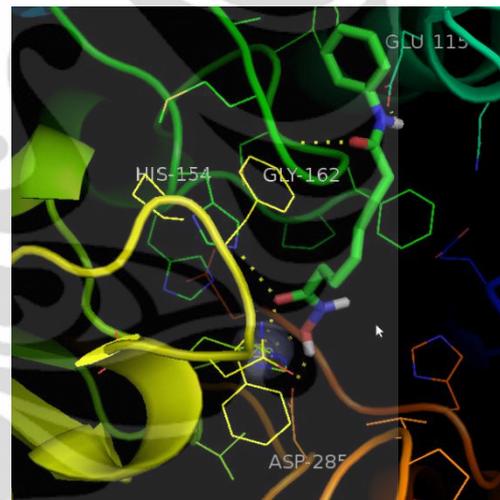


b

Gambar 4.11 Interaksi 3D antara (a) ligan 2c (b) SAHA dengan HDAC 6 hasil simulasi *docking*

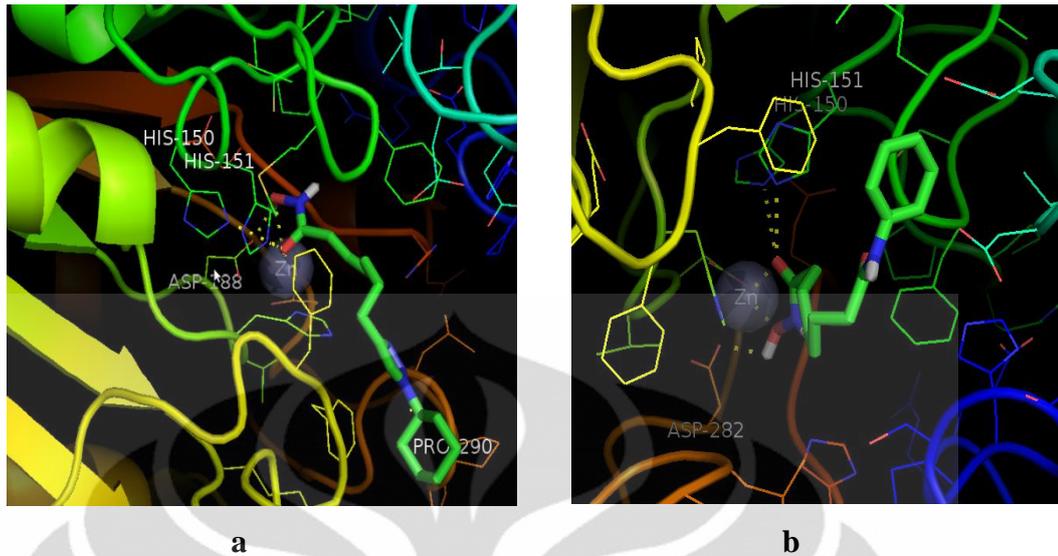


a

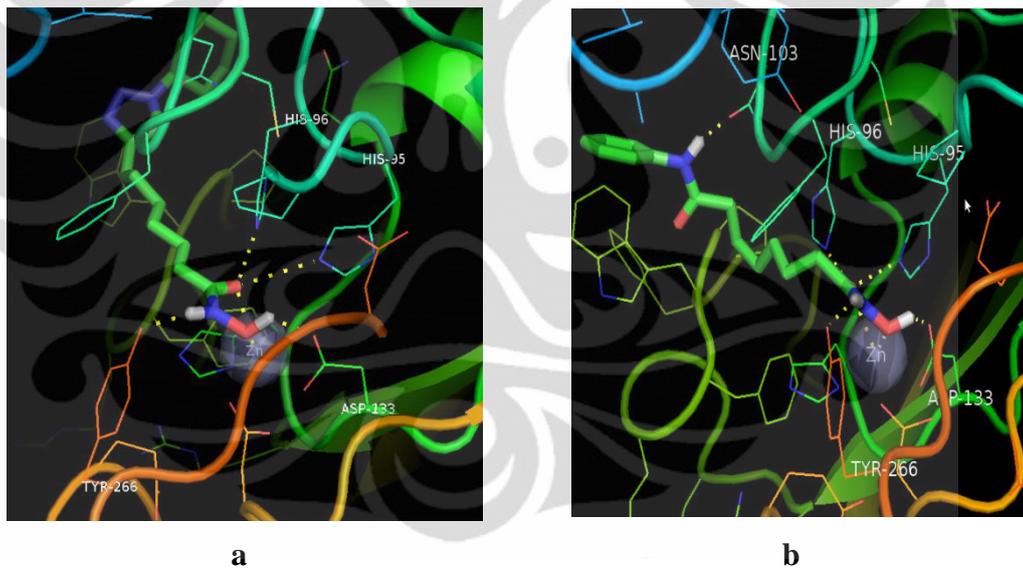


b

Gambar 4.12 Interaksi 3D antara (a) ligan 2c (b) SAHA dengan HDAC 7 hasil simulasi *docking*



Gambar 4.13 Interaksi 3D antara (a) ligan 1c (b) SAHA dengan HDAC 9 hasil simulasi *docking*



Gambar 4.14 Interaksi 3D antara (a) ligan 1c (b) SAHA dengan HDAC 10 hasil simulasi *docking*

4.7 Simulasi Dinamika Molekul (*Molecular Dynamic Simulation*)

Simulasi dinamika molekul dilakukan untuk mengevaluasi hasil proses *molecular docking*. Simulasi dinamika molekul memperlakukan ligan dan enzim pada keadaan fleksibel dengan adanya pelarut sehingga dapat mempelajari pengaruh pelarut secara eksplisit dalam sistem, kemudian diaplikasikan dalam

mengeksplorasi konformasi dari reseptor protein untuk meningkatkan proses desain obat (Alonso *et al*, 2006). Proses simulasi ini dilakukan terhadap 12 pasang kompleks ligan-enzim hasil *molecular docking*. Tujuan dari proses simulasi ini adalah menganalisis kontak residu dari kompleks tersebut selama simulasi berjalan.

Simulasi dinamika molekul dijalankan menggunakan program *dynamic* pada perangkat lunak MOE 2008.10. Algoritma yang digunakan adalah NPA (*Nosé-Poincaré-Anderson*) yang merupakan algoritma paling akurat, sensitif, mengatur *ensemble* secara benar serta dapat memastikan bahwa *trajectory* yang dihasilkan yang sesuai dengan kondisi termodinamik yang diinginkan. Spesifikasi statistik yang digunakan selama simulasi diatur pada *ensemble*. Parameter *ensemble* yang digunakan adalah NVT (N: jumlah atom; V: volume; T: temperatur yang tetap) atau yang disebut dengan ensembel kanonikal. *Ensemble* tersebut dipilih karena dalam tingkat makroskopis ataupun laboratorium temperatur sistem lebih mudah dikendalikan, maka simulasi dilakukan pada temperatur konstan (Sofyan, 2007).

Parameter lain yang digunakan dalam simulasi dinamik adalah parameter *forcefield*. *Force field* yang digunakan adalah MMFF94x dan tekanan sebesar 101 kPa. *Force field* tersebut digunakan dalam simulasi dinamika molekul karena dapat menempatkan atom hidrogen pada posisi yang paling tepat sehingga sangat berguna juga untuk validasi posisi atom hidrogen dalam keadaan solvasi oleh molekul air (Panigrahi dan Desiraju, 2007). Selain itu *force field* tersebut mengungguli *force field* yang lain dalam hal optimasi energi (Abhishek dan Sunil K., 2007).

Berbeda dengan proses *docking* yang memposisikan enzim dalam keadaan *rigid*, pada simulasi dinamika molekul enzim diposisikan dalam keadaan yang fleksibel dengan adanya pengaruh pelarut. Penambahan pelarut dalam simulasi dinamika molekul menggunakan solvasi *born*. Jenis solvasi ini merupakan sistem eksplisit, molekul protein secara nyata dikelilingi oleh pelarut. Adanya jenis solvasi *born*, mengakibatkan energi solvasi (E_{sol}) turut diperhitungkan dalam energi potensial sistem molekular yang merupakan fungsi dari koordinat atom :

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

dimana E_{str} = energi *stretching*, E_{ang} = energi *angular*, E_{stb} = energi *stretching* dan *bending*, E_{oop} = energi operasi, E_{tor} = energi bebas torsional, E_{vdw} = energi intermolekul van der Waals, E_{ele} = energi elektrostatik, E_{sol} = energi solvasi pelarut, dan E_{res} = energi tiap residu yang bergerak. Terlihat jelas bahwa dalam persamaan tersebut terdapat nilai E_{sol} (Shattuck, 2009).

Setelah semua parameter tersebut telah diatur dalam *potensial setup* perangkat lunak MOE 2008.10, dilakukan optimasi geometri dan minimisasi energi enzim ataupun kompleks ligan-enzim. Koordinat awal suatu biomolekul diperoleh dari hasil kristalografi sinar-X atau pemodelan struktur tiga dimensi yang jarak antar atom tidak berada dalam posisi kesetimbangan. Adanya ketidaksesuaian geometri tersebut menyebabkan terjadinya interaksi yang tidak disukai (*bad contact*) maupun efek-efek sterik berenergi tinggi yang berakibat sistem yang disimulasikan menjadi tidak stabil. Maka setelah parameter simulasi disesuaikan sehingga mendekati keadaan nyata, dilakukan proses minimisasi sehingga posisi geometri atom yang tidak sesuai dapat dikembalikan sehingga dihasilkan energi potensial terendah bagi sistem (Nurbaiti, 2009).

Tahapan simulasi selanjutnya adalah inisialisasi molekul-molekul dengan melakukan *run* selama 300 piko detik. Penentuan waktu 300 piko detik berdasarkan hasil *trial and error* dari penelitian yang dilakukan. Diestimasi dalam waktu 300 piko detik keadaan kompleks enzim-ligan sudah berada pada kondisi yang stabil. Hal tersebut dilakukan karena bila pada *run* di bawah 100 piko detik, kompleks enzim-ligan belum berada pada kondisi stabil. Tahapan inisialisasi juga merupakan suatu tahapan persiapan pelarut sebelum memasuki tahapan selanjutnya dalam proses simulasi dinamika molekul. Pada penelitian ini tahapan inisialisasi juga sebagai tahapan untuk menentukan ligan yang dapat berinteraksi dengan enzim pada simulasi dinamika molekul. Apabila pada tahap inisialisasi ligan sudah tidak berikatan lagi dengan enzim, maka dapat dipastikan bahwa setelah simulasi dinamik tidak akan terjadi interaksi antara ligan dengan enzim. Hal tersebut dapat dimungkinkan terjadi karena adanya perbedaan komputasi antara dua perangkat lunak yang berbeda. Inisialisasi molekul melibatkan penentuan posisi awal dan kecepatan awal molekul-molekul. Selain itu

tahapan inisialisasi juga mengatur sistem untuk memiliki energi relatif minimum dan mengendurkan interaksi berenergi tinggi sebelum masuk pada tahapan selanjutnya. *Output* hasil inisialisasi berupa *database* dengan format *.mdb*.

4.7.1 Simulasi Dinamika Molekul pada Temperatur 300 K

Hasil inisialisasi dilanjutkan pada suhu 300 K untuk mengetahui interaksi awal dari kompleks enzim-ligan sebelum dilakukan pada suhu tubuh manusia yaitu suhu 310 K. Pada penelitian ini hanya dilakukan pada suhu 300 K dan tidak dilakukan pada suhu 310 K. Namun demikian, hasil interaksi simulasi pada penelitian ini dapat menjadi acuan untuk dilanjutkan pada suhu 310 K.

Pada temperatur 300 K, dilakukan *heating* terlebih dahulu selama 10 piko detik. Pengaturan waktu simulasi utama dilakukan pada *dynamics box* kolom *run* selama 5000 piko detik. Kemudian dilakukan *cooling stage* selama 20 piko detik. Temperatur 300 K merupakan temperatur kamar yang biasanya digunakan untuk melakukan simulasi dinamika molekul. Setelah simulasi utama, sistem akan didinginkan (*cooling stage*) dengan tujuan untuk menemukan energi konformasi terendah dari molekul. Proses tersebut dikenal sebagai *annealing*. *Cooling stage* membuat temperatur simulasi mencapai 1 K. Hasil *position*, *velocity* dan *acceleration* disimpan setiap 0,5 pikodetik. *Output* hasil simulasi berupa *database* dengan format *.mdb*.

4.8 Analisis Hasil Simulasi Dinamika Molekul pada Temperatur 300 K

4.8.1 Analisis Interaksi Ligan dengan HDAC 4

Hasil simulasi dinamika molekul menunjukkan perbedaan interaksi antara ligan standar SAHA dan ligan 2c dengan HDAC 4. Tabel 4.6 memperlihatkan data interaksi ligan selama simulasi.

Tabel 4.6 Kontak residu ligan-HDAC 4 selama simulasi dinamika molekul

Waktu	SAHA	2c
Setelah inisialisasi	Zn ²⁺ , Asp 193, Gly 327, Phe223, Pro295, Asn222, Leu296	Zn ²⁺ , His196, Gly 327, Phe224, Phe286, His31, Gly164, Ser26

<i>Heating</i> 10 piko detik	Zn ²⁺ , Asp 193 , Gly327, His155, His156, Glu326, Phe223, Pro295, Asn222, Leu296	Zn ²⁺ , His196 , Gly327, Phe224, Se26
5000 piko detik	Zn ²⁺ , Asp 193 , Gly 327, His155, His156, Glu326, Glu30, Gly285, Gly164, His329	Zn ²⁺ , His196, Gly265, Phe165, Ser27, Gly197, Asp110, Ser94, Met163, Asp220
<i>Cooling</i> 20 piko detik (akhir simulasi)	Zn ²⁺ , Asp 193 , Gly 327 , His155, His156, Glu326, Pro29, Glu30, Gly285, Gly164, His329	Zn ²⁺ , His196, His155, Gly221, Gly327, Ser26 , Ser27, Gly197, Asp219, Ser94, Met163, Asp220, Leu323, Leu95

Keterangan: huruf cetak tebal = residu asam amino enzim yang membentuk ikatan hidrogen dengan ligan

Hasil interaksi simulasi dinamika molekul kedua ligan dengan HDAC 4 menghasilkan interaksi yang beragam. Namun demikian, kedua ligan tersebut masih berikatan dengan ion Zn²⁺ pada sisi katalitik enzim dari awal simulasi hingga akhir simulasi. Di akhir simulasi, ligan 2c memiliki kontak residu yang lebih banyak dibandingkan kontak residu yang dihasilkan SAHA. Hal tersebut dikarenakan modifikasi triazol pada rantai SAHA yang dapat memberikan kontak yang lebih luas pada enzim. Perbandingan interaksi antara SAHA dan 2c dapat dilihat pada **Lampiran 32** melalui visualisasi 2D.

4.8.2 Analisis Interaksi Ligan dengan HDAC 5

Hasil simulasi dinamika molekul menunjukkan perbedaan interaksi antara ligan standar SAHA dan ligan 2a dengan HDAC 5. Tabel 4.7 memperlihatkan data interaksi ligan selama simulasi.

Tabel 4.7 Kontak residu ligan-HDAC 5 selama simulasi dinamika molekul

Waktu	SAHA	2a
Setelah inisialisasi	Zn ²⁺ , Asn207 , Gly 312, Gly313, His180, Pro138	Zn ²⁺ , Gly 312 , Gly149, His180, Met143, Glu311,

		Asp178 , Phe208, Phe209, His140, Gly270, Phe160, Met148
<i>Heating</i> 10 piko detik	Zn ²⁺ , Asn207, Gly 312 , Gly313, His180, Pro138	Zn ²⁺ , Gly 312, Gly149, His180, Met143, Glu311, Asp178 , Phe150, Phe209, His140, His141, Gly270, Met148, Phe152, Leu281
5000 piko detik	Zn ²⁺ , Asn207, Gly 312 , Gly313, His180 , Pro138, Glu311 , Asp178 , His314, Leu281	Zn ²⁺ , Gly 312, Gly149, His141 , His180, Asp272, Phe208, Phe209, Asn207
<i>Cooling</i> 20 piko detik (akhir simulasi)	Zn ²⁺ , Asn207, Gly 312 , Gly313, His180 , Pro138, Glu311 , Asp178 , His314, Leu281, His140, His141, Gly270	Zn ²⁺ , Gly 312, Gly149, His141 , His180, Leu281, Phe208, Phe209, Asn207

Keterangan : huruf cetak tebal = residu asam amino enzim yang membentuk ikatan hidrogen dengan ligan

Hasil interaksi simulasi dinamika molekul kedua ligan dengan HDAC 5 menghasilkan interaksi yang beragam. Namun demikian, kedua ligan tersebut masih berikatan dengan ion Zn²⁺ pada sisi katalitik enzim dari awal simulasi hingga akhir simulasi. Di akhir simulasi, ligan 2a memiliki kontak residu yang lebih sedikit dibandingkan kontak residu yang dihasilkan SAHA. Meskipun demikian, interaksi simulasi dinamika molekul yang dihasilkan tetap dapat memperkuat hasil *docking* yang telah diperoleh. Perbandingan interaksi antara SAHA dan 2a dapat dilihat pada **Lampiran 33** melalui visualisasi 2D.

4.8.3 Analisis Interaksi Ligan dengan HDAC 6

Hasil simulasi dinamika molekul menunjukkan perbedaan interaksi antara ligan standar SAHA dan ligan 2c dengan HDAC 6. Tabel 4.8 memperlihatkan data interaksi ligan selama simulasi.

Tabel 4.8 Kontak residu ligan-HDAC 6 selama simulasi dinamika molekul

Waktu	SAHA	2c
Setelah inisialisasi	Zn ²⁺ , Tyr204 , His32, His, 33, His73, Phe42, Phe102, Cys43, Gly41, Gly 162, Gly203, Glu201	Zn ²⁺ , Tyr204 , His33 , His74 , Phe42, Phe102, Cys40, Gly41 , Ala39
<i>Heating</i> 10 piko detik	Zn ²⁺ , Tyr204 , His32, His33, His73, Phe42, Phe102, Cys43, Gly41 , Gly 162, Gly203, Glu201	Zn ²⁺ , Tyr204 , His33 , His74 , Phe42, Phe101, Cys40, Gly41 , Ala39, Phe44
5000 piko detik	Zn ²⁺ , Tyr204 , His33, Phe102, Cys40, Cys43, Gly41, Gly202, Gly203, Glu201	Zn ²⁺ , Tyr204, His33 , His74 , Phe42, Phe101, Cys40, Gly41, Leu171
<i>Cooling</i> 20 piko detik (akhir simulasi)	Zn ²⁺ , Tyr204 , His, 33, Phe42, Phe102, Cys40, Gly41, Gly202, Gly203, Glu201 , Leu171	Zn ²⁺ , Tyr204, His33 , His74 , Phe42, Phe101, Cys40, Gly41 , Cys43, Leu171, Phe44

Keterangan : huruf cetak tebal = residu asam amino enzim yang membentuk ikatan hidrogen dengan ligan

Hasil interaksi simulasi dinamika molekul kedua ligan dengan HDAC 6 menghasilkan interaksi yang beragam. Namun demikian, kedua ligan tersebut masih berikatan dengan ion Zn²⁺ pada sisi katalitik enzim dari awal simulasi hingga akhir simulasi. Di akhir simulasi, ligan 2c memiliki ikatan hidrogen yang lebih banyak dibandingkan yang dihasilkan SAHA. Oleh karena itu, hasil yang diperoleh 2c dapat menjadi acuan untuk pengembangan selanjutnya. Perbandingan interaksi antara SAHA dan 2c dapat dilihat pada **Lampiran 34** melalui visualisasi 2D.

4.8.5 Analisis Interaksi Ligan dengan HDAC 7

Hasil simulasi dinamika molekul menunjukkan perbedaan interaksi antara ligan standar SAHA dan ligan 2c dengan HDAC 6. Tabel 4.9 memperlihatkan data interaksi ligan selama simulasi.

Tabel 4.9 Kontak residu ligan-HDAC 7 selama simulasi dinamika molekul

Waktu	SAHA	2c
Setelah inisialisasi	Zn ²⁺ , His327 , Phe163, Phe221, Leu294, Asn114, Gly162	Zn ²⁺ , His193, Glu324, Asp328, Asp229, Ala227, Ala225, Val228, Val192, Gly226
<i>Heating</i> 10 piko detik	Zn ²⁺ , His327 , His154, Phe221, Leu294, Gly162, Pro293 , Pro151	Zn ²⁺ , His193, His194, Asp328, Asp229, Ala227, Ala233, Val228, Gly232
5000 piko detik	Zn ²⁺ , His327 , Phe163, Phe221, Leu294, Cys164, Gly162, Pro151	Zn ²⁺ , His193, Glu324 , Leu71, Leu323, Ala322, Gln199
<i>Cooling</i> 20 piko detik (akhir simulasi)	Zn ²⁺ , His327 , His25, Phe163, Phe221, Leu294, Cys164, Gly162, Pro151	Zn ²⁺ , His193, Glu324 , Leu71, Leu323, Ala322, Thr198, Tyr73, Val70

Keterangan : huruf cetak tebal = residu asam amino enzim yang membentuk ikatan hidrogen dengan ligan

Hasil interaksi simulasi dinamika molekul kedua ligan dengan HDAC 7 menghasilkan interaksi yang beragam. Namun demikian, kedua ligan tersebut masih berikatan dengan ion Zn²⁺ pada sisi katalitik enzim dari awal simulasi hingga akhir simulasi. Di akhir simulasi, ligan 2c memiliki ikatan hidrogen yang sama dengan hasil dari SAHA. Jumlah kontak residu yang terjadi antara kedua ligan pun hampir sama. Oleh karena itu, hasil yang diperoleh 2c dapat diperkirakan sama dengan standar, namun dapat memperkuat acuan terhadap hasil *docking*. Perbandingan interaksi antara SAHA dan 2c dapat dilihat pada **Lampiran 35** melalui visualisasi 2D.

4.8.6 Analisis Interaksi Ligan dengan HDAC 9

Hasil simulasi dinamika molekul menunjukkan perbedaan interaksi antara ligan standar SAHA dan ligan 1c dengan HDAC 9. Tabel 4.10 memperlihatkan data interaksi ligan selama simulasi.

Tabel 4.10 Kontak residu ligan-HDAC 9 selama simulasi dinamika molekul

Waktu	SAHA	1c
Setelah inisialisasi	Zn ²⁺ , His190, His150, Pro290 , Phe219, Leu246, Leu291, Asp188, Arg212	Zn ²⁺ , Glu321 , Glu215, Gly322 , Gly280, Gly159, His190, His150, His151, Phe219, Asp214
<i>Heating</i> 10 piko detik	Zn ²⁺ , His190, Pro290 , Pro289, Pro220, Phe219, Arg212, Leu291, Thr156, Ala279	Zn ²⁺ , Glu321 , Glu215, Gly322 , Gly280, Gly159, Cys161, Phe219, Asp214, Asp188
5000 piko detik	Zn ²⁺ , His190, His150 , Pro290 , Pro220, Phe219, Leu246, Leu291, Asp188, Arg212, Gly245, Tyr294	Zn ²⁺ , Glu321 , Glu215, Gly322, Gly280, Gly159, Cys161, Pro290, Asp214, Asp188 , Leu291
<i>Cooling</i> 20 piko detik (akhir simulasi)	Zn ²⁺ , His190, His150 , Pro290 , Pro220, Phe219, Leu246, Leu291, Asp188, Arg212, Gly245, His151	Zn ²⁺ , Glu321 , Glu215, Gly322, Gly280, Gly159, Cys161, Pro290, Asp188 , Leu291

Keterangan : huruf cetak tebal = residu asam amino enzim yang membentuk ikatan hidrogen dengan ligan

Hasil interaksi simulasi dinamika molekul kedua ligan dengan HDAC 9 menghasilkan interaksi yang beragam. Namun demikian, kedua ligan tersebut masih berikatan dengan ion Zn²⁺ pada sisi katalitik enzim dari awal simulasi hingga akhir simulasi. Di akhir simulasi, ligan 1c memiliki ikatan hidrogen yang sama dengan hasil dari SAHA. Jumlah kontak residu yang terjadi antara kedua ligan pun tidak berbeda secara signifikan. Oleh karena itu, hasil yang diperoleh 1c dapat diperkirakan sama dengan standar, namun dapat memperkuat acuan

terhadap hasil *docking*. Perbandingan interaksi antara SAHA dan 1c dapat dilihat pada **Lampiran 36** melalui visualisasi 2D.

4.8.6 Analisis Interaksi Ligan dengan HDAC 10

Hasil simulasi dinamika molekul menunjukkan perbedaan interaksi antara ligan standar SAHA dan ligan 1c dengan HDAC 10. Tabel 4.11 memperlihatkan data interaksi ligan selama simulasi.

Tabel 4.11 Kontak residu ligan-HDAC 10 selama simulasi dinamika molekul

Waktu	SAHA	1c
Setelah inisialisasi	Zn ²⁺ , His95, His96, His135, Glu263 , Phe105, Asn103 , Gly104, Leu291, Asp52	His95, His267, Trp164, Pro232, Ile229, Tyr266, Gly230
5000 piko detik	Zn ²⁺ , His95, His135, Glu263 , Pro93, Asn103 , Trp164	-

Keterangan : huruf cetak tebal = residu asam amino enzim yang membentuk ikatan hidrogen dengan ligan

Hasil interaksi simulasi dinamika molekul kedua ligan dengan HDAC 10 menghasilkan interaksi yang berbeda bila dibandingkan dengan kelima HDAC lainnya. Ligan standar SAHA tetap dapat berinteraksi membentuk ikatan dengan ion Zn²⁺ pada sisi katalitik enzim hingga akhir simulasi. Sedangkan ligan 1c tidak lagi memiliki interaksi dengan Zn²⁺ pada akhir tahap inisialisasi. Ligan 1c memiliki interaksi yang bagus dengan ion Zn²⁺ pada hasil *docking*, ternyata tidak dapat mempertahankan interaksinya dalam tahap inisialisasi. Dengan demikian, ligan 1c tidak lebih baik dibandingkan SAHA yang masih memiliki interaksi dengan sisi katalitik enzim. Interaksi 1c di dalam tahap inisialisasi kurang stabil dibandingkan dengan SAHA. Hal tersebut dapat dilihat pada **Lampiran 37** mengenai grafik kestabilan antara SAHA dan 1c.

4.9 Analisis Hasil *Docking* dan Simulasi Dinamika Molekul

Dari hasil penelitian ini diketahui bahwa terdapat perubahan interaksi hasil simulasi dinamika molekul bila dibandingkan dengan hasil *docking*. Pada hasil *docking*, semua ligan menghasilkan interaksi yang cukup kuat dengan ion Zn^{2+} yang membentuk kelat cincin segilima. Sedangkan hasil simulasi dinamika molekul interaksi yang terjadi antara ligan dengan ion Zn^{2+} hanya terbentuk satu ikatan dan tidak membentuk kelat segilima walaupun ada beberapa interaksi yang dapat memungkinkan untuk terbentuknya kelat. Hal tersebut disebabkan oleh metode yang digunakan berbeda antara AutoDock dengan MOE. Proses simulasi AutoDock menerapkan sistem semi-fleksibel, yaitu enzim bersifat *rigid* sedangkan ligan bersifat fleksibel sehingga dapat dengan mudah membentuk kelat. Sedangkan pada MOE, sistem yang diterapkan adalah sistem fleksibilitas tinggi, yaitu enzim dan ligan bersifat fleksibel serta keterlibatan pelarut dalam sistem tersebut. Sehingga ligan akan sulit membentuk kelat terhadap ion Zn^{2+} akibat fleksibilitas yang tinggi dari sistem tersebut. Hasil interaksi *docking* dan simulasi dinamika molekul dapat dilihat pada tabel 4.12.

Tabel 4.12 Perbandingan hasil interaksi *docking* dengan simulasi dinamika molekul

Kompleks	<i>Docking</i>	Setelah simulasi dinamika molekul
HDAC 4 - SAHA	Zn^{2+} , Asp287, His 155, His 195	Zn^{2+} , Asp 193, Gly 327 , His155, His156, Glu326, Pro29, Glu30, Gly285, Gly164, His329
HDAC 4 - 2c	Zn^{2+} , Asp193, His155	Zn^{2+} , His196, His155, Gly221, Gly327, Ser26 , Ser27, Gly197, Asp219, Ser94, Met163, Asp220, Leu323, Leu95
HDAC 5 - SAHA	Zn^{2+} , Asp 272, His 140, His 180	Zn^{2+} , Asn207, Gly 312 , Gly313, His180 , Pro138, Glu311, Asp178 , His314, Leu281, His140, His141, Gly270

HDAC 5 - 2a	Zn ²⁺ , Asp178, His 140, Gly 312	Zn ²⁺ , Gly 312, Gly149, His141 , His180, Leu281, Phe208, Phe209, Asn207
HDAC 6 - SAHA	Zn ²⁺ , His 32, His33, Tyr204	Zn ²⁺ , Tyr204 , His, 33, Phe42, Phe102, Cys40, Gly41, Gly202, Gly203, Glu201 , Leu171
HDAC 6 - 2c	Zn ²⁺ , Asp71, His32, His33, Tyr204	Zn ²⁺ , Tyr204, His33 , His74 , Phe42, Phe101, Cys40, Gly41 , Cys43, Leu171, Phe44
HDAC 7 - SAHA	Zn ²⁺ , Asp285, Thr 109, His 154, Gly 152	Zn ²⁺ , His327 , His25, Phe163, Phe221, Leu294, Cys164, Gly162, Pro151
HDAC 7 - 2c	Zn ²⁺ , Asp191, Glu115, His153, His154	Zn ²⁺ , His193, Glu324 , Leu71, Leu323, Ala322, Thr198, Tyr73, Val70
HDAC 9 - SAHA	Zn ²⁺ , Asp 282, His 150, His 151	Zn ²⁺ , His190, His150 , Pro290 , Pro220, Phe219, Leu246, Leu291, Asp188, Arg212, Gly245, His151
HDAC 9 - 1c	Zn ²⁺ , Asp 188, His 150, His 151, Pro 290	Zn ²⁺ , Glu321 , Glu215, Gly322, Gly280, Gly159, Cys161, Pro290, Asp188 , Leu291

Keterangan : huruf cetak tebal hitam = residu enzim yang berikatan hidrogen dengan ligan pada dinamik

Interaksi residu pada *docking* merupakan ikatan hidrogen.

Dari data tabel 4.12 terlihat bahwa interaksi hasil simulasi dinamika molekul memperkuat hasil yang telah diperoleh pada proses *docking* meskipun berbeda dalam penggunaan metode. Pada hasil analisis energi pada *docking* terlihat bahwa ligan hasil modifikasi memiliki energi bebas Gibbs yang lebih negatif dibandingkan dengan SAHA. Data energi bebas tersebut diperkuat dengan hasil kontak residu pada *docking* dan simulasi dinamika molekul. Oleh karena itu, ligan-ligan hasil modifikasi layak untuk dikembangkan sebagai obat.

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

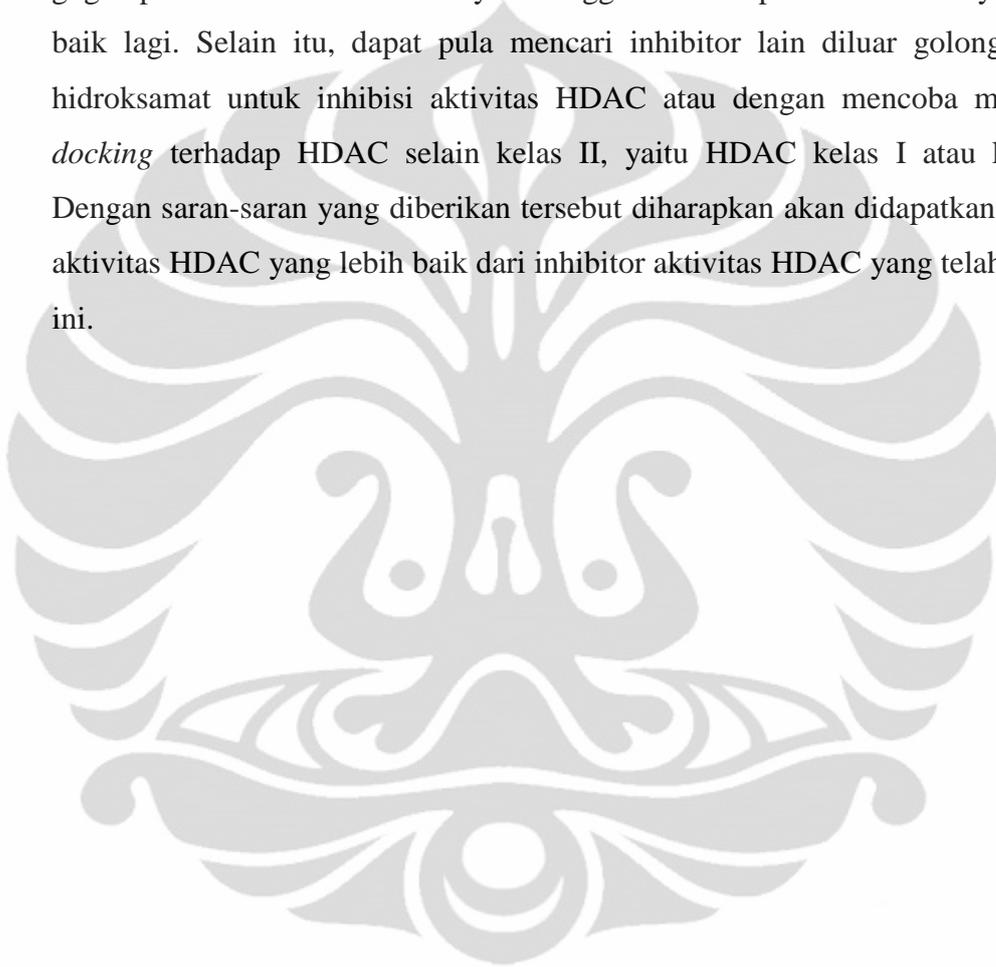
Dari penelitian ini, dapat ditarik beberapa kesimpulan. Pertama, hasil *docking* ligan standar SAHA dan ligan modifikasi terhadap HDAC kelas II *Homo sapiens* menunjukkan bahwa baik ligan standar SAHA maupun ligan modifikasi, keduanya masih mempunyai interaksi yang sama terhadap HDAC kelas II *Homo sapiens*, yaitu atom O pada gugus C=O dan -OH nya berikatan dengan ion Zn^{2+} sebagai sisi katalitik enzim. Hasil analisis energi bebas ikatan ($\Delta G_{binding}$) dan konstanta inhibisi (K_i) menunjukkan bahwa ligan hasil modifikasi tetap memiliki afinitas yang lebih baik dibandingkan SAHA.

Dilihat dari analisis hasil *dynamic*, semua ligan modifikasi memiliki interaksi yang bagus pada sisi aktif HDAC kecuali ligan 1c dengan HDAC 10 yang tidak lagi berikatan dengan ion Zn^{2+} sehingga tidak memenuhi persyaratan untuk dikembangkan lebih jauh. Hasil interaksi *dynamic* ligan modifikasi dan SAHA memiliki afinitas dan interaksi yang hampir sama. Meskipun demikian, ligan 2c, 2a, dan 1c tetap lebih baik dibandingkan dengan SAHA karena hasil *docking* dari ligan modifikasi tersebut lebih baik dibandingkan dengan SAHA. Hasil *dynamic* memperkuat hasil *docking* ligan-ligan tersebut.

Ligan yang dapat berpotensi dikembangkan sebagai obat berdasarkan hasil *docking* dan *dynamic* adalah ligan 2c. Ligan 2c dapat berinteraksi dengan lebih baik dibandingkan dengan SAHA pada tiga HDAC sekaligus, yaitu HDAC 4, 6, dan 7. Namun, tidak tertutup kemungkinan bagi ligan 2a dan 1c untuk dikembangkan sebagai obat dikarenakan sangat spesifik untuk satu HDAC.

5.2 Saran

Saran untuk penelitian selanjutnya yang terkait dengan penelitian ini adalah pengembangan lebih lanjut terhadap ligan hasil modifikasi, baik ligan 2c, 2a, maupun 1c untuk dikembangkan sebagai obat kanker serviks. Kemudian, dapat dilakukan modifikasi SAHA pada bagian yang lain, seperti pada bagian gugus polar atau rantai alifatiknya sehingga bisa didapatkan inhibitor yang lebih baik lagi. Selain itu, dapat pula mencari inhibitor lain diluar golongan asam hidroksamat untuk inhibisi aktivitas HDAC atau dengan mencoba melakukan *docking* terhadap HDAC selain kelas II, yaitu HDAC kelas I atau kelas III. Dengan saran-saran yang diberikan tersebut diharapkan akan didapatkan inhibitor aktivitas HDAC yang lebih baik dari inhibitor aktivitas HDAC yang telah ada saat ini.



DAFTAR PUSTAKA

- Alberts, Bruce. et al. (2002). *Molecular biology of the cell*. (4th ed.). New York: Garland Science.
- Alonso, H., Bliznyuk, A.A., Gready, J.E. (2006). *Combining docking and molecular dynamic simulations in drug design*. Wiley InterScience. doi: 10.1002/med.20067.
- Apriyanti, Nissia. (2010). Karya Sarjana Utama Kimia: *Simulasi dinamika molekul kompleks NS2B-NS3 protease virus dengue dengan inhibitor potensial peptida siklis disulfida*. Departemen Kimia FMIPA-UI.
- Baxevanis, Andreas D. et al. (2001). *Bioinformatics a practical guide to the analysis of genes and proteins*. New York: Wiley Interscience.
- Becker, Ommackerrel, A.D Roux B dan Watanabe M. (2001). *Computational biochemistry and biophysics*. New york: Marcel dekker, Inc.
- Beskow, Anna. (2003). *Genetic risk factors for cervical carcinoma in situ*. Disertasi. Uppsala: Uppsala University.
- Bhalla, K. (2005). Activity of the histone deacetylase inhibitors LBH589 and LAQ824 in hematologic malignancies. *Haematologica reports*, 1, 4, 84-88.
- Bian, Wahyu RW. 2009. Karya Sarjana Utama Kimia: *Studi pendahuluan perancangan inhibitor peptida potensial bagi RNA-dependent RNA polymerase pada virus dengue secara in silico*. Departemen Kimia FMIPA-UI.
- Bottomley, Matthew J. et.al. (2008). Structural and functional analysis of the human HDAC 4 catalytic domain reveals a regulatory structural zinc-binding domain. *Journal of BiologocalChemistry*, 283, 39, 26694-26704.
- Butler, Lisa M. et.al. (2002). The histone deacetylase inhibitor SAHA arrest cancer cell growth, up-regulates thioredoxin-binding protein-2, and down-regulates thioredoxin. *PNAS*, 99, 18, 11700-11705.
- Chakrabarty, Shubhashis et.al. (2010). Inhibitors of human histone deacetylase: synthesis and enzyme assay of hydroxamates with piperazine linker. *Arc. Pharm. Chem. Life Sci*, 343, 167-172.

- Chaturvedi, Anil dan Gillison, Maura L. (2010). Human papillomavirus and head and neck cancer. *Biomedical and Life Sciences*, 87-116.
- Cho, Young Shin et.al. (2010). Conformational refinement of hydroxamate-based histone deacetylase inhibitors and exploration of 3-piperidin-3-ylindole analogues of aacinostat (LAQ824). *Journal of Medicinal Chemistry*, 53, 7, 2952-2963.
- Copeland, Robert A. (2005). *Evaluation of enzyme inhibitors in drug discovery*. New Jersey: Wiley Interscience.
- De Ruijter, Annemieke J. M. et al. (2003). Histone deacetylases (HDACs): characterization of the classical HDAC family. *Journal of Biochemistry*, 370, 737-749.
- Difei Wang. (2009). Computational studies on the histone deacetylases and the design of selective histone deacetylase inhibitors. *Curr Top Medicinal Chemistry*, 9, 3, 241-256.
- Dokmanovic, Milos., Clarke, Cathy., dan Marks, Paul A. (2007). Histone deacetylase inhibitors: Overview and perspectives. *Mol Cancer*, 5, 10, 981-989.
- Dong Hoon Kim, Minjung Kim, dan Ho Jeong Kwon. (2003). Histone deacetylase in carcinogenesis and its inhibitors as anti-cancer agents. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 36, 1, 110-119.
- Duvic, M. et al. (2007). Histone deacetylase inhibitors: SAHA (Vorinostat). A treatment option for advanced cutaneous T-cell lymphoma. *Hematology Meeting Reports*, 2, 5, 39-43.
- Eldemiro Moman.(2007). *Introduction to molecular docking*. Pharmaceutical and Medicinal Chemistry, Saarland University.
- Elfaizi, M. Abdushshomad dan Aprijani, Dwi Astuti. (2004). *Bioinformatika: Perkembangan, Disiplin Ilmu, dan Penerapannya di Indonesia*.
- Finnin, M. S. et al. (1999). Structures of a histone deacetylase homologue bound to the TSA and SAHA inhibitors. *Nature*, 401, 188-193.
- Funkhouser, Thomas. 2007. *Lecture : Protein-ligand docking methods*. Princeton University.

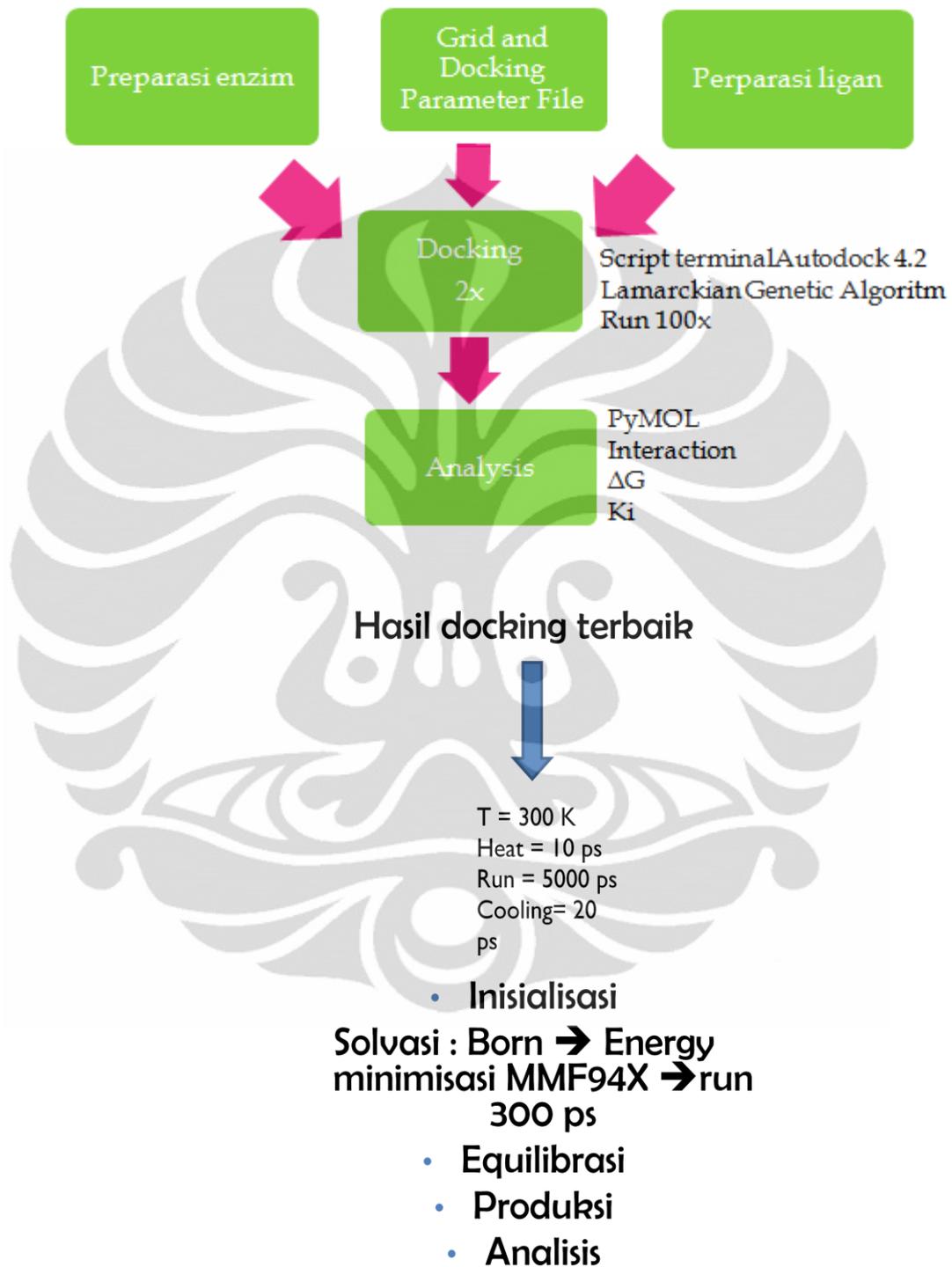
- Grozinger, Christina M. dan Schreiber, Stuart L. (2002). Deacetylase enzymes: Biological functions review and the use of small-molecule inhibitors. *Chemistry and Biology*, 9, 3-16.
- Gunawan (2009). Karya Sarjana Utama Kimia: *Studi terhadap modifikasi peptida siklis menggunakan prolin-prolin (peptide bonds) sebagai inhibitor potensial enzim NS3-NS2b protease virus dengue secara in silico*. Departemen Kimia FMIPA-UI.
- He, Rong. et al. (2010). Synthesis and biological evaluation of triazol-4-ylphenyl-bearing histone deacetylase inhibitors as anticancer agents. *Journal of Medicinal Chemistry* (53): 1347-1356.
- Hong Su., Altucci, Lucia., dan Qidong You. (2008). Competitive or noncompetitive, that's the question: research toward histone deacetylase inhibitors. *Mol Cancer Ther*, 7, 5, 1007-1012.
- Hudiyono, Sumi & Sri Handayani. (2006). *Biokimia*. Depok: Departemen Kimia FMIPA-UI.
- Irianiwati, et al. (2007). The correlation between HPV infection and p53, pRb, K1-67 as well as tunnel expression of cervical carcinoma. *Berkala Ilmu Kedokteran*, 39, 3, 115-121.
- Islam, Nurul M. et.al. (2009). Bicyclic peptides as potent inhibitors of histone deactylases: Optimization of alkyl loop length. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 20, 997-999.
- Janicek, Mike F. dan Averette, Hervy E. (2001). Cervical cancer: Prevention, diagnosis, and therapeutics. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 51, 92-114.
- Jiang Guosheng dan Bi Gaofeng. (2006). The molecular mechanism of HDAC inhibitors in anticancer effects. *Journal of Cellular and Molecular Immunology*, 3, 4, 285-290.
- Kalvatchev, Z. dan Rosl, F. (2007). Human papillomaviruses: Realities and perspectives. *Biotechnol and Biotechnol*, 21, 2, 137-143.
- Kitchen, Douglas. B, Hélène Decornez, John R.Furr, dan Jürgen Bajorath. (2004). *Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: Methods and application*. Nature Reviews | Drug Discovery. Volume 3.

- Krane, Dan E. dan Raymer, Michael L. (2003). *Fundamental concepts of bioinformatics*. London: Pearson Education.
- Kuroda, M et.al. (2005). The human papillomavirus E6 and E7 inducible oncogene, hWAPL, exhibits potential as a therapeutic target. *British Journal of Cancer*, 92, 290-293.
- Lehninger.(1982). Principles of biochemistry (4th ed.). New York : McGraw-Hill.
- Limans, Irwan K. 2010. Karya Sarjana Utama Kimia: *Simulasi dinamika molekul kompleks NS2B-NS3 protease DENV-2 dengan inhibitor potensial peptida siklis*. Departemen Kimia FMIPA-UI.
- Lina Pan, Jun Lu, dan Baiqu Huang. (2007). HDAC inhibitors: A potential new category of anti-tumor agents. *Cellular and Molecular Immunology*, 4, 5, 337-343.
- Lindemann, Ralph K. dan Johnstone, Ricky W. (2004). Histone deacetylase inhibitors: promising candidates for chemotherapeutic drugs. *Gene Therapy and Molecular Biology*, 8, 61-74.
- Munoz-Fontela, Cesar et al. (2007). Control of virus infection by tumour suppressors. *Carcinogenesis*, 28, 6, 1140-1144.
- Nakano, Takashi et al. (2010). Current advancement in radiation therapy for uterine cervical cancer. *J. Radiat. Res.*, 51, 1-8.
- Nindyapati, Bramantya. (2010). Karya Utama Sarjana Kimia: *Modifikasi suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA) sebagai inhibitor potensial histone deacetylase (HDAC) kelas II secara in silico*. Departemen Kimia FMIPA-UI.
- Nurbaiti, Santi.(2009). *Stabilitas termal dan pergerakan dinamis klenow-like DNA polimerase I ITB-1 berdasarkan simulasi dinamika molekul*. Disertasi Program Studi Kimia-Institut Teknologi Bandung.
- Ortore, Gabriella., Di Colo, Francesco., dan Martinelli, Adriano. (2009). Docking of hydroxamic acids into HDAC1 and HDAC8: A rationalization of activity trends and selectivities. *Journal of Chemistry Informatics Modeling*, 49,12, 2774-2785.

- Pirali, Tracey et al. (2008). Triazole-modified histone deacetylase inhibitors as a rapid route to drug discovery. *Journal of Combinatorial Chemistry*, 10, 5, 624-627.
- Roffey, John. (1997). Bioisosteres in medicinal chemistry. *Maybridge MedChem*, 1, 23-44.
- Salisbury, Cleo M. dan Cravatt, Benjamin F. (2008). Optimization of activity-based probes for proteomic profiling of histone deacetylase complexes. *Journal of American Chemical Society*, 130, 2184-2194.
- Samira.(2009). Karya Sarjana Utama Kimia: *Perancangan peptida siklis sebagai inhibitor potensial untuk enzim NS3-NS2B protease virus dengue secara in silico melalui molecular docking*. Departemen Kimia FMIPA-UI.
- Sanchez, Francisco Jose Corcho. 2004. *Computational studies on the structure and dynamics of bioactive peptides*. Disertasi. Universitas Politecnica de Catalunya.
- Shattuck, Thomas W. (2009). *Colby college molecular mechanics exercises MOE tutorial*. Maine: Colby College.
- Singh, Mayank dan Singh, Neeta. (2008). Induction of apoptosis by hydrogen peroxide in HPV 16 positive human cervical cancer cells: involvement of mitochondrial pathway. *Mol Cell Biochemistry*, 310, 57-65.
- Singh, Shaliza et al. (2006). *Molecular drug targets and structure based drug design: A holistic Approach*. Biomedical Informatics Publishing Group.
- Sofyan, Ade. (2007). *Simulasi bulk polyethylene-oxide menggunakan simulasi dinamika molekul*. Program Studi Teknik Fisika, Fakultas Teknologi Industri-Institut Teknologi Bandung.
- Stamatopoulos, Basile et.al. (2010). The histone deacetylase inhibitor suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA) induces apoptosis, down regulates the CXCR4 chemokine receptor and impairs migration of chronic lymphocytic leukemia cells. *Haematologica*, 96.
- Subha, Kalyanamoorthy dan Kumar, Gopal Ramesh. (2008). Assessment for the identification of better HDAC inhibitor class through binding energy calculations and descriptor analysis. *Bioinformation*, 3(5): 218-222.

- Suzuki, Takayoshi et.al. (2004). Novel inhibitors of human histone deacetylases: Design, synthesis, enzyme Inhibition, and cancer cell growth inhibition of SAHA-based non-hydroxamates. *Journal of Medicinal Chemistry*, 48, 4, 1019-1032.
- Tambunan, Usman Sumo Friend dan Wulandari, Evi Kristin. (2010). Identification of a better *Homo sapiens* Class II HDAC inhibitor through binding energy calculation and descriptor analysis. *BMC Bioinformatics*, 11, 7-16.
- Tannock, Ian F. dan Hill, Richard P. (1998). *The basic science of oncology* (3rd ed.). Singapura: McGraw-Hill.
- Teodoro, Miguel L., Phillips, G.N. & Kavraki, L.E. (2001). *Molecular docking: A problem with thousands of degrees of freedom*. IEEE International Conference on Robotics and Automation.
- Vilar-Garea, Ana dan Esteller, Manel. (2004). Histone deacetylase inhibitors: understanding a new wave of anticancer agents. *International Journal of Cancer*, 112, 171-178.
- WHO. (2010). *Cervical cancer summary report*. World Health Organization.
- Xiang-Jiao Yang dan Gregoire, Serge. (2005). Class II histone deacetylases: From sequence to function, regulation, and clinical implication. *Molecular and Cellular Biology*, 25, 8, 2873-2884.
- Yue, Chan Pek. (2008). *Cytotoxic, antioxidative and anti-human papillomavirus (HPV) activities of selected Allium spp.* Disertasi. Kuala Lumpur: Institute of Biological Sciences, Faculty of Science, University of Malaya.

Lampiran 1. Bagan kerja penelitian



Lampiran 2. Urutan Sekuen HDAC 4

histone deacetylase 4 [Homo sapiens]

NCBI Reference Sequence: NP_006028.2

[GenPept](#) [Graphics](#)

```
>gi|153085395|ref|NP_006028.2| histone deacetylase 4 [Homo sapiens]
MSSQSHPDGLSGRDQPVLELLNPARVNHMPSTVDVATALPLQVAPSAVPMDLRLDHQFSLPVAEPALREQQ
LQQELLALKQKQQIQRQILIAEFQRQHEQLSRQHEAQLHEHIKQQQEMLAMKHQQELLEHQKLERHRQE
QELEKQHREQKLQQLKNKEKGKESAVASTEVMKMLQEFVLNKKKALAHRNLNHCISSDPRYWYGKTQHSS
LDQSSPPQSGVSTSYNHPVLGMYDAKDDFPLRKTASEPNLKLRSRLKQKVAERRSSPLLRRKDGPPVTAL
KKRPLDVTDSACSSAPGSGPSSPNNSSGVSVAENGIAPAVPSIPAETSLAHLRVAREGSAAPLPLYTSPS
LPNITLGLPATGPSAGTAGQQDAERLTLPALQQRLSLFPGTHLTPYLSTSPLERDGGAAHSPLLQHMVLL
EQPPAQAPLVTGLGALPLHAQSLVGADRVSPSIHKLQRHPLGRTQSAPLPQNAQALQHLVIQQQHQQFL
EKHKQQFQQQLQMNKIIPKPSEPARQPEESHPEETEEELREHQALLDEPYLDRLPGQKEAHAQAGVQVKQ
EPIESDEEEAEPPREVEPGQRQSEQELLFRQQALLLEQQRIHQLRNYQASMEAAGIPVSFGGHRPLSRA
QSSPASATFPVSVQEPPTKPRFTTGLVYDTLMLKHQCTCGSSSSHPHAGRIQSIWSRLQETGLRGKCEC
IRGRKATLEELQTVHSEAHTLLYGTNPLNRQKLDKLLGSLASVVFVRLPCGGVGVSDTIWNEVHSAGA
ARLAVGCVVELVFKVATGELKNGFAVVRPPGHHAEESTPMGFCYFNSVAVAAKLLQQRLSVSKILIVDWD
VHHNGTQQAFYSDPVLYMSLHRYDDGNFFPGSGAPDEVGTGPGVGFNVNMAFTGGLDPPMGDAEYLAA
FRIVVMPIASEFAPDVVLVSSGFDAVEGHPTPLGGYNLSARCFGYLTQQLMGLAGGRIVLALEGGHDLTA
ICDASEACVSALLGNELDPLPEKVLQQRPNANAVRSMKVMIEHISKYWRCLQRTTSTAGRSLIEAQTEN
EEAETVTAMASLSVGVKPAEKRPDEEPMEEEPPL
```

Lampiran 3. Urutan Sekuen HDAC 5

histone deacetylase 5 isoform 1 [Homo sapiens]

NCBI Reference Sequence: NP_005465.2

[GenPept](#) [Graphics](#)

```
>gi|62750347|ref|NP_005465.2| histone deacetylase 5 isoform 1 [Homo sapiens]
MNSPNESDGMMSGREPSLEILPRTSLHSIPVTVEVKPVLPRAMPSSMGGGGGSPSPVELRGALVGSVDPT
LREQQQQELLALKQQQLQKQLLFAEFQKQHDHLTRQHEVQLQKHLKQQQEMLAQQQEMLAQRQQE
LEQQRQREQQRQEELEKQRLEQQLLILRNKEKSKEASIASTEVKLRQLQEFLLSKSKEPTPGGLNHSLPQH
PKCWGAHHASLDQSSPPQSGPPGTPPSYKLLPLPGPYDSRDDFPLRKTASEPNLKVRSRLKQKVAERRSSP
LLRRKDGTVISTFKKRAVEITGAGPGASSVCNSAPGSGPSSPNSSHSTIAENGFTGSPVNIPTEMPLPQHR
ALPLDSSPNQFSLYTSPLPNISLGLQATVTVTNSHLTASPCLSTQQEAERQALQSLRQGGTLTGKFMST
SSIPGCLLGVALEGDGSPHGHASLLQHVLLEQARQQSTLIAPLHGQSPVLTGERVATSMRTVGKLPKH
RPLSRTQSSPLPQSPQALQQLVMQQHQQFLEKQKQQQLQLGKILTKTGELPRQPTTHPEETEEELTEQQ
EVLGEGALTMPREGSTESESTQEDLEEEDEEDDGEEDDCIQVKDEEGESGAEEGPDLEEPGAGYKKLF
SDAQPLQPLQVYQAPLSLATVPHQALGRQSSPAAPGGMKSPDQPVKHLFTTGVVYDTFMLKHQCMCGN
THVHPEHAGRIQSIWSRLQETGLLSKRCERIRGRKATLDEIQTVHSEYHTLLYGTSPLNRRQLDSSKLLGP
ISQKMYAVLPCGGIGVDSDTVWNEMHSSSAVRMAVGCLLELAFKVAAGELKNGFAITRPPGHAAESTAM
GFCFFNSVAITAKLLQQKLNVGKVLIVDWDIHHGNGTQQAFYNDPSVLYISLHRYDNGNFFPGSGAPEEV
GGGPGVGVNVNVAWTGGVDPPIGDVEYLTAFRVVMPIAHEFSPDVLVLSAGFDAVEGHLSPGGYSVTA
RCFGHLTRQLMTLAGGRVVLALLEGHDLTAICDASEACVSALLSVELQPLDEAVLQQKPNINAVATLEKV
IEIQSKHWSVCVQKFAAGLGRSLREAQAGETEEAETVSAMALLSVGAEQAQAAAAAREHSRPAEEPMEQEP
AL
```



Lampiran 4. Urutan Sekuen HDAC 6

histone deacetylase 6 [Homo sapiens]

NCBI Reference Sequence: NP_006035.2

[GenPept](#) [Graphics](#)

```
>gi|13128864|ref|NP_006035.2| histone deacetylase 6 [Homo sapiens]
MTSTGQDSTTTTRQRRSRQNFQSPQDSSVTSKRNIKKGAVPRSIPNLAEVKKKGKMKKLGQAMEEDLIVG
LQGMDLNLEAEALAGTGLVLDEQLNEFHCLWDDSFPEGPERLHAIKEQLIQEGLLDRCVSVFQARFAEKEE
LMLVHSLEYIDLMTETTQYMNEGELRVLADTYDSVYLHPNSYSCACLASGSVLRVLDVAVLGAEIRNGMAII
RPPGHHAQHSLMDGYCMFNHVAVAAARYAQKXHRIRRVLIWDVHGGQGTQFTFDQDPSVLYFSIHRYEQ
GRFWPHLKASNWSTTGFGQGGYTIINVPWNQVGMRDADYIAAFLHVLLPVALEFQQQLVVAAGFDALQG
DPKGEMAATPAGFAQLTHLLMGLAGGKLILSLEGGYNLRALAEVGSASLHTLLGDPCPMLESPGAPCRSA
QASVSCALEALEPFWEVLRSTETVERDNMEEDNVEESEEEGPEPPVLPILTWPVLQSRITGLVYDQNM
NHCNLWDSHHPEVPQRILRIMCRLEELGLAGRCLTLTPRPATEAELLTCHSAEYVGHRLRATEKMKTRELH
RESSNFDSIYICPSTFACAQLATGAACRLVEAVLSGEVNLGAAVVRPPGHAEQDAACGFCFFNSVAVAA
RHAQTISGHALRILIVDWDVHNGTQHMFEEDPSVLYVSLHRYDHGTTTTFPMGDEGASSQIGRAAGTGFT
VNVAVNGPRMGDADYLAAWHRLVLPPIAYEFNPELVLSAGFDAARGDPLGGCQVSPGYAHLTHLLMGLA
SGRIILILEGGYNLTSISESMAACTRSLGDPPLTLPRPPLSGALASITETIQVHRRYWRSLRVMKVE
DREGPSSKLVTKKAPQPAKPRLAERMTTREKKVLEAGMGKVTSAFGEESTPGQINSETAVVALTQDQP
SEATGGATLAQTTISEAAIGGAMLGQTTSEEAVGGATPDQTTSEETVGGAILDQTTSEDAVGGATLGQTT
SEEAVGGATLAQTTSEAAAMEGATLDQTTSEEAPGGTELIQTPLASSTDHQTPTPTSPVQGTTPQISPTLI
GSLRLELGSESQGASESQAPGEENLLGEAAGQDMADSMMLQGSRLTDQAIIFYAVTFLPWCPLVAVC
PIPAAGLDVTQPCGDCGTIQENWVCLSCYQVYCGRYINGHMLQHHGNSGHPLVLSYIDLAWCYQCAYV
HHQALLDVKNIAHQNKFGEDMPPH
```

Lampiran 5. Urutan Sekuen HDAC 7

histone deacetylase 7 isoform a [Homo sapiens]

NCBI Reference Sequence: NP_056216.2

[GenPept](#) [Graphics](#)

```
>gi|169234807|ref|NP_056216.2| histone deacetylase 7 isoform a [Homo sapiens]
MHSFGADGTQVSPGAHYCSPTGAGCPRPCADTPGGPQPMDLRVGRFPFVEPPPEPTLLALQRPQRLHHH
LFLAGLQQQSVPEPMLRSMPTPMPPELQVGFQEQELRQLLHKDKSKRSVAVASSVVKQLAEVILKKQQAAL
ERTVHPNSPGIPYRTLEPLETEGATRSMSSFLPPVPSLPSDPEHFPLRKTVSEPNLKLRYKPKKSLER
RKNPLLRKEASPPSLRRRPAETLGDSSPSSSSTPASGCSSPNDSEHGPNPILGSEALLGQRLRLQETSVA
PFALPTVSLLPAILLGLPAPARADSDRRTHPTLGRGPIILGSPHTPLFLPHGLEPEAGGTLPSRLQPILL
LDPSGSHAPLLTVPGLGPLPFHFAQSLMTTERLSGSGLHWPLSRTRSEPLPPSATAPPPPGPMQPRLEQL
KTHVQVIKRSAPKPEKPRLRQIPSAEDLETGGGGPGQVVDGLEHRELGHGQPEARGPAPLQQHPQVLLW
EQQRLAGRLPRGSTGDTVLLPLAQGGHRPLSRAQSSPAAPASLSAPEPASQARVLSSESPTPARTLPFTTG
LIYDSVMLKHQCSCGNSRHPHAGRIQSIWSRLQERGLRSQCECLRGRKASLEELQSVHSERHVLLYGT
NPLSRLKLDNGKLAGLLAQRMFVMLPCGGVGVDTDTIWNELHSSNAARWAAGSVTDLAFKVASRELKNGF
AVVRPPGHHADHSTAMGFCCFNVAIACRQLQQQSKASKILIVDWDVHHGNGTQQTFFYQDPVSVLYISLHR
HDDGNFFPGSGAVDEVGAGSGEGFNVAWAGGLDPPMGDPEYLAAFRIVVMPIAREFSDDLVLVVSAGFD
AAEGHPAPLGGYHVSACFGYMTQQLMNLAGGAVVLALEGGHDLTAICDASEACVAALLGNRVDPLSEEG
WKQKPNLNAIRSLAIVRVHSHYWGCMQRLASCPSWVPRVPGADKEEVEAVTALASLSVGILAE DRPSE
QLVEEEEPMNL
```



Lampiran 6. Urutan Sekuen HDAC 9

histone deacetylase 9 isoform 4 [Homo sapiens]

NCBI Reference Sequence: NP_848510.1

[GenPept](#) [Graphics](#)

```
>gi|30795202|ref|NP_848510.1| histone deacetylase 9 isoform 4 [Homo sapiens]
MHSMISSVDVKSEVPVGLPEISPLDLRTDLRMMMPVVDPVVREKQLQQEILLIQQQQQIQKQLLIAEFQK
QHENLTRQHQAQLQEHKELLAIKQQQELLEKEQKLEQQRQEQEVERHRREQQLPPLRGKDRGRERAVAS
TEVKQKLQEFLLSKSATKDTPTNGKNHSVSRHPKLYWYTAHHTSLDQSSPPLSGTSPSYKYTLPGAQDAK
DDFPLRKTASEPNLKVRSRLKQKVAERRSSPLLRRKDGNNVTSFKKRMFEVTESSVSSSSPGSGPSSPNN
GPTGSVTENETSVLPPTPHAEQMVVSQQRILIHEDSMNLLSLYTSPLPNITLGLPAVPSQLNASNSLKEK
QKCEQTTLRQGVPLPGYGGSI PASSSSHVTLLEGKPPNSSHQALLQHLLLKEQMRQQKLLVAGGVPLHP
QSPLATKERISPGIRGTHKLP RHRPLNRTQSAPLPQSTLAQLVIQQQHQQFLEKQKQYQQQIHMNKLLSK
SIEQLKQPGSHLEEAEEELQGDQAMQEDRAPSSGNSTRSDSSACVDDTLGQVGVAVKVEEPVDSDEDAQI
QEMESGEQAAMQPPLEPTHTRALSVRQAPLAAVGMDGLEKHRLVSRTHSSPAASVLPHPAMDRPLQPG
SATGIAAYDPLMLKHQCVCGNSTHPEHAGRIQSIWSRLQETGLLNKCEIRIQGRKASLEEIQLVHSEHSL
LYGTNPLDGGKLDPRILLGDDSQKFFSSLPCGGLGVDSDTIWNLHSSGAARMAVGCVIELASKVASGEL
KNGFAVVRPPGHHAEEESTAMGFCFFNSVAITAKYLRDQLNISKILIVDLVHHGNGTQQAFYADPSILYI
SLHRYDEGNFFPGSGAPNEVGTGLGEGYNINIAWTGGLDPPMGDVEYLEAFRTIVKPVAKEFDPDMVLVS
AGFDALEGHTPPLGGYKVTAKCFGHLTKQLMTLADGRVVLALLEGHDLTAICDASEACVNALLGNELEPL
AEDILHQSPMNAVISLQKIIIEIQSKYWKSVRMVAVPRGCALAGAQLQEETETVVSALASLTVDVEQPFAQ
EDSRTAGEPMEEEPAL
```



Lampiran 7. Urutan Sekuen HDAC 10

histone deacetylase 10 isoform 1 [Homo sapiens]

NCBI Reference Sequence: NP_114408.3

[GenPept](#) [Graphics](#)

```
>gi|20070354|ref|NP_114408.3| histone deacetylase 10 isoform 1 [Homo sapiens]
MGTALVYHEDMTATRLWDDPECEIERPERLTAALDRLRQRGLEQRCLRSAREASEEEELGLVHSPEYVS
LVRETQVLGKEELQALSGQFDIYFHPSTFHCARLAAGAGLQLVDAVLTGAVQNGLALVRPPGHHGQRAA
ANGFCVFNVAIAAAHAKQKHGLHRILVVDWVHGGQGIQYLFEDDPSVLYFSWHRYEHRFWPFLRESD
ADAVGRGQGLGFTVNLFWNQVGMGNADYVAAFLHLLPLAFEFDPPELVLSAGFDSAIGDPEGQMQATPE
CFAHLTQLLQVLAGGRVCAVLEGGYHLESIAESVCMTVQTLGDPAPPPLSGPMAPCQSALESIQSARAAQ
APHWKSLLQQDVTAVPMSFSSHSEGRPPPLLPGGPVCKAAAASAPSSLLDQCLCPAPSVRTAVALTTPD
ITLVLPDVIQQEASALREETEAWARPHESLAREEALTALGKLLYLLDGMLDGQVNSGIAATPASAAAAT
LDVAVRRGLSHGAQRLLCVALGQLDRPPDLAHDGRSLWLNIRGKEAAAALSMFHVSTPLPVMTEGGFLSCIL
GLVLPPLAYGFQPDVLVVALGPGHGLQGPHAALLAAMLRLAGGRVLALEENSTPQLAGILARVLNGEAP
PSLGGPSSVASPEDVQALMYLRGQLEPQWKMLQCHPHLVA
```



Lampiran 8. Model terbaik hasil *docking* HDAC 4 - 2c

17

Run = 17

DPF = hdac4_2c.dpf

Estimated Free Energy of Binding = -9.26 kcal/mol [= (1)+(2)+(3)-(4)]
Estimated Inhibition Constant, Ki = 164.22 nM (nanomolar) [Temperature = 298.15 K]

(1) Final Intermolecular Energy = -12.54 kcal/mol
vdW + Hbond + desolv Energy = -10.96 kcal/mol
Electrostatic Energy = -1.57 kcal/mol
(2) Final Total Internal Energy = -0.62 kcal/mol
(3) Torsional Free Energy = +3.28 kcal/mol
(4) Unbound System's Energy [= (2)] = -0.62 kcal/mol

29

Run = 29

DPF = hdac4_2c.dpf

Estimated Free Energy of Binding = -8.82 kcal/mol [= (1)+(2)+(3)-(4)]
Estimated Inhibition Constant, Ki = 344.89 nM (nanomolar) [Temperature = 298.15 K]

(1) Final Intermolecular Energy = -12.10 kcal/mol
vdW + Hbond + desolv Energy = -10.57 kcal/mol
Electrostatic Energy = -1.53 kcal/mol
(2) Final Total Internal Energy = -0.48 kcal/mol
(3) Torsional Free Energy = +3.28 kcal/mol
(4) Unbound System's Energy [= (2)] = -0.48 kcal/mol

Lampiran 9. Model terbaik hasil *docking* HDAC 4 - SAHA

59

Run = 59

DPF = hdac4_SAHA.dpf

Estimated Free Energy of Binding = -5.44 kcal/mol [(1)+(2)+(3)-(4)]
Estimated Inhibition Constant, Ki = 102.07 uM (micromolar) [Temperature = 298.15 K]

(1) Final Intermolecular Energy = -8.13 kcal/mol
vdW + Hbond + desolv Energy = -7.21 kcal/mol
Electrostatic Energy = -0.92 kcal/mol
(2) Final Total Internal Energy = -0.37 kcal/mol
(3) Torsional Free Energy = +2.68 kcal/mol
(4) Unbound System's Energy [(2)] = -0.37 kcal/mol

64

Run = 64

DPF = hdac4_SAHA.dpf

Estimated Free Energy of Binding = -7.04 kcal/mol [(1)+(2)+(3)-(4)]
Estimated Inhibition Constant, Ki = 6.89 uM (micromolar) [Temperature = 298.15 K]

(1) Final Intermolecular Energy = -9.73 kcal/mol
vdW + Hbond + desolv Energy = -7.60 kcal/mol
Electrostatic Energy = -2.12 kcal/mol
(2) Final Total Internal Energy = -0.01 kcal/mol
(3) Torsional Free Energy = +2.68 kcal/mol
(4) Unbound System's Energy [(2)] = -0.01 kcal/mol

Lampiran 10. Model terbaik hasil *docking* HDAC 5 - 2a

14

Run = 14

DPF = hdac5_2a.dpf

Estimated Free Energy of Binding = -8.55 kcal/mol [(1)+(2)+(3)-(4)]
Estimated Inhibition Constant, Ki = 536.56 nM (nanomolar) [Temperature = 298.15 K]

(1) Final Intermolecular Energy = -11.84 kcal/mol
vdW + Hbond + desolv Energy = -10.55 kcal/mol
Electrostatic Energy = -1.29 kcal/mol
(2) Final Total Internal Energy = -0.54 kcal/mol
(3) Torsional Free Energy = +3.28 kcal/mol
(4) Unbound System's Energy [(2)] = -0.54 kcal/mol

93

Run = 93

DPF = hdac5_2a.dpf

Estimated Free Energy of Binding = -8.36 kcal/mol [(1)+(2)+(3)-(4)]
Estimated Inhibition Constant, Ki = 744.12 nM (nanomolar) [Temperature = 298.15 K]

(1) Final Intermolecular Energy = -11.64 kcal/mol
vdW + Hbond + desolv Energy = -10.69 kcal/mol
Electrostatic Energy = -0.95 kcal/mol
(2) Final Total Internal Energy = -0.24 kcal/mol
(3) Torsional Free Energy = +3.28 kcal/mol
(4) Unbound System's Energy [(2)] = -0.24 kcal/mol

Lampiran 11. Model terbaik hasil *docking* HDAC 5 – SAHA

79

Run = 79

DPF = hdac5_SAHA.dpf

Estimated Free Energy of Binding = -6.91 kcal/mol [(1)+(2)+(3)-(4)]
Estimated Inhibition Constant, Ki = 8.63 uM (micromolar) [Temperature = 298.15 K]

(1) Final Intermolecular Energy = -9.59 kcal/mol
vdW + Hbond + desolv Energy = -7.71 kcal/mol
Electrostatic Energy = -1.88 kcal/mol
(2) Final Total Internal Energy = -0.20 kcal/mol
(3) Torsional Free Energy = +2.68 kcal/mol
(4) Unbound System's Energy [(2)] = -0.20 kcal/mol

99

Run = 99

DPF = hdac5_SAHA.dpf

Estimated Free Energy of Binding = -6.55 kcal/mol [(1)+(2)+(3)-(4)]
Estimated Inhibition Constant, Ki = 15.88 uM (micromolar) [Temperature = 298.15 K]

(1) Final Intermolecular Energy = -9.23 kcal/mol
vdW + Hbond + desolv Energy = -7.39 kcal/mol
Electrostatic Energy = -1.84 kcal/mol
(2) Final Total Internal Energy = -0.38 kcal/mol
(3) Torsional Free Energy = +2.68 kcal/mol
(4) Unbound System's Energy [(2)] = -0.38 kcal/mol

Lampiran 12. Model terbaik hasil *docking* HDAC 6 - 2c

62
Run = 62
DPF = hdac6_2c.dpf

Estimated Free Energy of Binding = -8.38 kcal/mol [(1)+(2)+(3)-(4)]
Estimated Inhibition Constant, Ki = 716.78 nM (nanomolar) [Temperature = 298.15 K]

(1) Final Intermolecular Energy = -11.66 kcal/mol
vdW + Hbond + desolv Energy = -10.49 kcal/mol
Electrostatic Energy = -1.17 kcal/mol
(2) Final Total Internal Energy = +0.27 kcal/mol
(3) Torsional Free Energy = +3.28 kcal/mol
(4) Unbound System's Energy [(2)] = +0.27 kcal/mol

73
Run = 73
DPF = hdac6_2c.dpf

Estimated Free Energy of Binding = -8.16 kcal/mol [(1)+(2)+(3)-(4)]
Estimated Inhibition Constant, Ki = 1.04 uM (micromolar) [Temperature = 298.15 K]

(1) Final Intermolecular Energy = -11.44 kcal/mol
vdW + Hbond + desolv Energy = -9.62 kcal/mol
Electrostatic Energy = -1.82 kcal/mol
(2) Final Total Internal Energy = -0.76 kcal/mol
(3) Torsional Free Energy = +3.28 kcal/mol
(4) Unbound System's Energy [(2)] = -0.76 kcal/mol

Lampiran 13. Model terbaik hasil *docking* HDAC 6 – SAHA

30

Run = 30

DPF = hdac6_SAHA.dpf

Estimated Free Energy of Binding = -6.92 kcal/mol [(1)+(2)+(3)-(4)]
Estimated Inhibition Constant, Ki = 8.53 uM (micromolar) [Temperature = 298.15 K]

(1) Final Intermolecular Energy = -9.60 kcal/mol
vdW + Hbond + desolv Energy = -7.21 kcal/mol
Electrostatic Energy = -2.39 kcal/mol
(2) Final Total Internal Energy = -0.35 kcal/mol
(3) Torsional Free Energy = +2.68 kcal/mol
(4) Unbound System's Energy [(2)] = -0.35 kcal/mol

79

Run = 79

DPF = hdac6_SAHA.dpf

Estimated Free Energy of Binding = -7.08 kcal/mol [(1)+(2)+(3)-(4)]
Estimated Inhibition Constant, Ki = 6.46 uM (micromolar) [Temperature = 298.15 K]

(1) Final Intermolecular Energy = -9.77 kcal/mol
vdW + Hbond + desolv Energy = -7.60 kcal/mol
Electrostatic Energy = -2.17 kcal/mol
(2) Final Total Internal Energy = -0.22 kcal/mol
(3) Torsional Free Energy = +2.68 kcal/mol
(4) Unbound System's Energy [(2)] = -0.22 kcal/mol

Lampiran 14. Model terbaik hasil *docking* HDAC 7 - 2c

89

Run = 89

DPF = hdac7_2c.dpf

Estimated Free Energy of Binding = -9.49 kcal/mol [(1)+(2)+(3)-(4)]
Estimated Inhibition Constant, Ki = 109.81 nM (nanomolar) [Temperature = 298.15 K]

(1) Final Intermolecular Energy = -12.78 kcal/mol
vdW + Hbond + desolv Energy = -11.42 kcal/mol
Electrostatic Energy = -1.36 kcal/mol
(2) Final Total Internal Energy = -0.23 kcal/mol
(3) Torsional Free Energy = +3.28 kcal/mol
(4) Unbound System's Energy [(2)] = -0.23 kcal/mol

69

Run = 69

DPF = hdac7_2c.dpf

Estimated Free Energy of Binding = -6.88 kcal/mol [(1)+(2)+(3)-(4)]
Estimated Inhibition Constant, Ki = 9.00 uM (micromolar) [Temperature = 298.15 K]

(1) Final Intermolecular Energy = -10.17 kcal/mol
vdW + Hbond + desolv Energy = -10.31 kcal/mol
Electrostatic Energy = +0.15 kcal/mol
(2) Final Total Internal Energy = -0.77 kcal/mol
(3) Torsional Free Energy = +3.28 kcal/mol
(4) Unbound System's Energy [(2)] = -0.77 kcal/mol

Lampiran 15. Model terbaik hasil *docking* HDAC 7 – SAHA

84

Run = 84

DPF = hdac7_SAHA.dpf

Estimated Free Energy of Binding = -7.16 kcal/mol [(1)+(2)+(3)-(4)]
Estimated Inhibition Constant, Ki = 5.69 uM (micromolar) [Temperature = 298.15 K]

(1) Final Intermolecular Energy = -9.84 kcal/mol
vdW + Hbond + desolv Energy = -8.90 kcal/mol
Electrostatic Energy = -0.94 kcal/mol
(2) Final Total Internal Energy = -0.35 kcal/mol
(3) Torsional Free Energy = +2.68 kcal/mol
(4) Unbound System's Energy [(2)] = -0.35 kcal/mol

86

Run = 86

DPF = hdac7_SAHA.dpf

Estimated Free Energy of Binding = -6.78 kcal/mol [(1)+(2)+(3)-(4)]
Estimated Inhibition Constant, Ki = 10.74 uM (micromolar) [Temperature = 298.15 K]

(1) Final Intermolecular Energy = -9.46 kcal/mol
vdW + Hbond + desolv Energy = -7.92 kcal/mol
Electrostatic Energy = -1.54 kcal/mol
(2) Final Total Internal Energy = -0.21 kcal/mol
(3) Torsional Free Energy = +2.68 kcal/mol
(4) Unbound System's Energy [(2)] = -0.21 kcal/mol

Lampiran 16. Model terbaik hasil *docking* HDAC 9 - 1c

62

Run = 62

DPF = hdac9_1c.dpf

Estimated Free Energy of Binding = -7.26 kcal/mol [(1)+(2)+(3)-(4)]
Estimated Inhibition Constant, Ki = 4.79 uM (micromolar) [Temperature = 298.15 K]

(1) Final Intermolecular Energy = -9.94 kcal/mol
vdW + Hbond + desolv Energy = -8.94 kcal/mol
Electrostatic Energy = -1.00 kcal/mol
(2) Final Total Internal Energy = -0.37 kcal/mol
(3) Torsional Free Energy = +2.68 kcal/mol
(4) Unbound System's Energy [(2)] = -0.37 kcal/mol

95

Run = 95

DPF = hdac9_1c.dpf

Estimated Free Energy of Binding = -7.40 kcal/mol [(1)+(2)+(3)-(4)]
Estimated Inhibition Constant, Ki = 3.78 uM (micromolar) [Temperature = 298.15 K]

(1) Final Intermolecular Energy = -10.08 kcal/mol
vdW + Hbond + desolv Energy = -9.12 kcal/mol
Electrostatic Energy = -0.96 kcal/mol
(2) Final Total Internal Energy = -0.57 kcal/mol
(3) Torsional Free Energy = +2.68 kcal/mol
(4) Unbound System's Energy [(2)] = -0.57 kcal/mol

Lampiran 17. Model terbaik hasil *docking* HDAC 9 - SAHA

29

Run = 29

DPF = hdac9_SAHA.dpf

Estimated Free Energy of Binding = -6.67 kcal/mol [(1)+(2)+(3)-(4)]
Estimated Inhibition Constant, Ki = 12.94 uM (micromolar) [Temperature = 298.15 K]

(1) Final Intermolecular Energy = -9.35 kcal/mol
vdW + Hbond + desolv Energy = -7.38 kcal/mol
Electrostatic Energy = -1.98 kcal/mol
(2) Final Total Internal Energy = +0.17 kcal/mol
(3) Torsional Free Energy = +2.68 kcal/mol
(4) Unbound System's Energy [(2)] = +0.17 kcal/mol

72

Run = 72

DPF = hdac9_SAHA.dpf

Estimated Free Energy of Binding = -6.40 kcal/mol [(1)+(2)+(3)-(4)]
Estimated Inhibition Constant, Ki = 20.21 uM (micromolar) [Temperature = 298.15 K]

(1) Final Intermolecular Energy = -9.09 kcal/mol
vdW + Hbond + desolv Energy = -7.19 kcal/mol
Electrostatic Energy = -1.90 kcal/mol
(2) Final Total Internal Energy = -0.14 kcal/mol
(3) Torsional Free Energy = +2.68 kcal/mol
(4) Unbound System's Energy [(2)] = -0.14 kcal/mol

Lampiran 18. Model terbaik hasil *docking* HDAC 10 - 1c

12
Run = 12
DPF = hdac10_1c.dpf

Estimated Free Energy of Binding = -7.94 kcal/mol [= (1)+(2)+(3)-(4)]
Estimated Inhibition Constant, Ki = 1.52 uM (micromolar) [Temperature = 298.15 K]

(1) Final Intermolecular Energy = -10.62 kcal/mol
vdW + Hbond + desolv Energy = -9.03 kcal/mol
Electrostatic Energy = -1.59 kcal/mol
(2) Final Total Internal Energy = -0.44 kcal/mol
(3) Torsional Free Energy = +2.68 kcal/mol
(4) Unbound System's Energy [= (2)] = -0.44 kcal/mol

23
Run = 23
DPF = hdac10_1c.dpf

Estimated Free Energy of Binding = -8.73 kcal/mol [= (1)+(2)+(3)-(4)]
Estimated Inhibition Constant, Ki = 397.25 nM (nanomolar) [Temperature = 298.15 K]

(1) Final Intermolecular Energy = -11.42 kcal/mol
vdW + Hbond + desolv Energy = -10.46 kcal/mol
Electrostatic Energy = -0.96 kcal/mol
(2) Final Total Internal Energy = -0.59 kcal/mol
(3) Torsional Free Energy = +2.68 kcal/mol
(4) Unbound System's Energy [= (2)] = -0.59 kcal/mol

Lampiran 19. Model terbaik hasil *docking* HDAC 10 - SAHA

2
Run = 2
DPF = hdac10_SAHA.dpf

Estimated Free Energy of Binding = -8.01 kcal/mol [(1)+(2)+(3)-(4)]
Estimated Inhibition Constant, Ki = 1.34 uM (micromolar) [Temperature = 298.15 K]

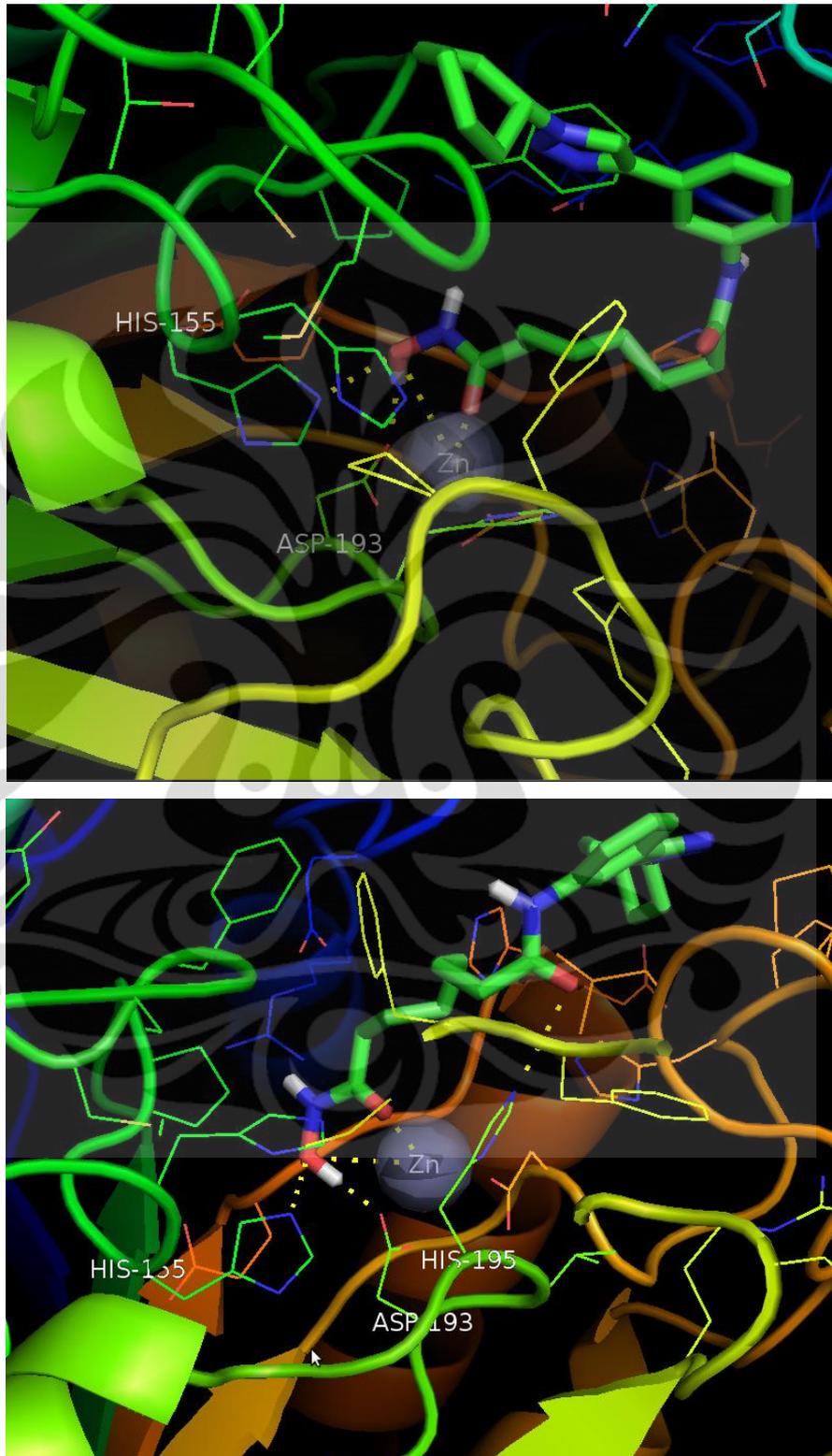
(1) Final Intermolecular Energy = -10.70 kcal/mol
vdW + Hbond + desolv Energy = -8.81 kcal/mol
Electrostatic Energy = -1.89 kcal/mol
(2) Final Total Internal Energy = -0.06 kcal/mol
(3) Torsional Free Energy = +2.68 kcal/mol
(4) Unbound System's Energy [(2)] = -0.06 kcal/mol

80
Run = 80
DPF = hdac10_SAHA.dpf

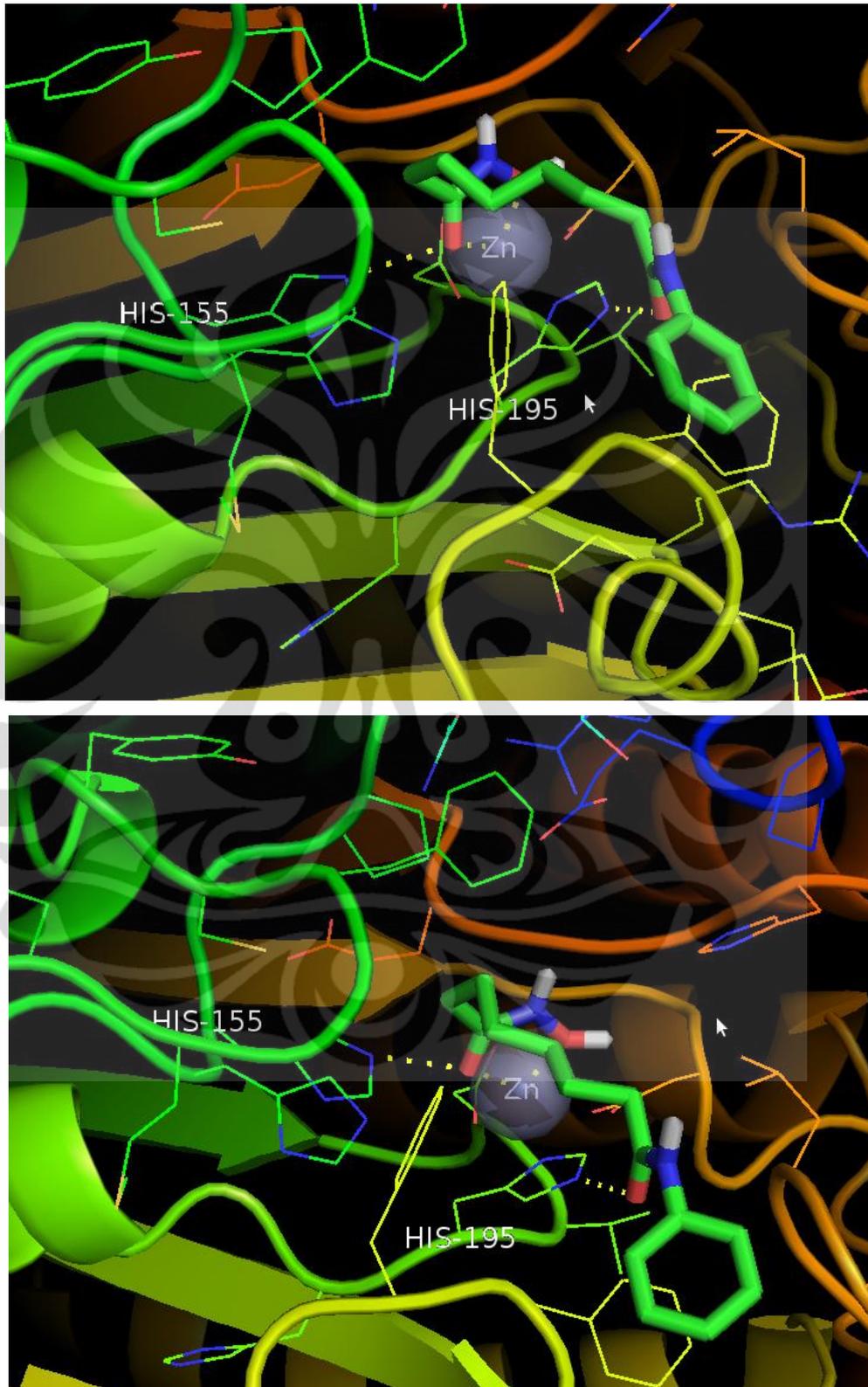
Estimated Free Energy of Binding = -7.63 kcal/mol [(1)+(2)+(3)-(4)]
Estimated Inhibition Constant, Ki = 2.54 uM (micromolar) [Temperature = 298.15 K]

(1) Final Intermolecular Energy = -10.32 kcal/mol
vdW + Hbond + desolv Energy = -8.61 kcal/mol
Electrostatic Energy = -1.71 kcal/mol
(2) Final Total Internal Energy = -0.40 kcal/mol
(3) Torsional Free Energy = +2.68 kcal/mol
(4) Unbound System's Energy [(2)] = -0.40 kcal/mol

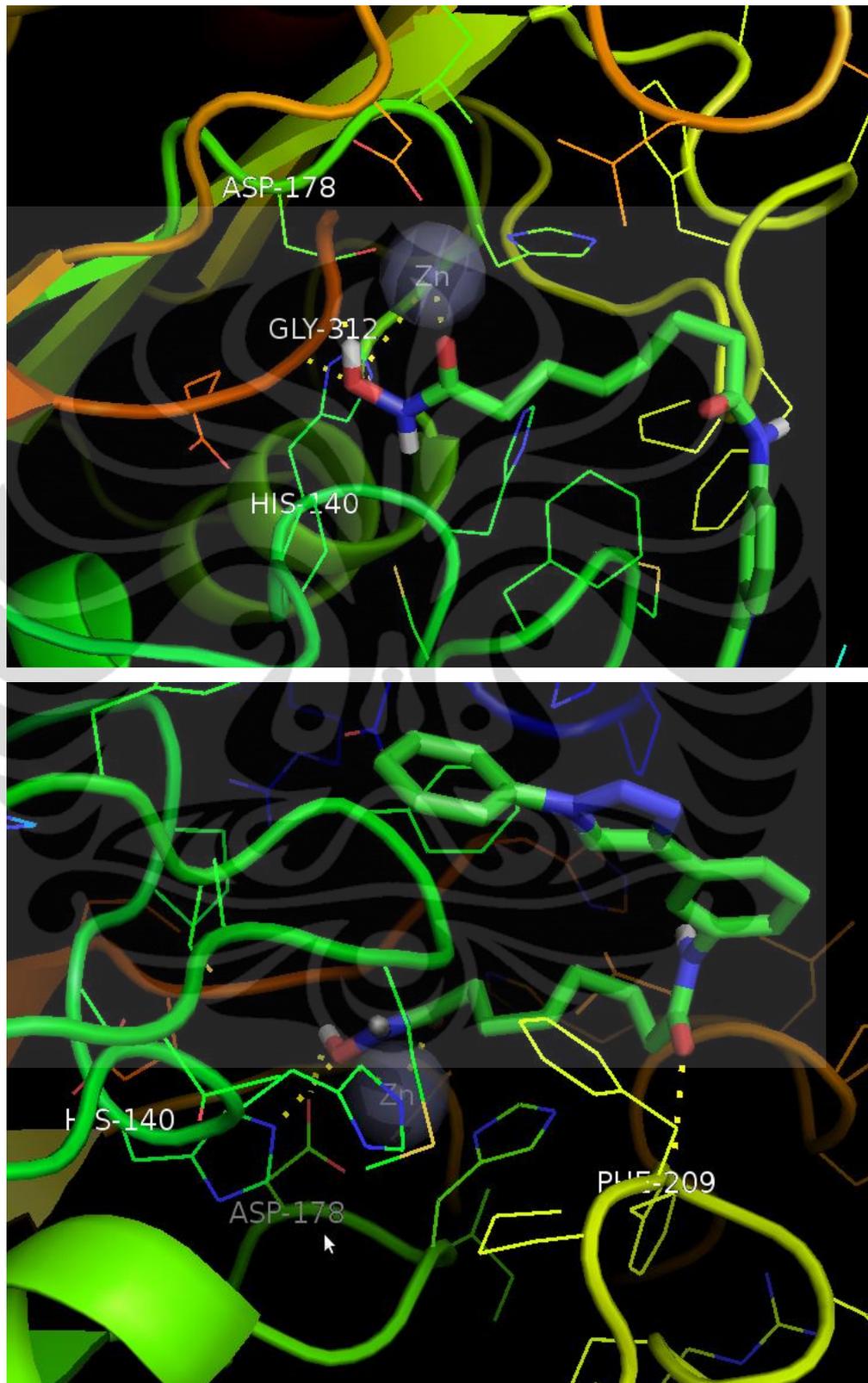
Lampiran 20. Visualisasi hasil *docking* HDAC 4 - 2c



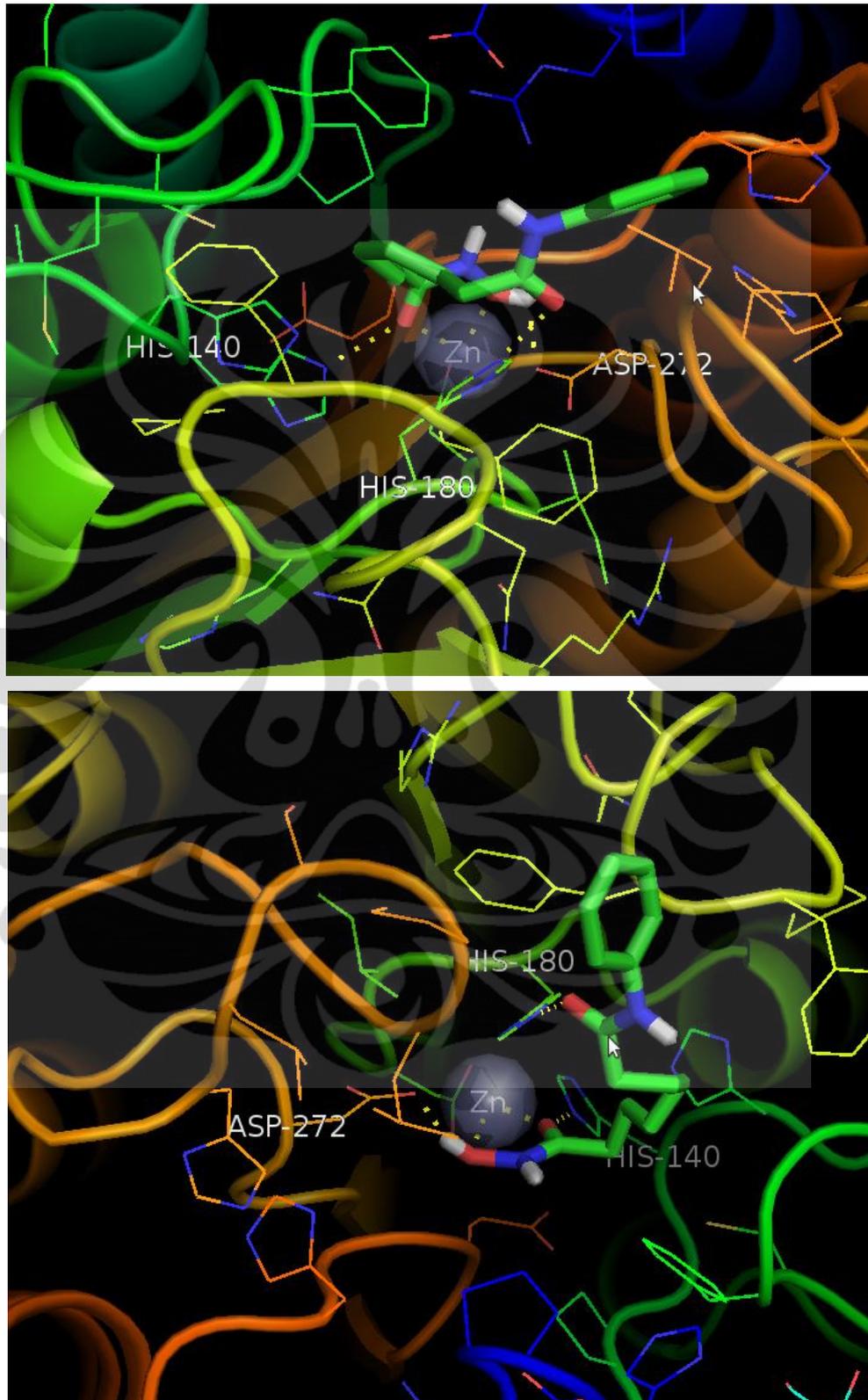
Lampiran 21. Visualisasi hasil *docking* HDAC 4 - SAHA



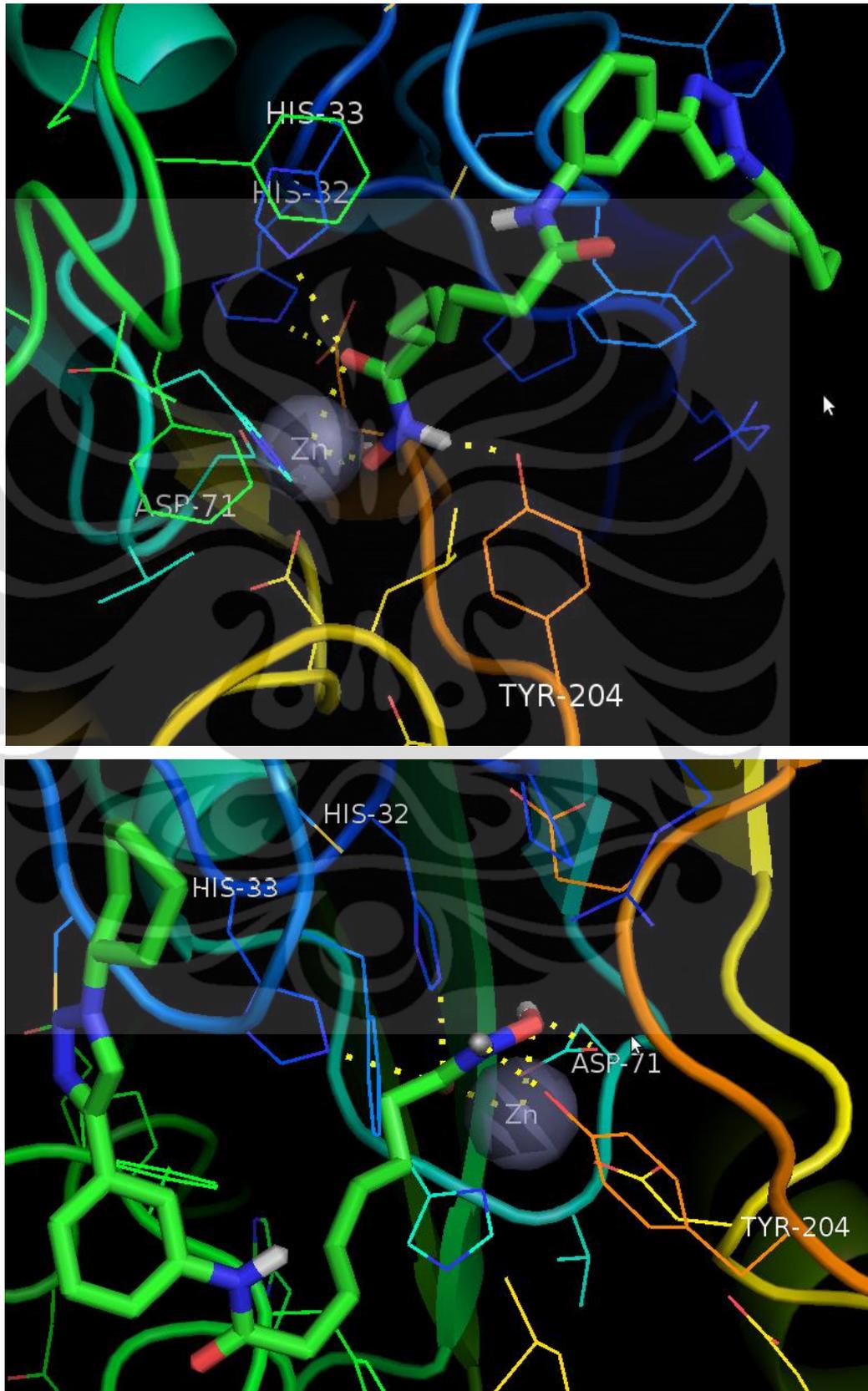
Lampiran 22. Visualisasi hasil *docking* HDAC 5 – 2a



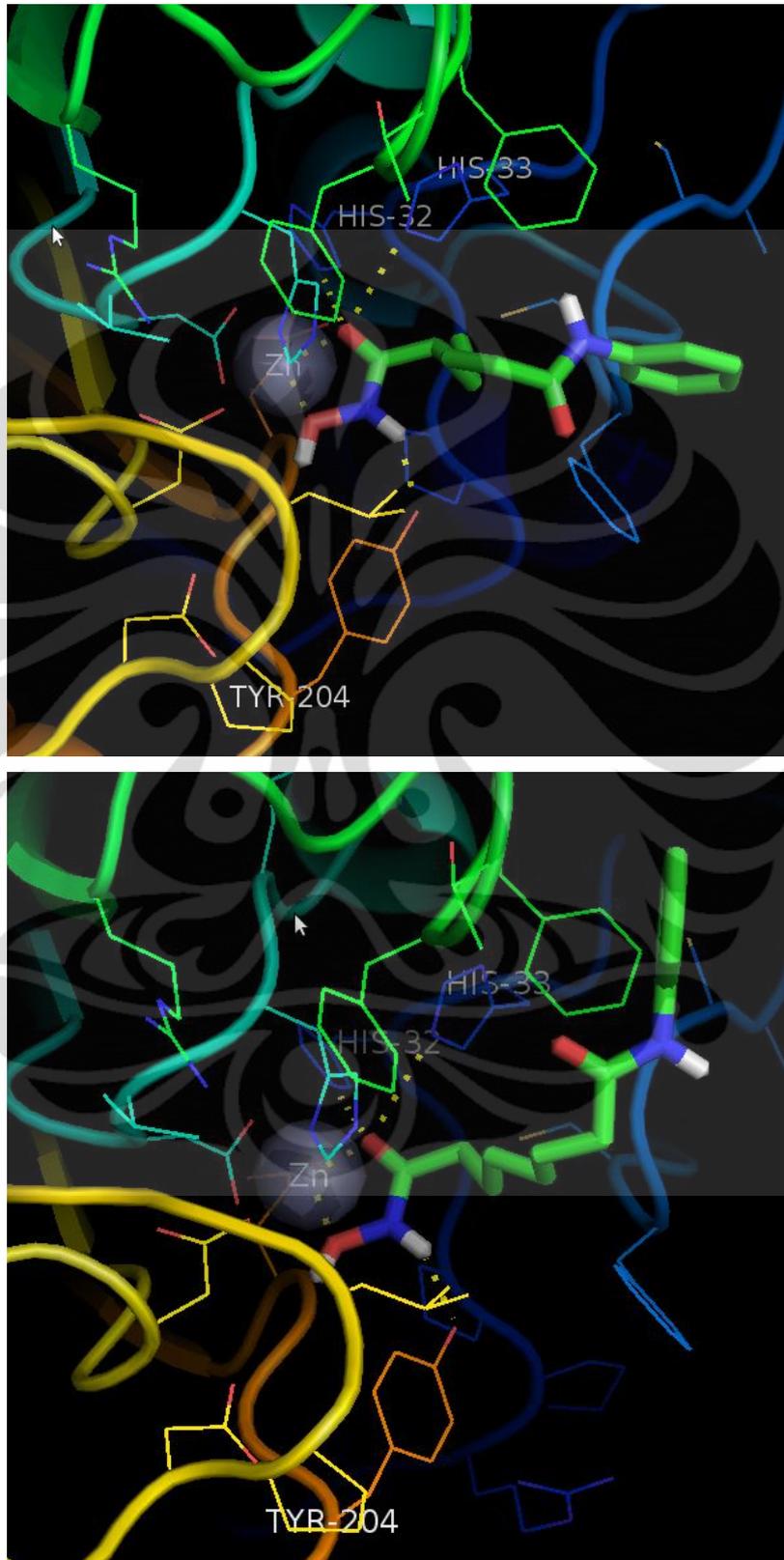
Lampiran 23. Visualisasi hasil *docking* HDAC 5 – SAHA



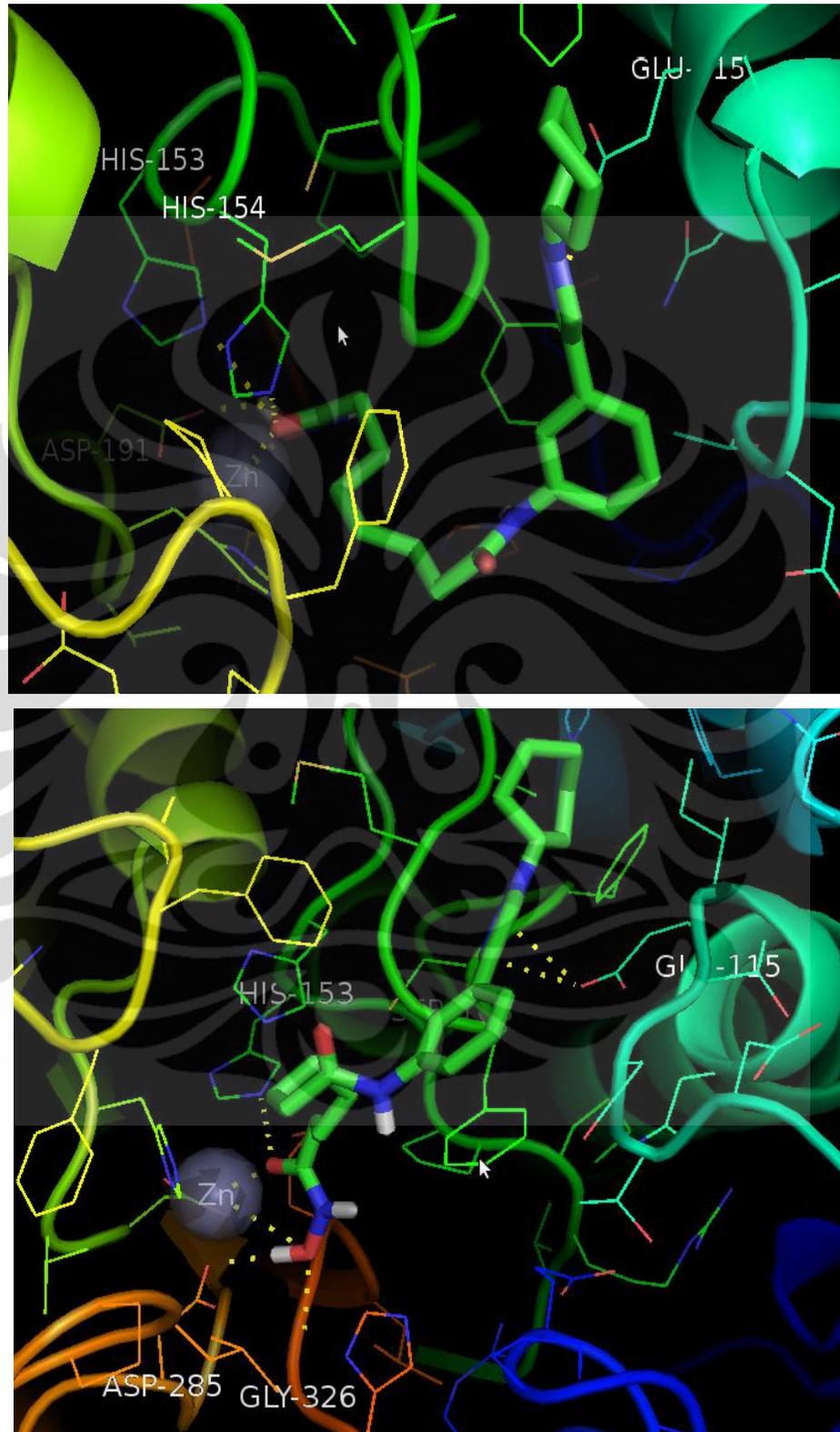
Lampiran 24. Visualisasi hasil *docking* HDAC 6 - 2c



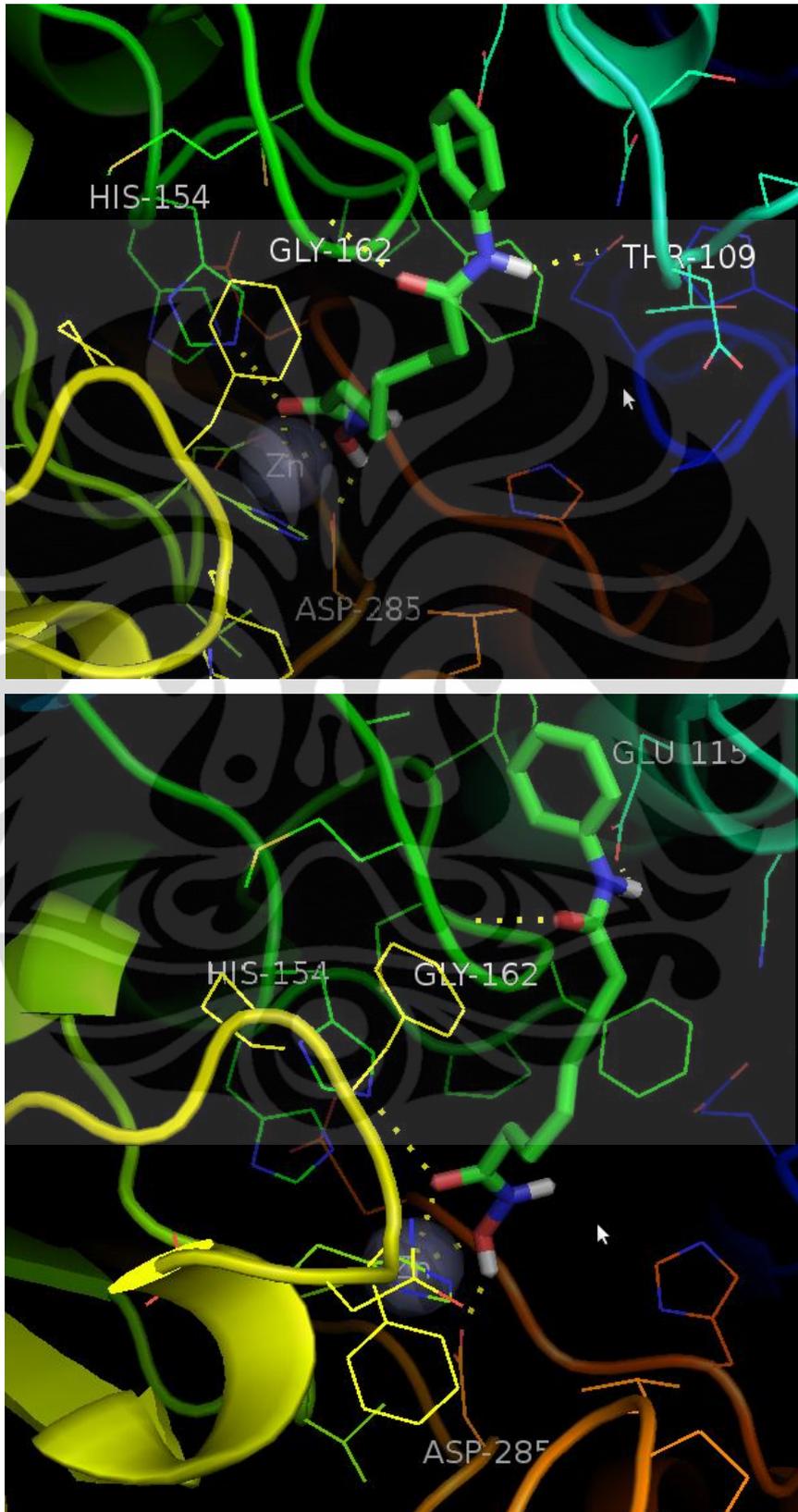
Lampiran 25. Visualisasi hasil *docking* HDAC 6 – SAHA



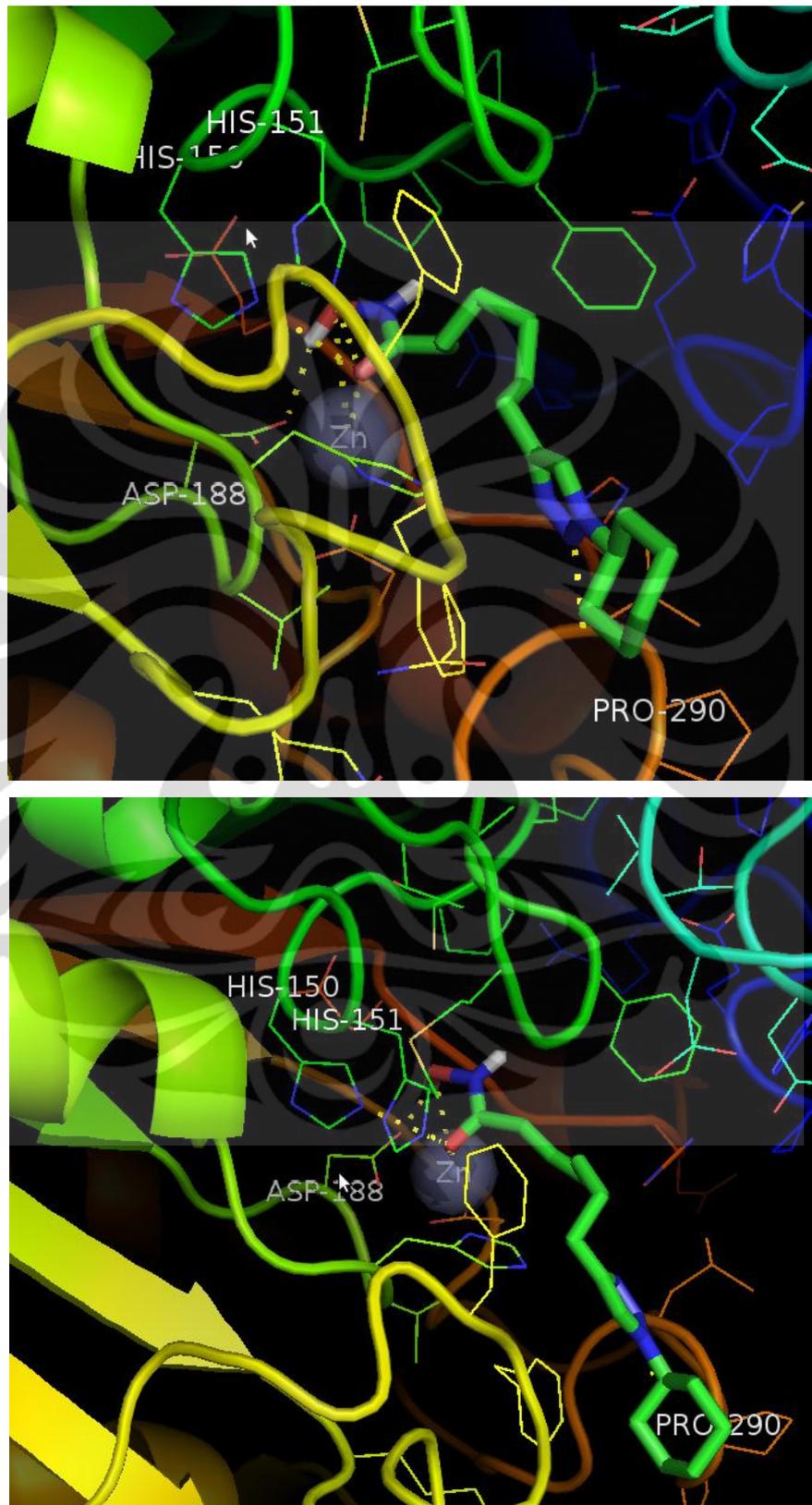
Lampiran 26. Visualisasi hasil *docking* HDAC 7 - 2c



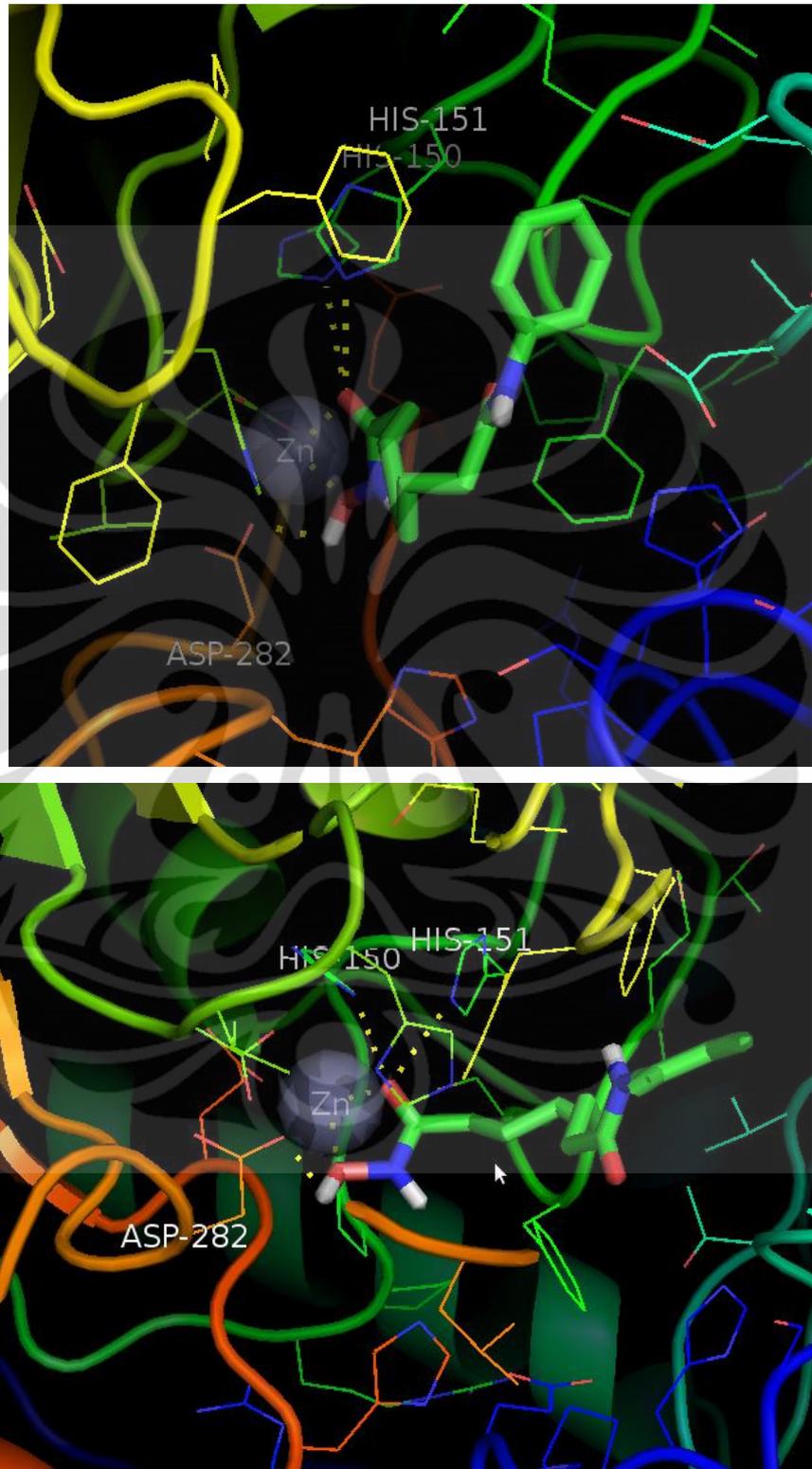
Lampiran 27. Visualisasi hasil *docking* HDAC 7 – SAHA



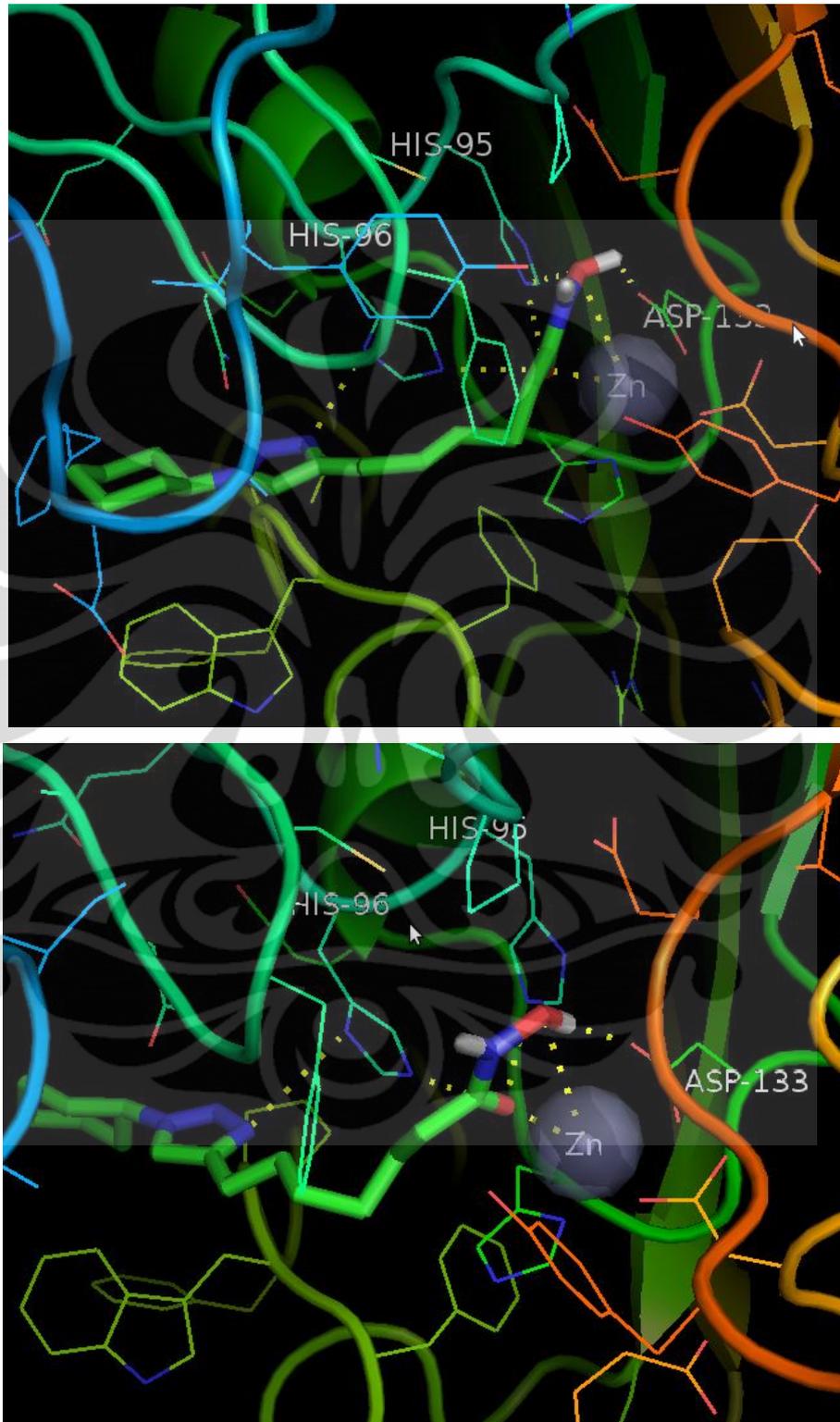
Lampiran 28. Visualisasi hasil *docking* HDAC 9 - 1c



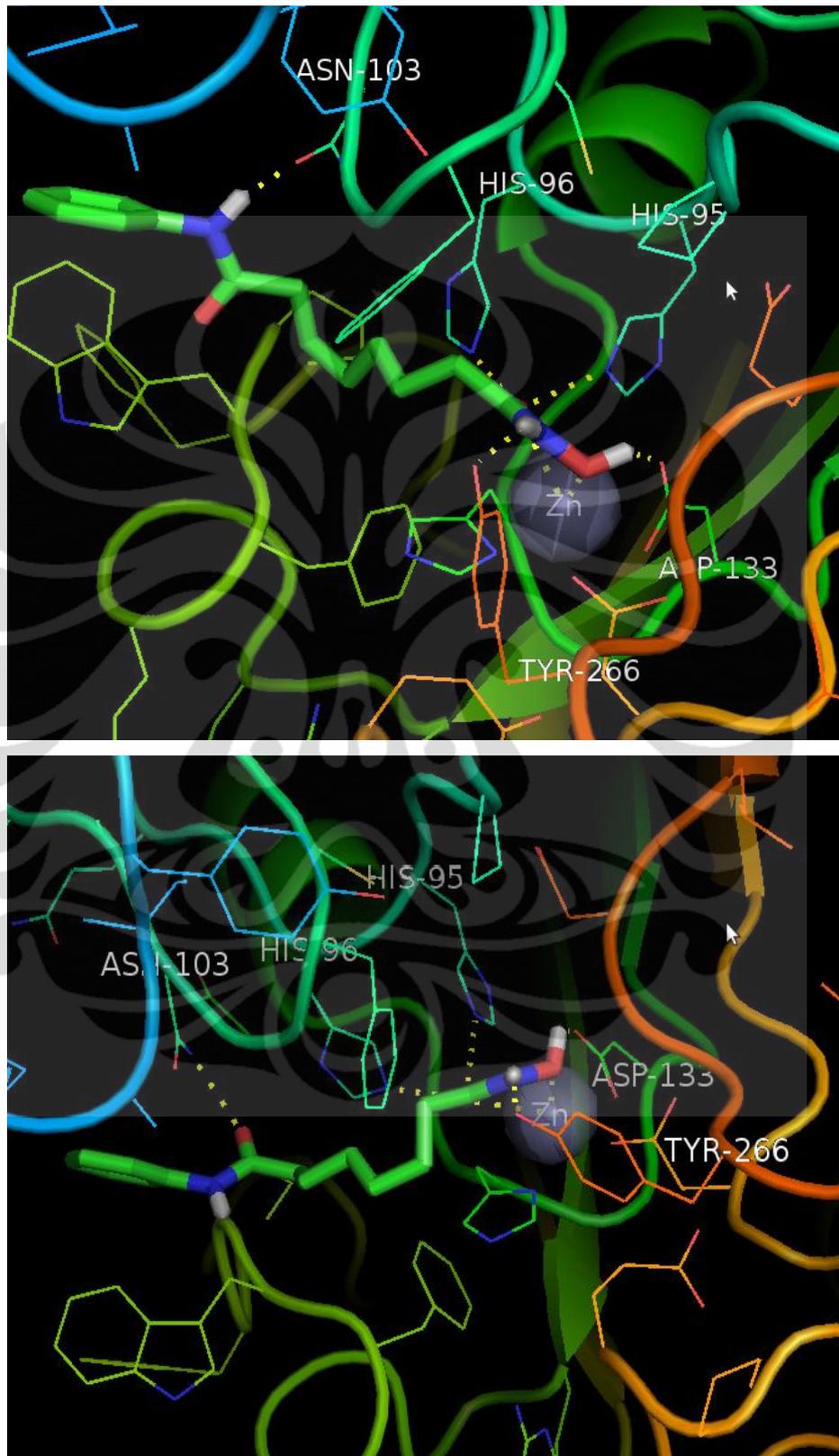
Lampiran 29. Visualisasi hasil *docking* HDAC 9 – SAHA



Lampiran 30. Visualisasi hasil *docking* HDAC 10 – 1c



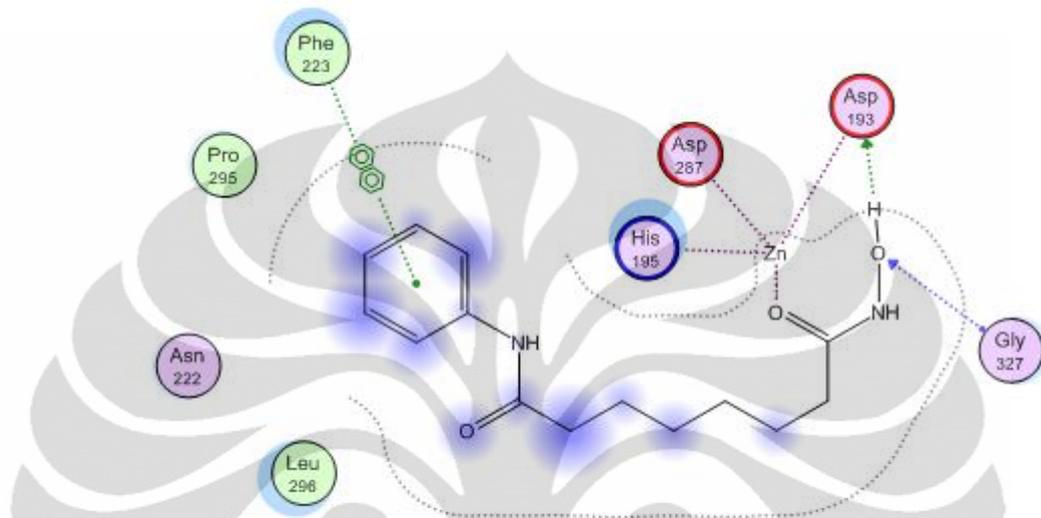
Lampiran 31. Visualisasi hasil *docking* HDAC 10- SAHA



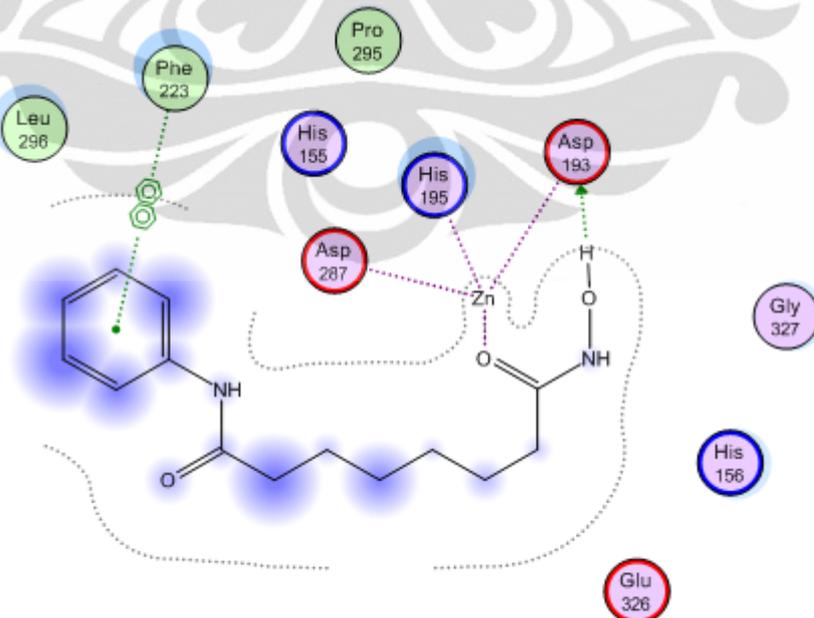
Lampiran 32. Visualisasi 2D Kontak Residu Hasil Simulasi Dinamika Molekul Terhadap HDAC 4

- HDAC 4 - SAHA

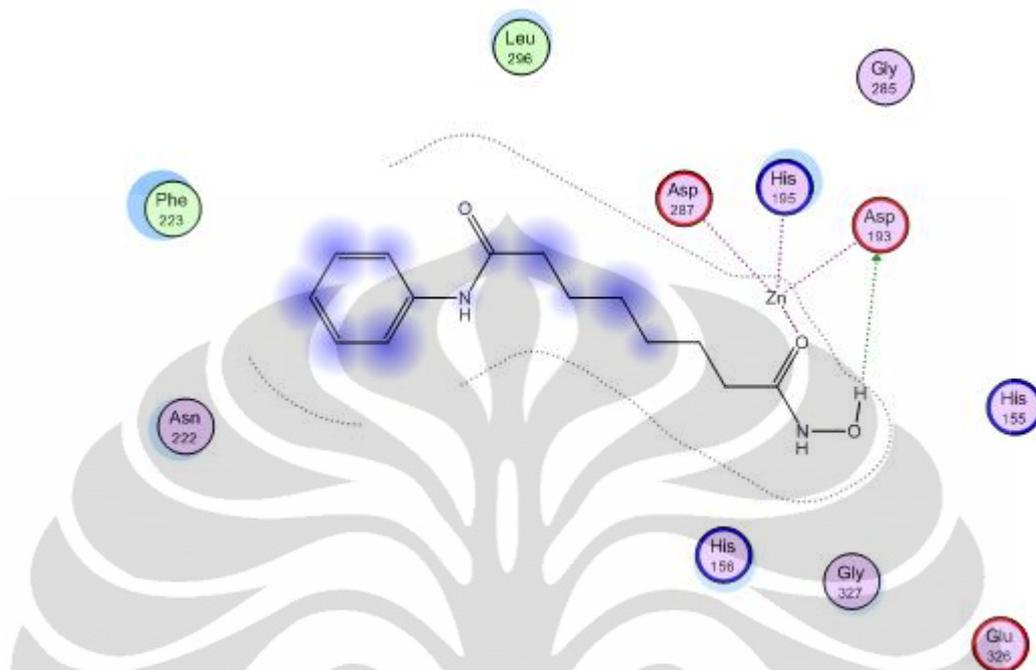
➤ Interaksi inisialisasi



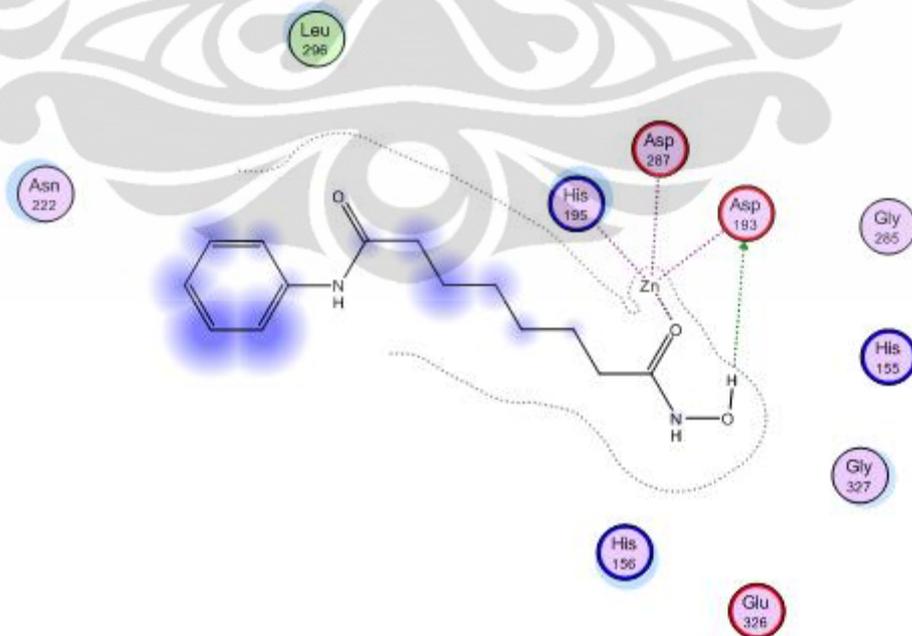
➤ Heating 10 ps



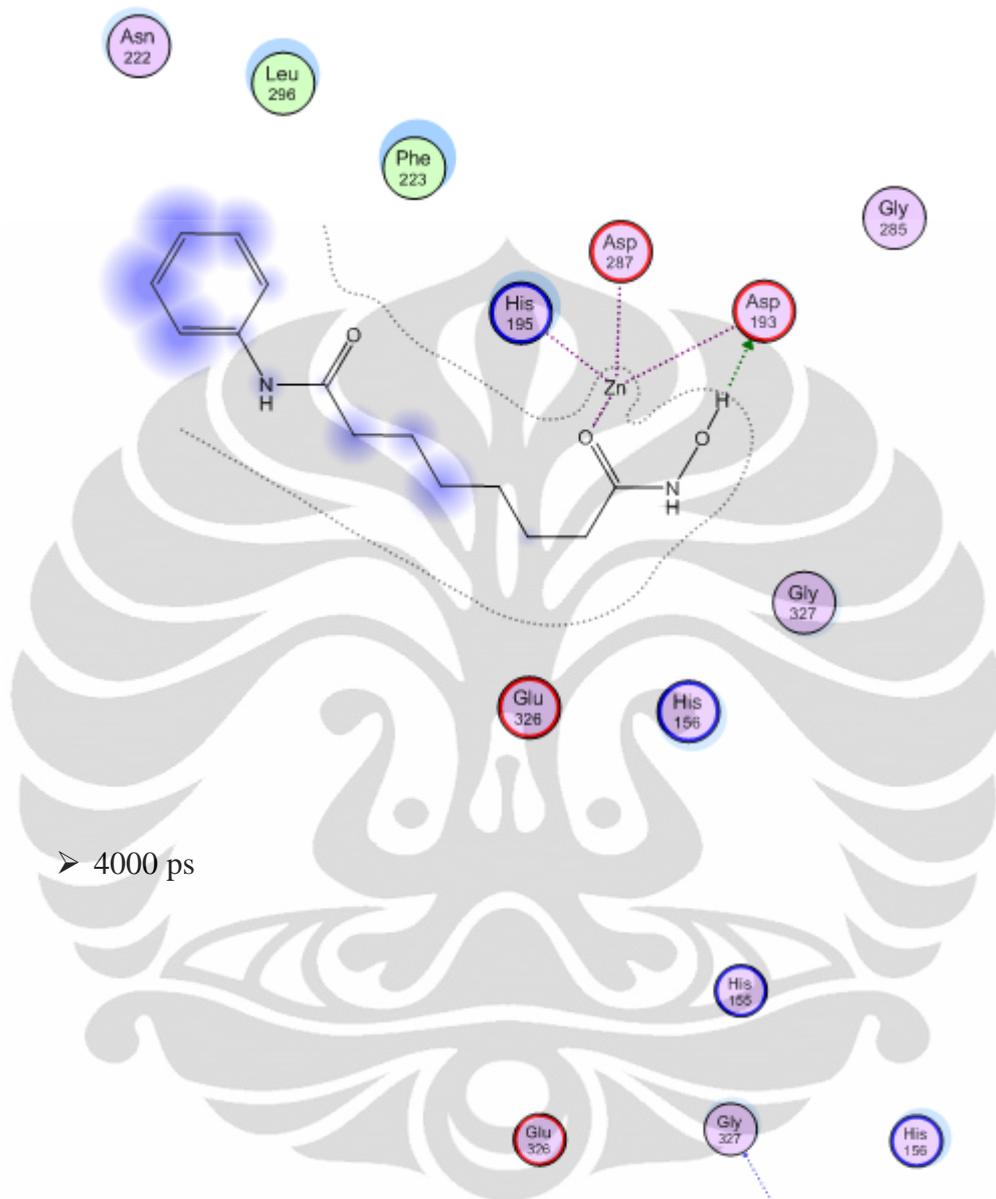
➤ 1000 ps



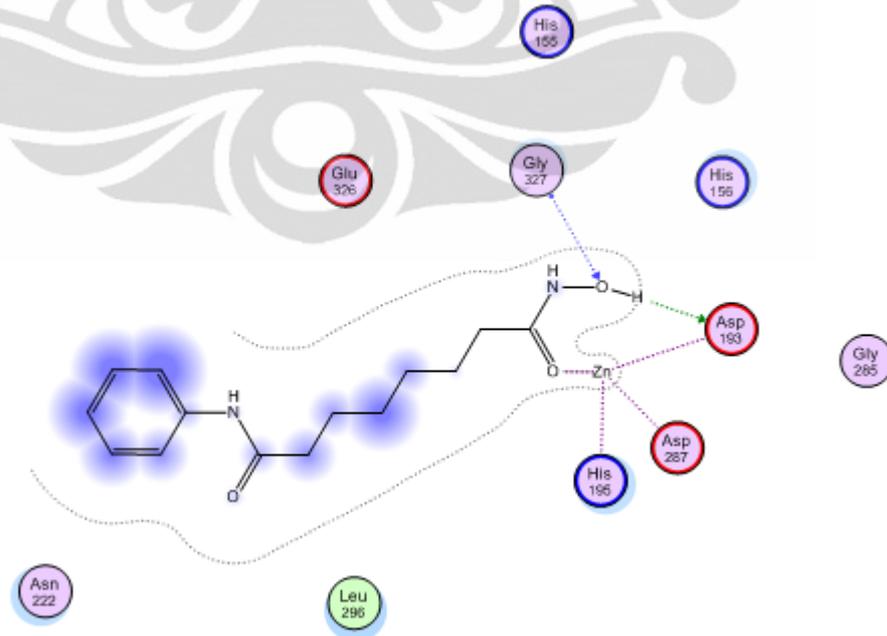
➤ 2000 ps



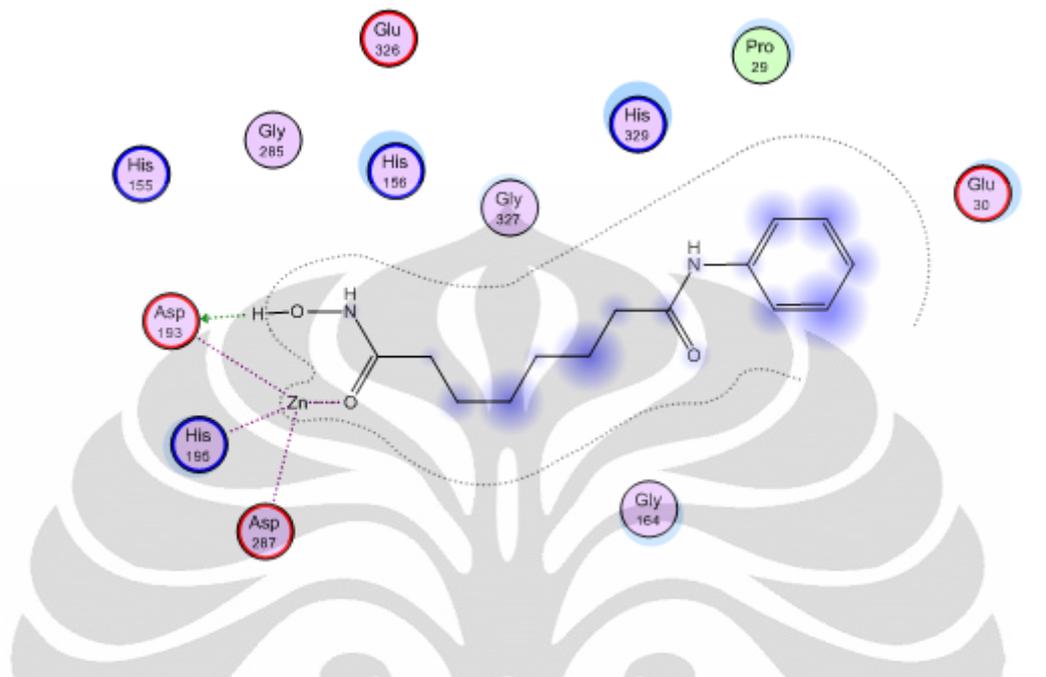
➤ 3000ps



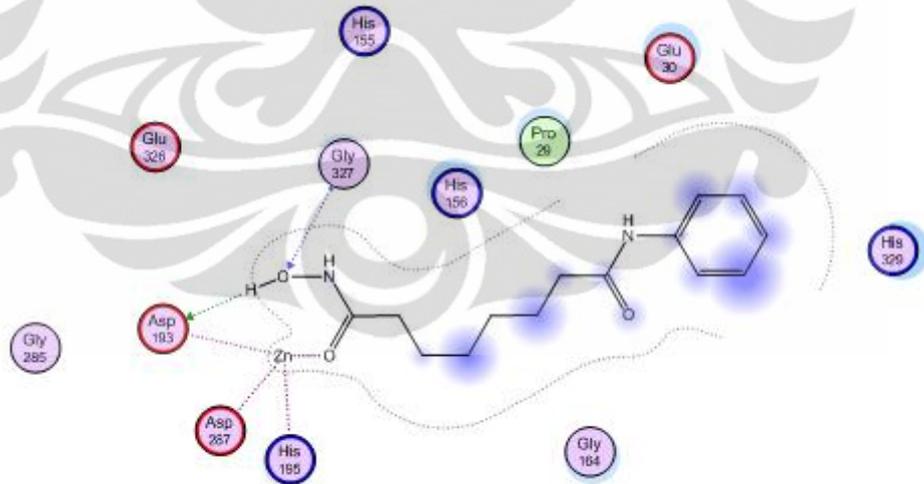
➤ 4000 ps



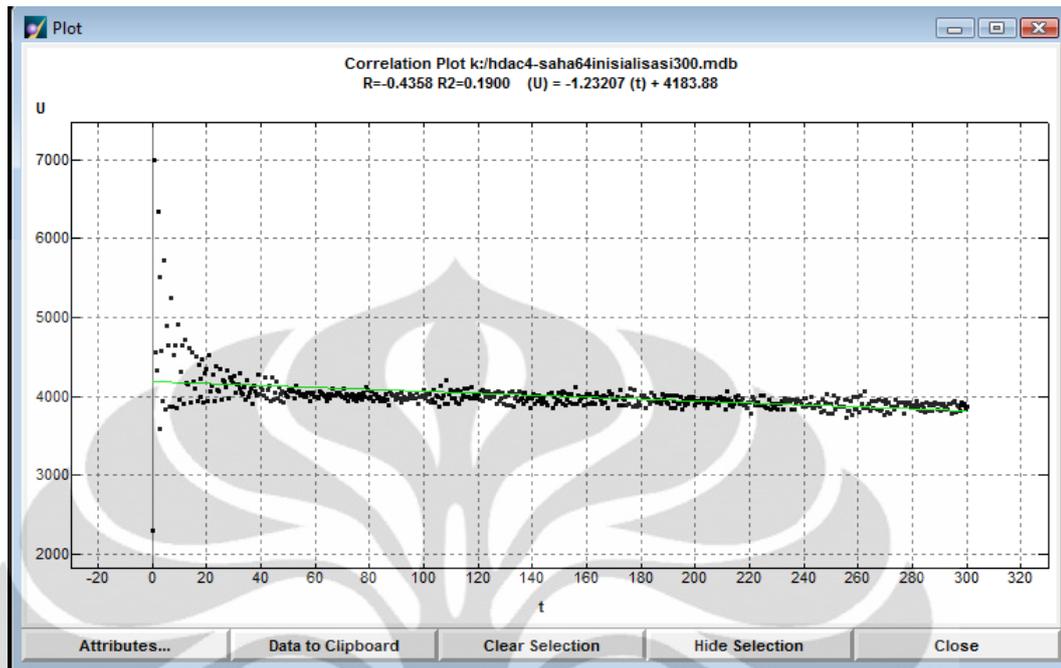
➤ 5000ps



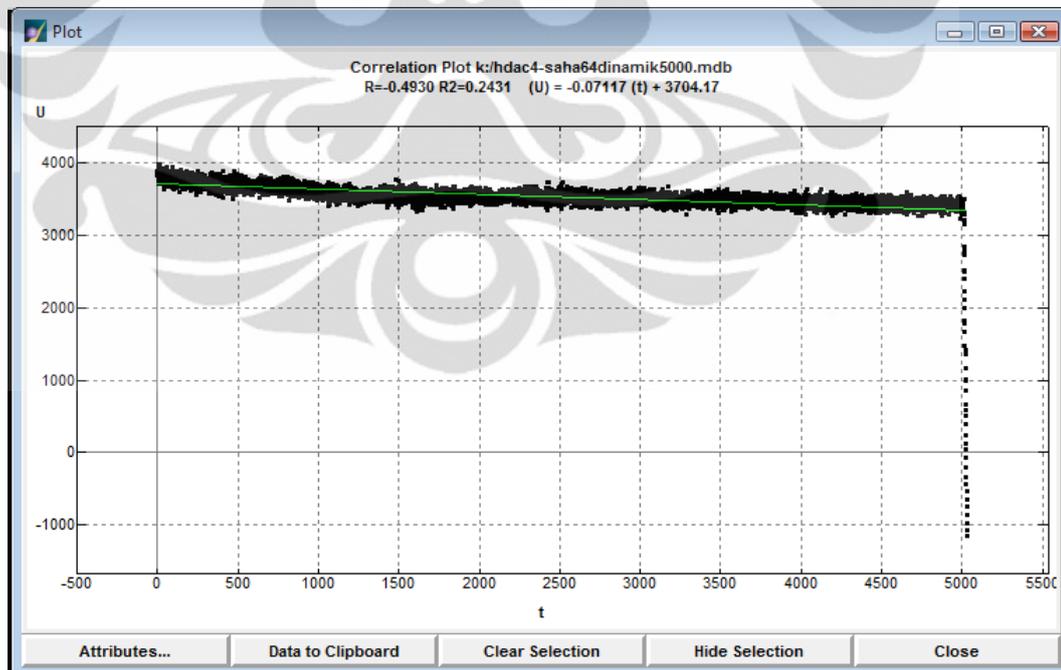
➤ *Cooling* 20ps



➤ Grafik kestabilan inisialisasi HDAC 4 - SAHA

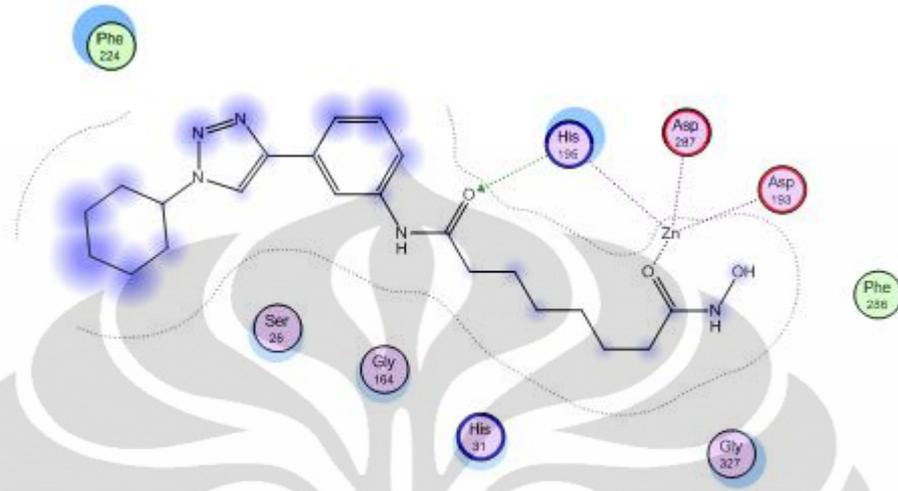


➤ Grafik kestabilan *dynamic* HDAC 4 - SAHA

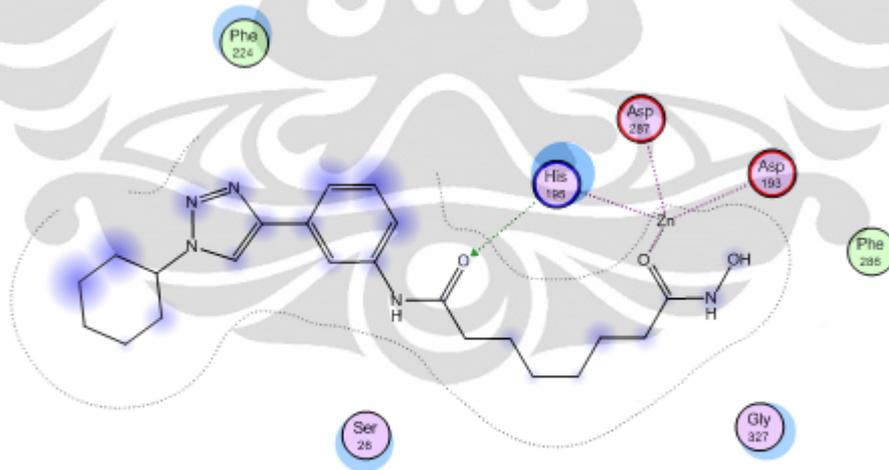


- HDAC 4 - 2c

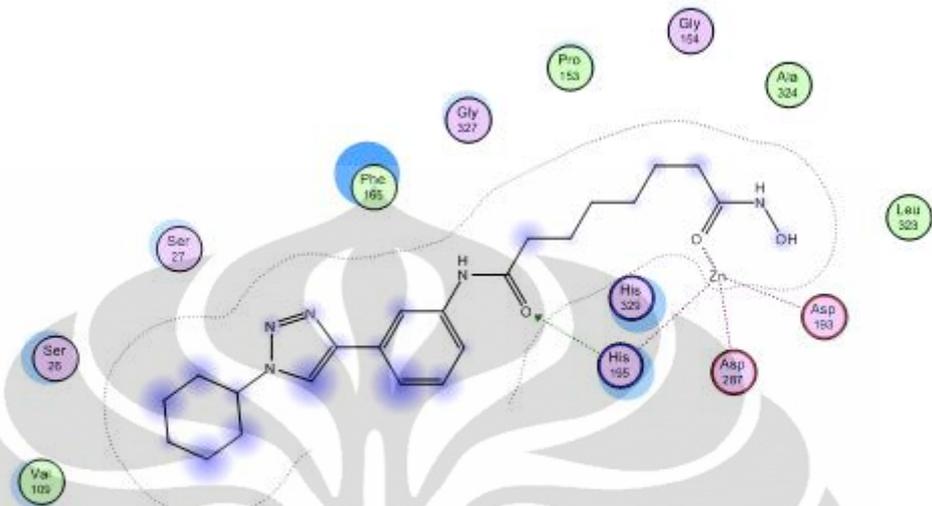
➤ Inisialisasi



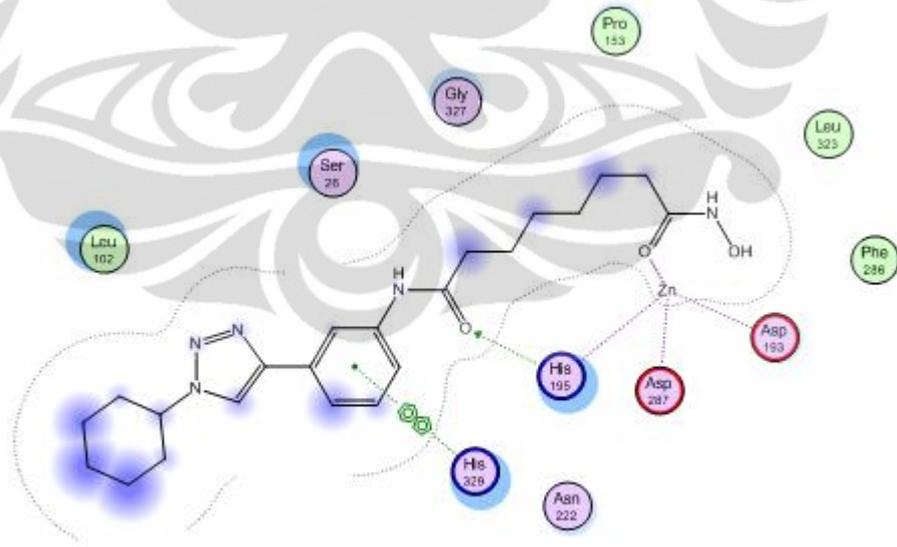
➤ Heating 10 ps



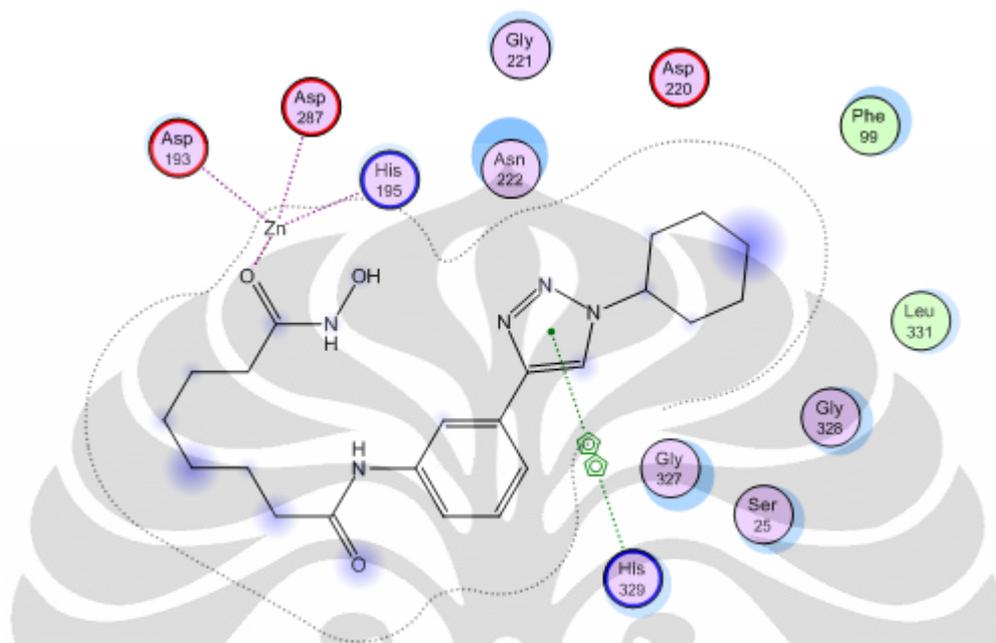
➤ 1000 ps



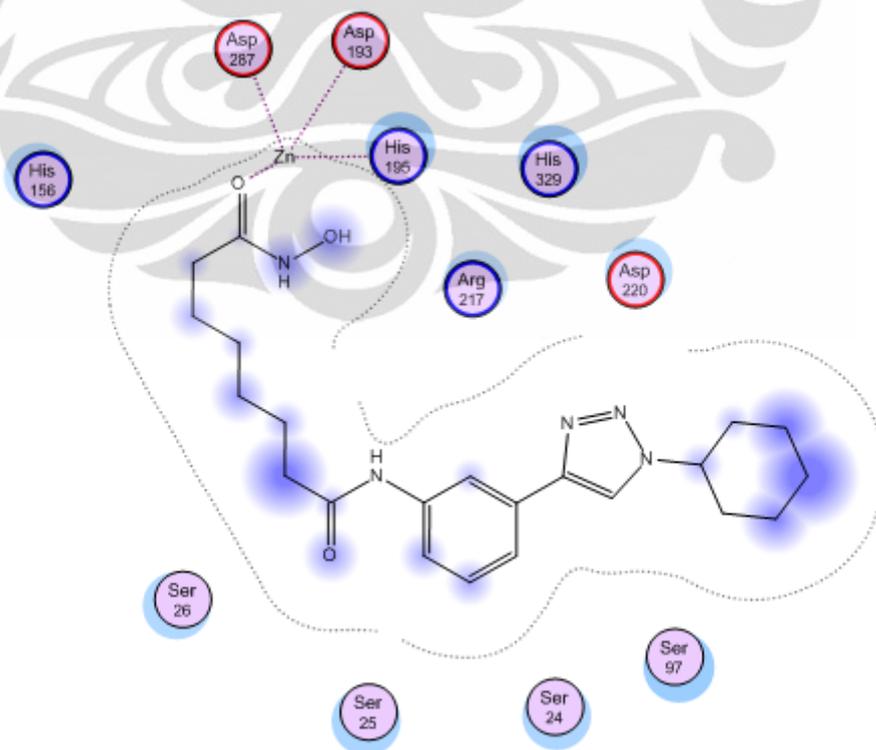
➤ 2000 ps



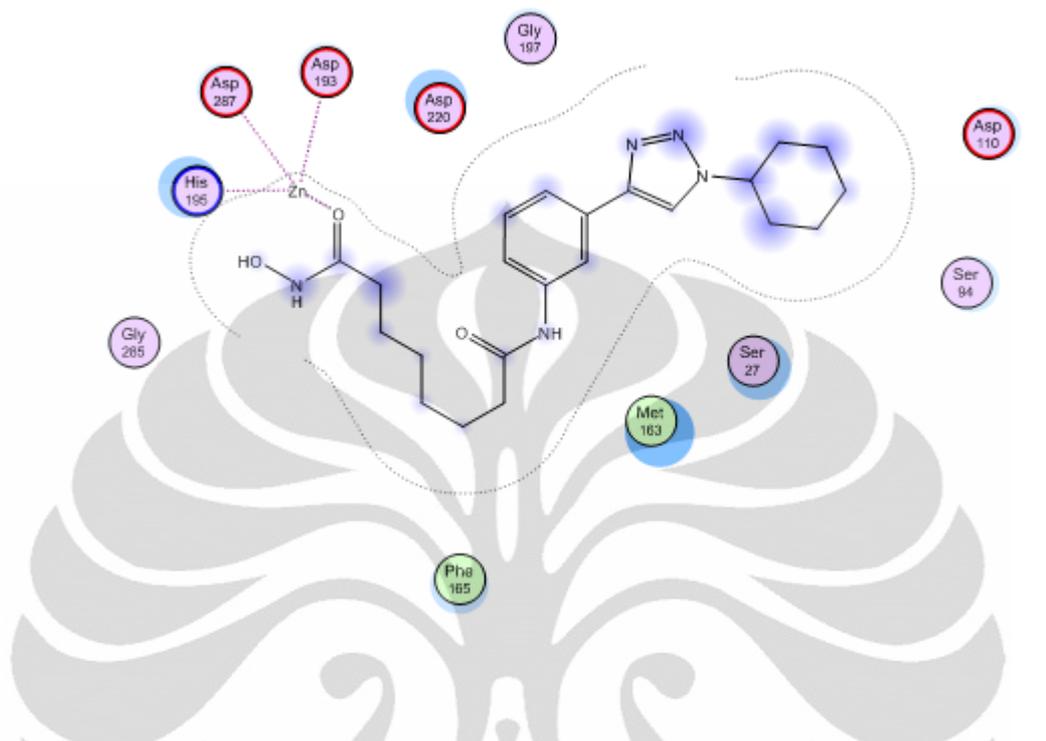
➤ 3000 ps



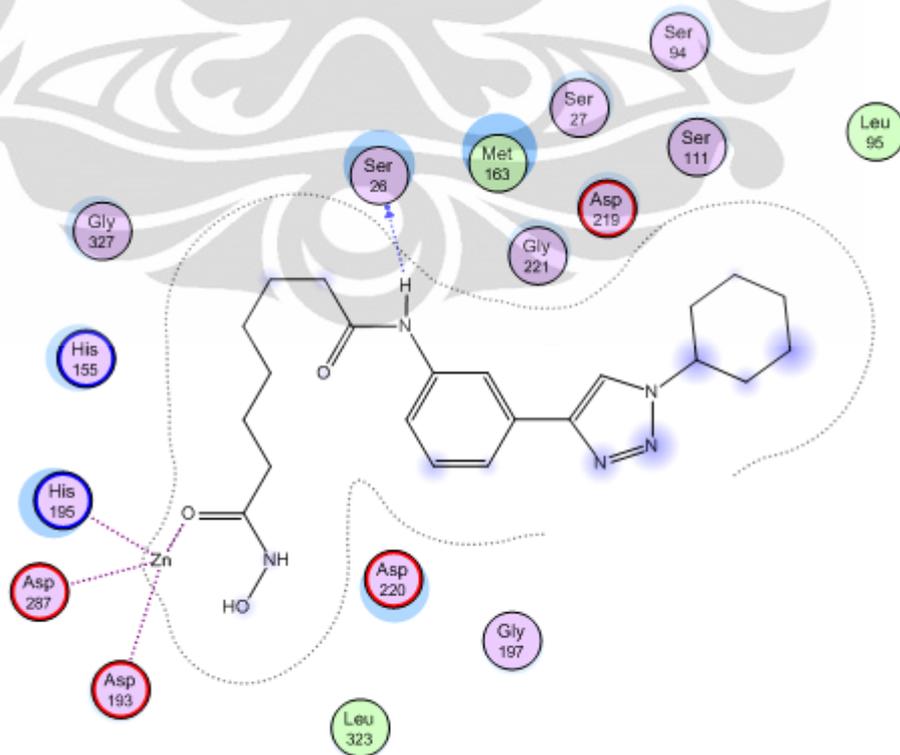
➤ 4000 ps



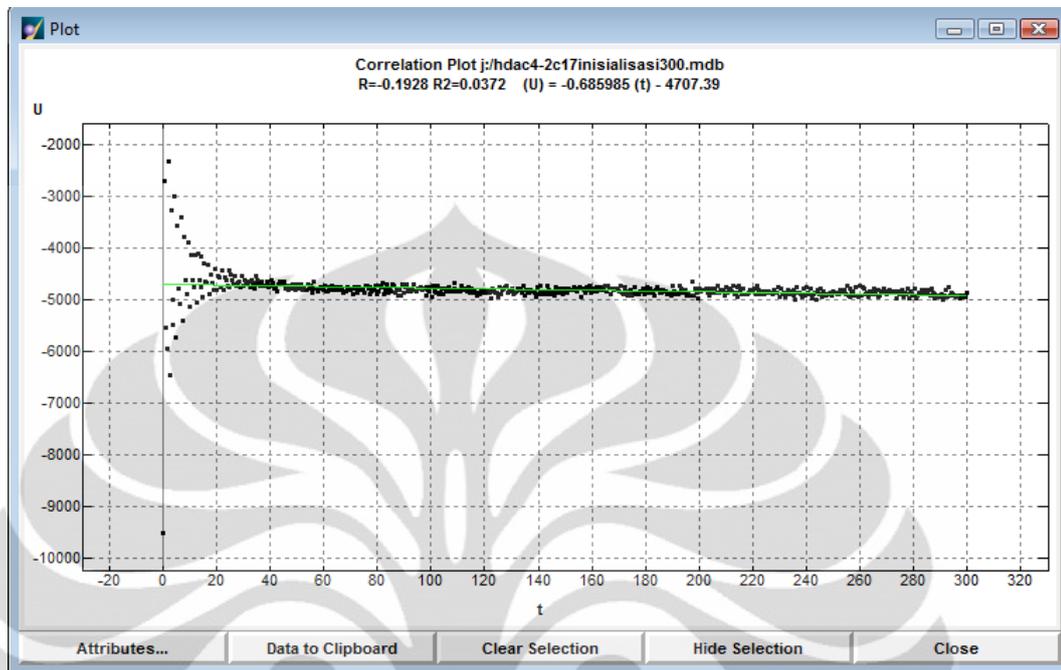
➤ 5000 ps



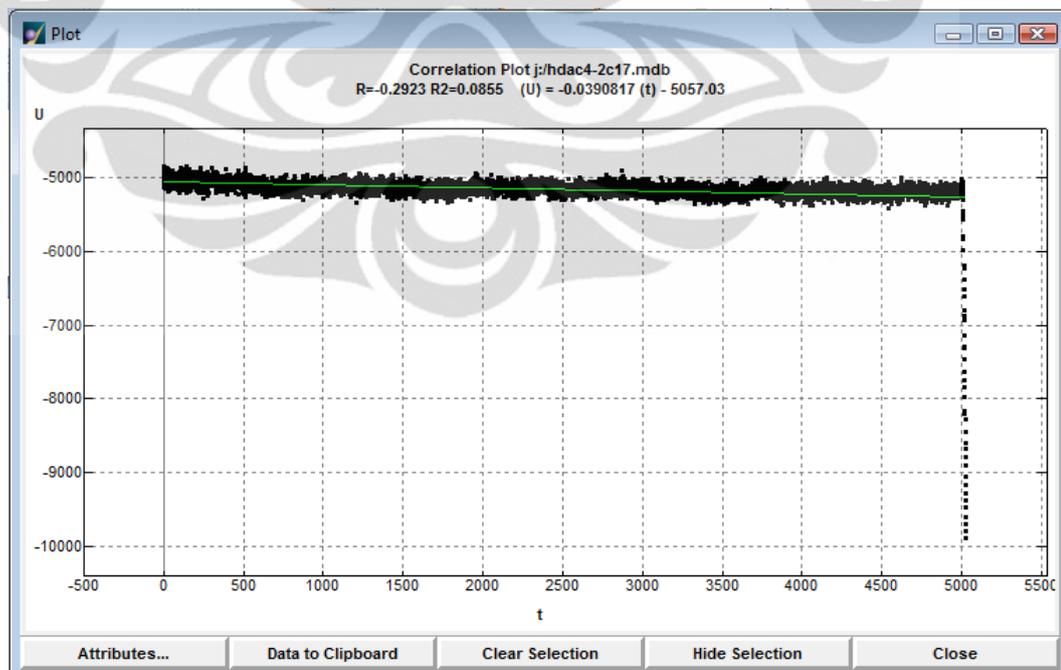
➤ Cooling 20 ps



➤ Grafik kestabilan inisialisasi HDAC 4 - 2c



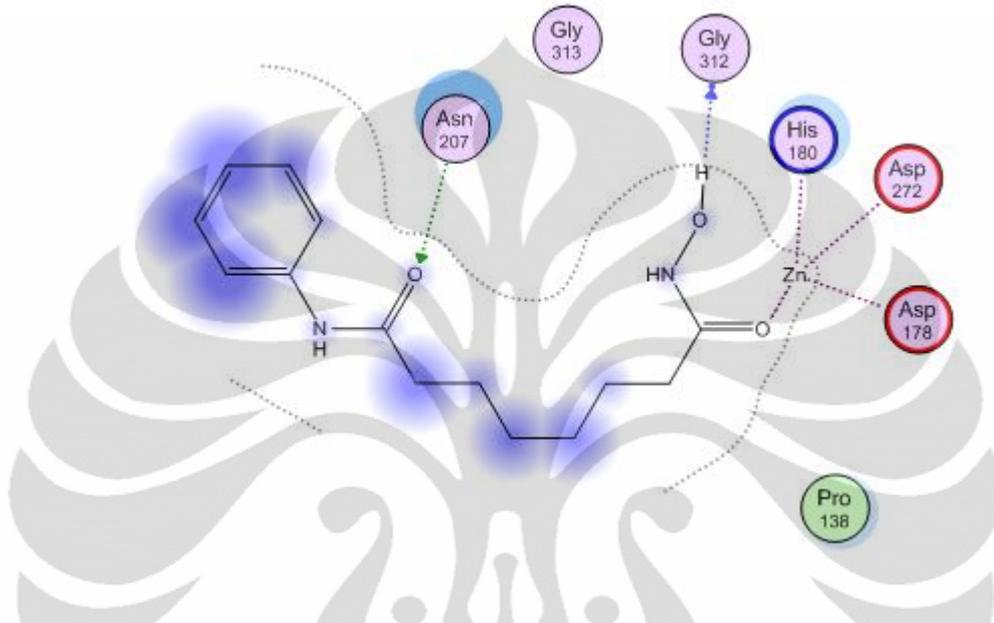
➤ Grafik kestabilan *dynamic* HDAC 4 -2c



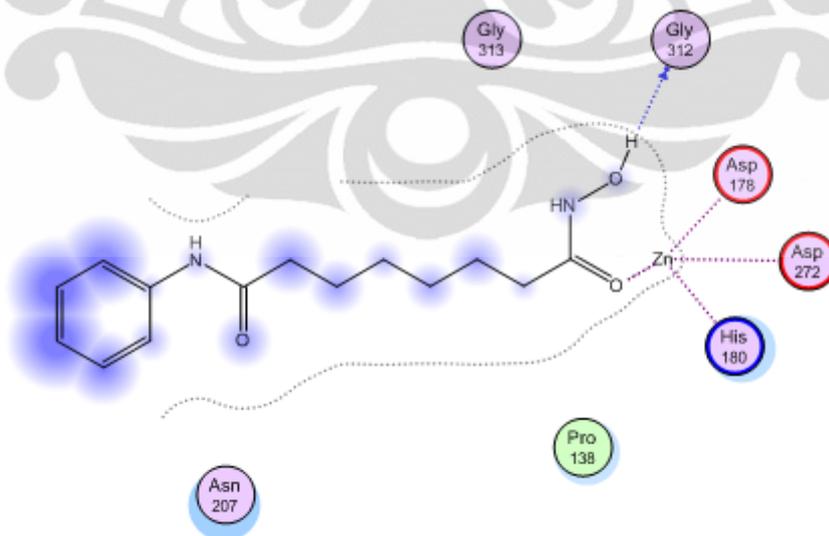
Lampiran 33. Visualisasi 2D Kontak Residu Hasil Simulasi Dinamika Molekul HDAC 5

- HDAC 5 - SAHA

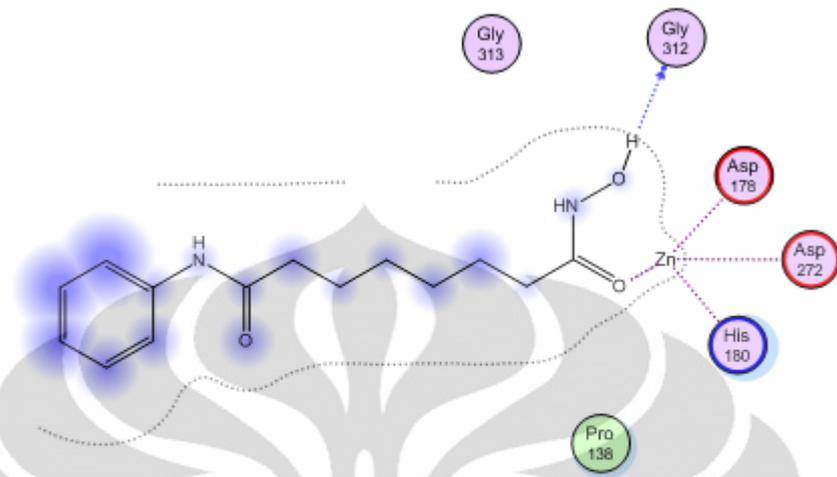
➤ Inisialisasi



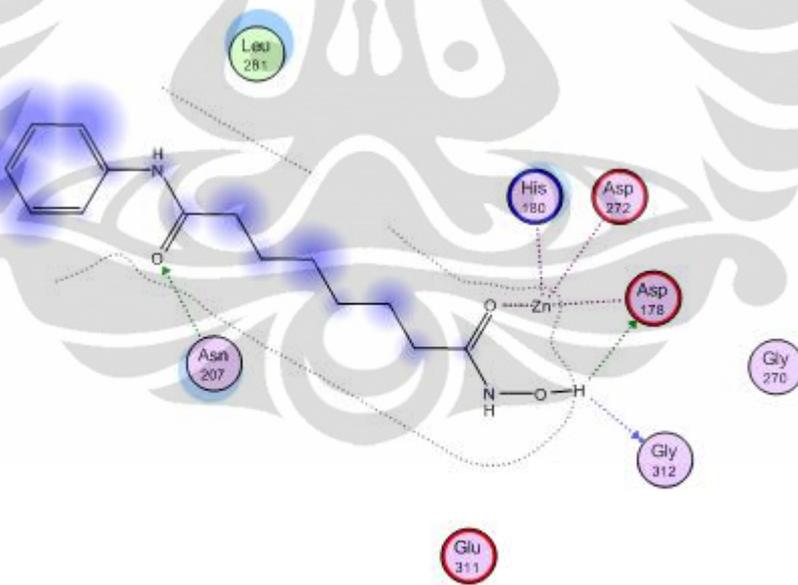
➤ Heating 10 ps



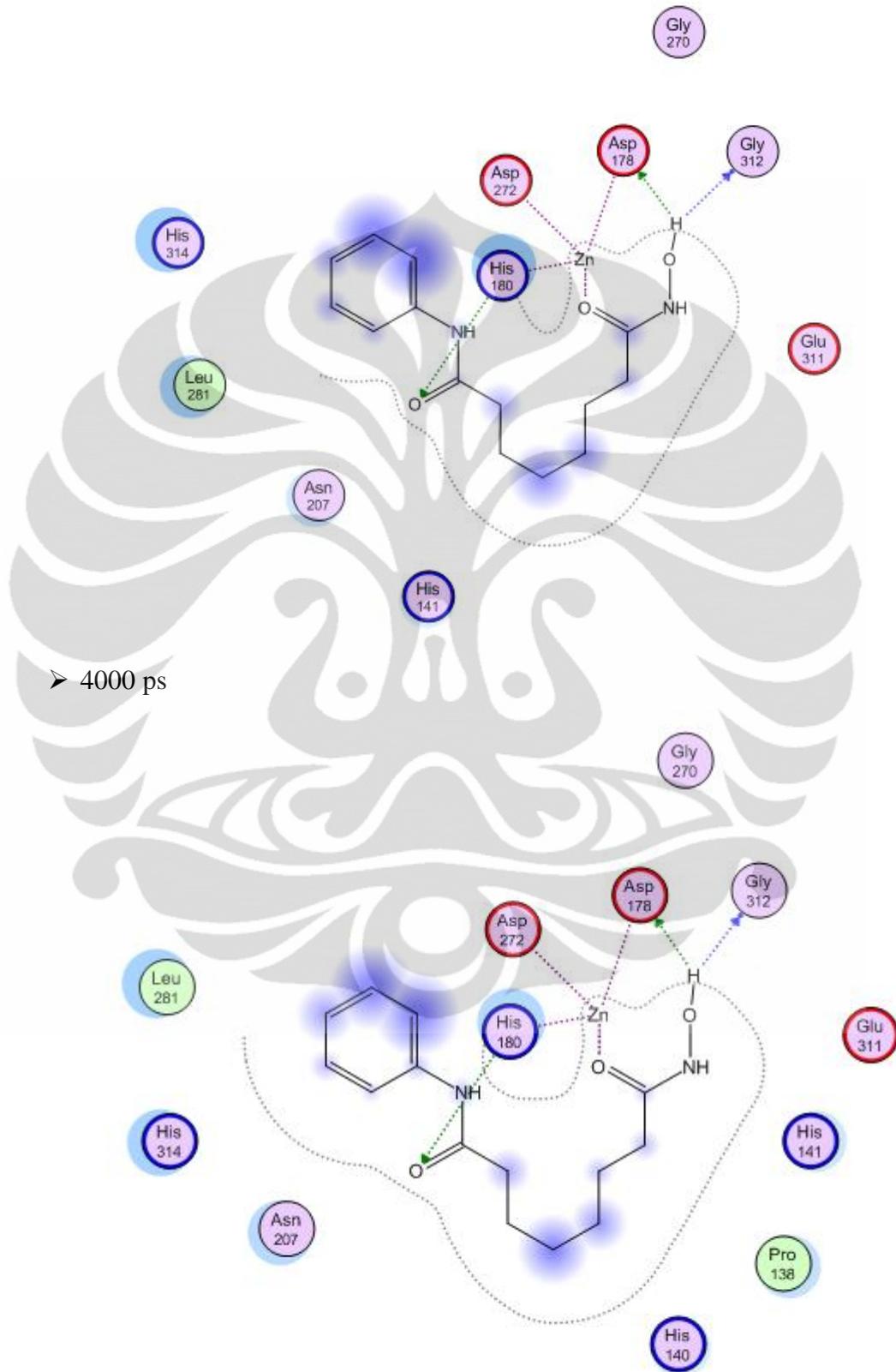
➤ 1000 ps



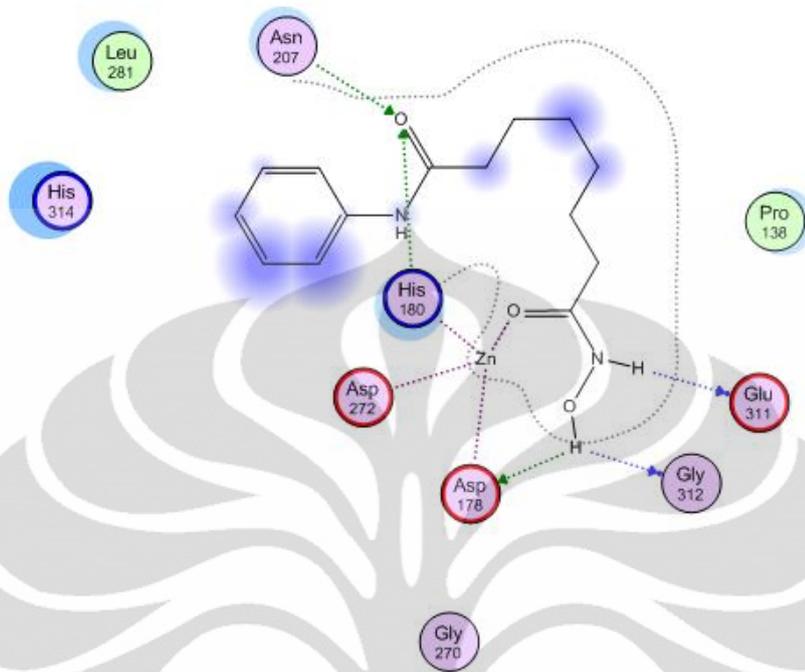
➤ 2000 ps



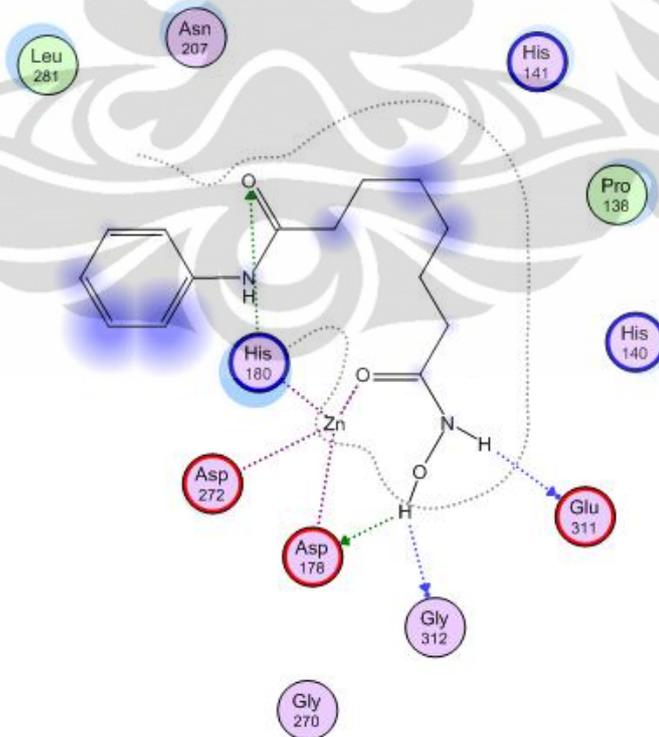
➤ 3000 ps



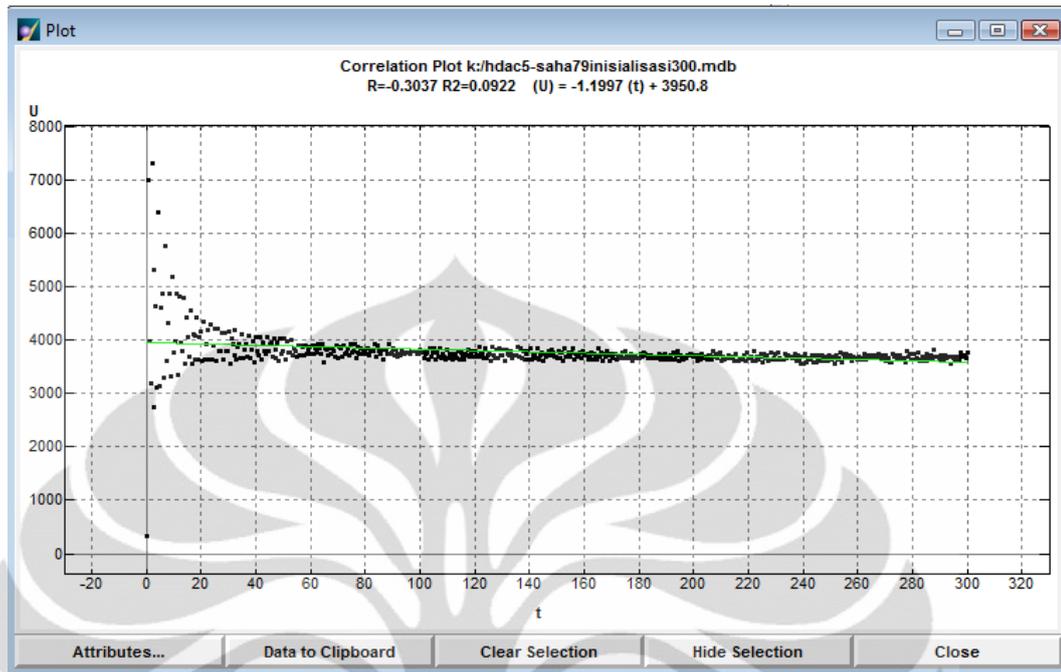
➤ 5000 ps



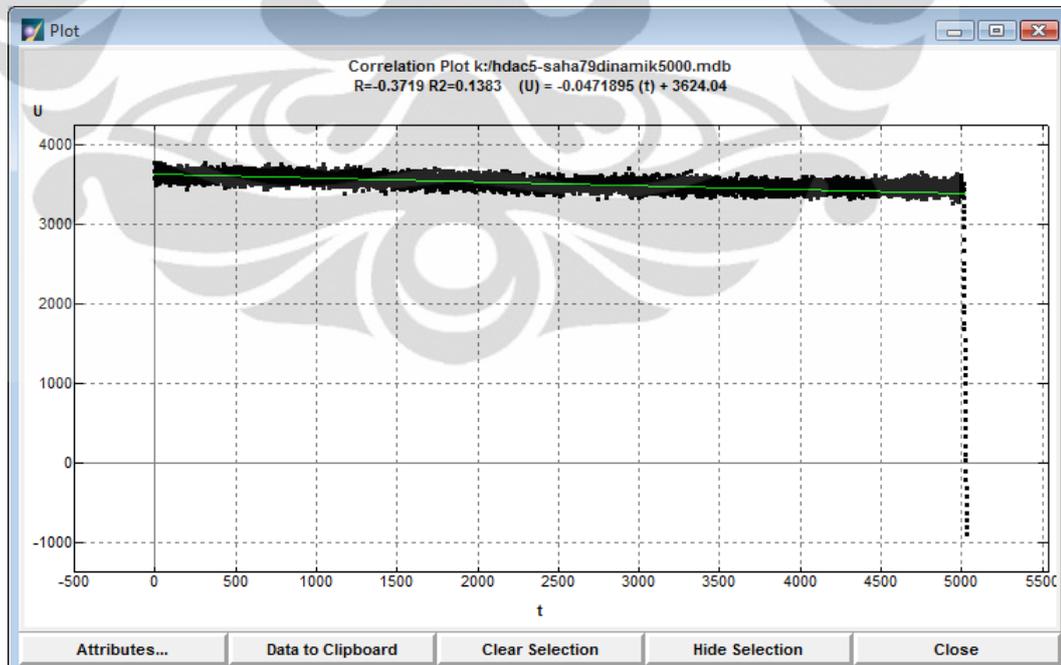
➤ Cooling 20 ps



➤ Grafik kestabilan inisialisasi HDAC 5 - SAHA

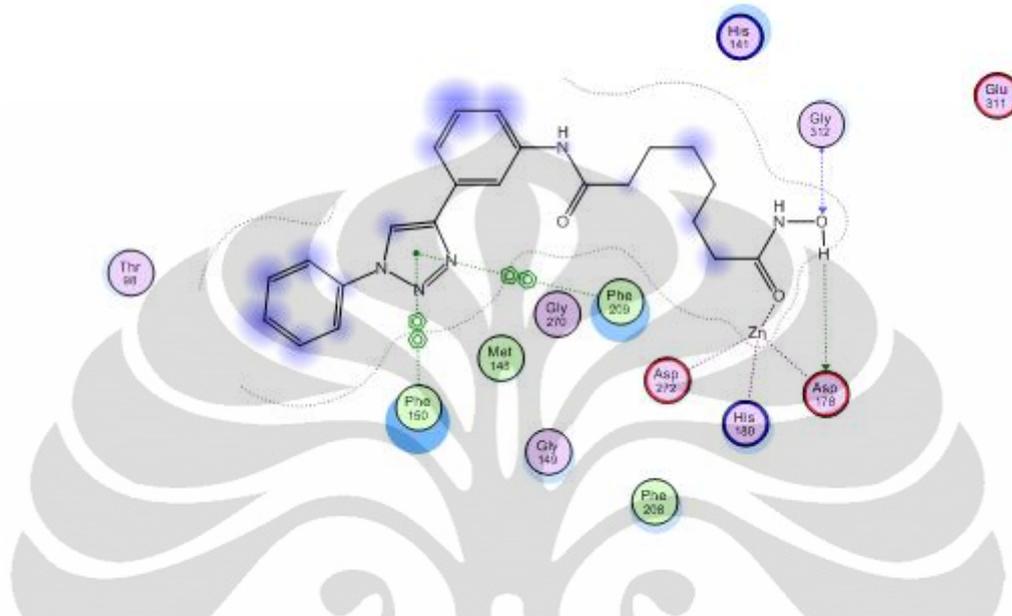


➤ Grafik kestabilan *dynamic* HDAC 5 - SAHA

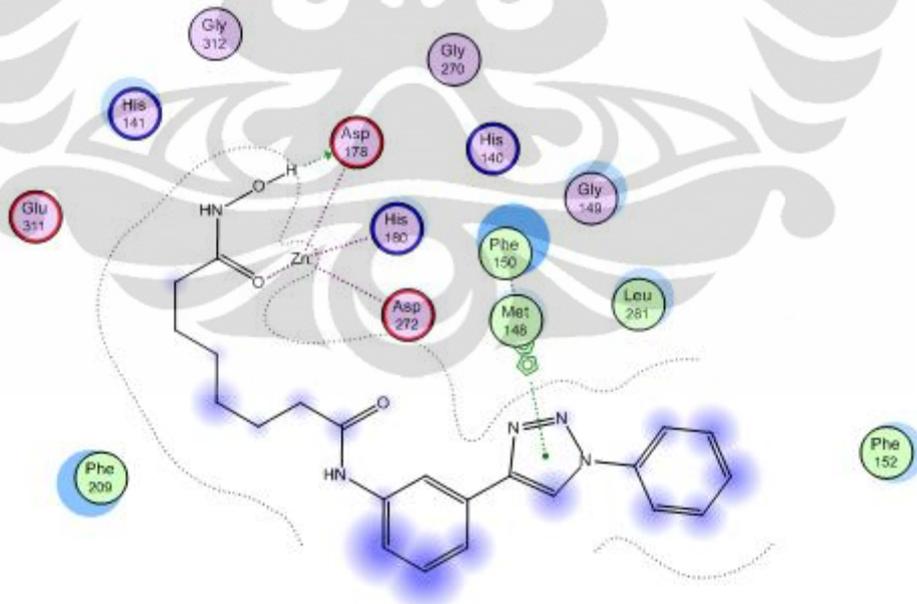


- HDAC 5 - 2a

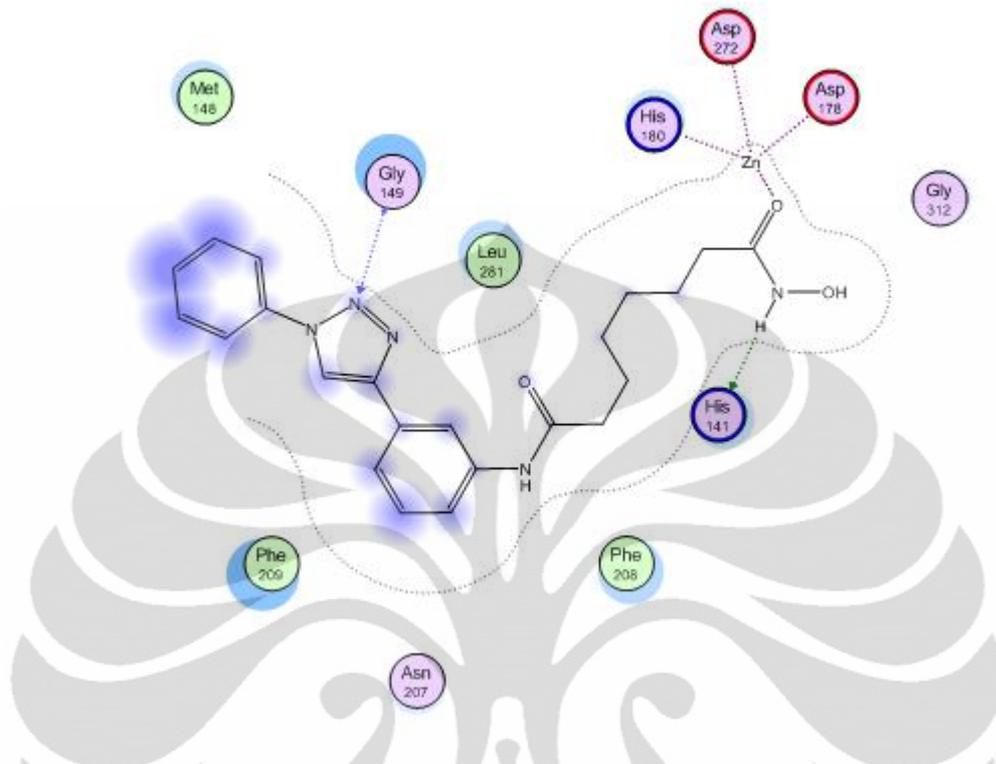
➤ Inisialisasi



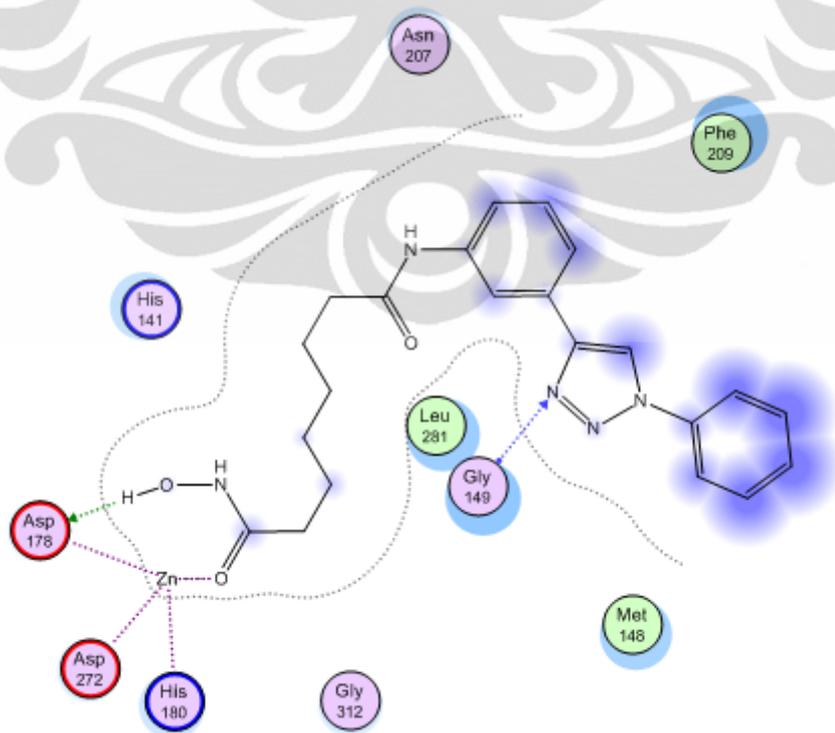
➤ Heating 10 ps



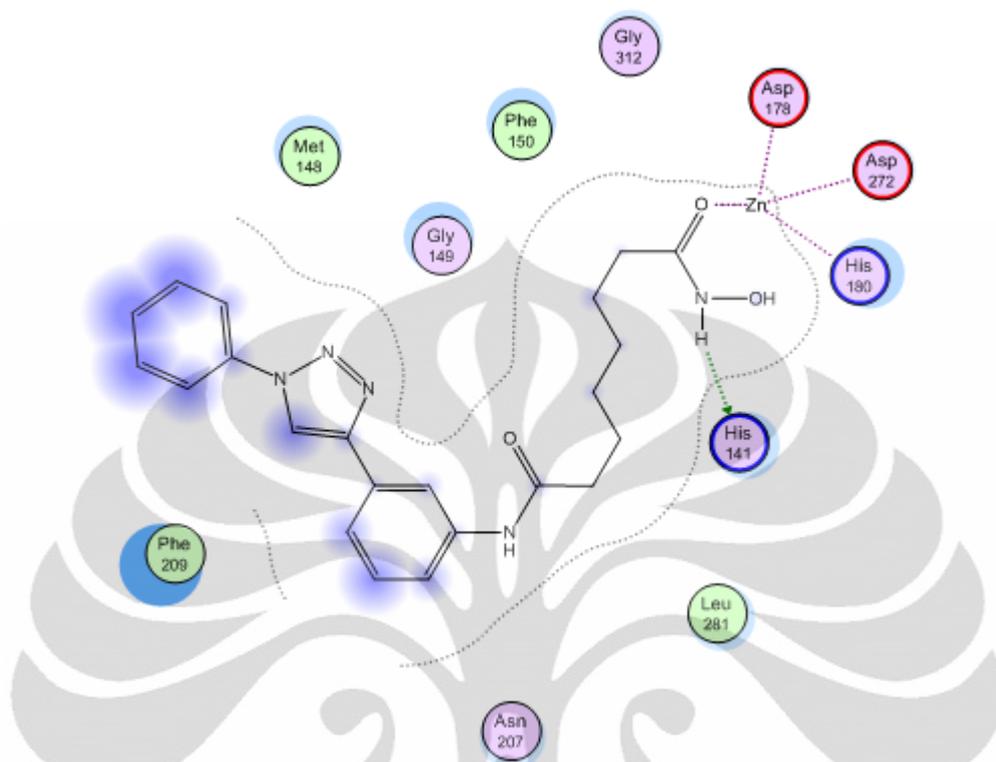
➤ 1000 ps



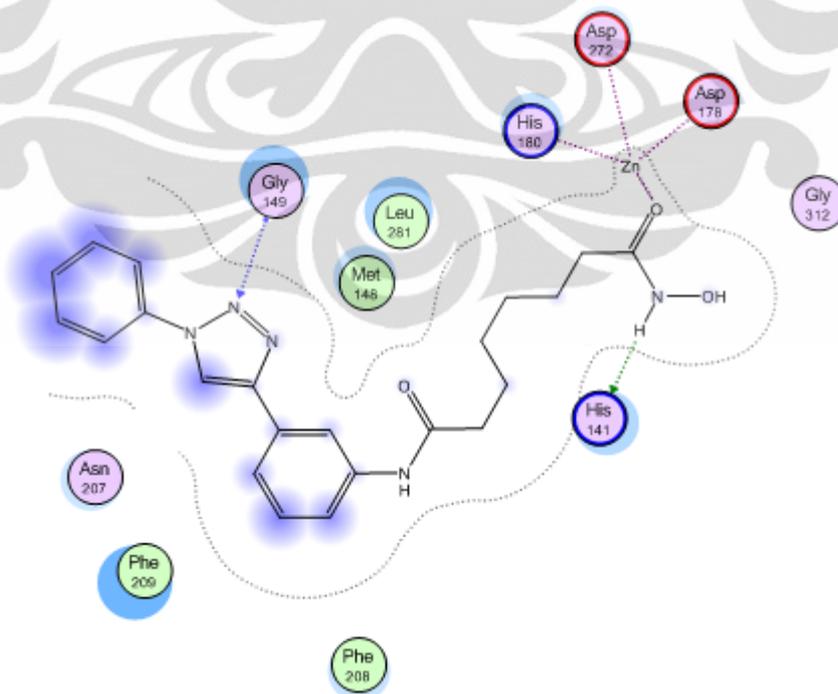
➤ 2000 ps



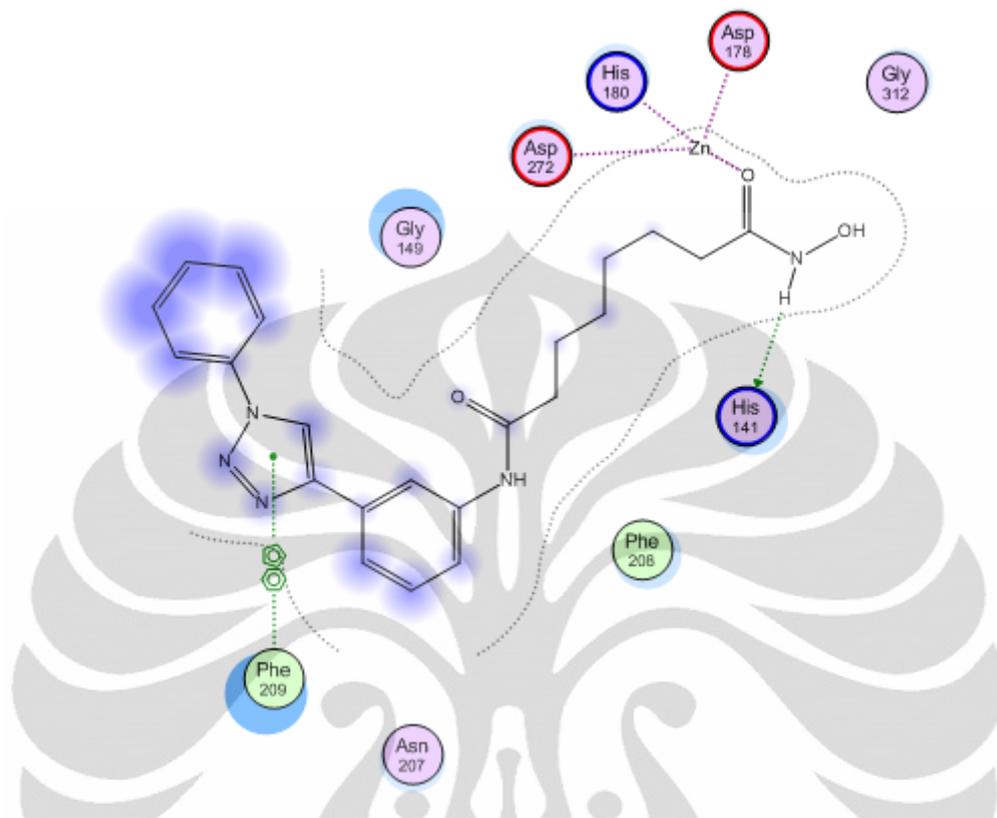
➤ 3000 ps



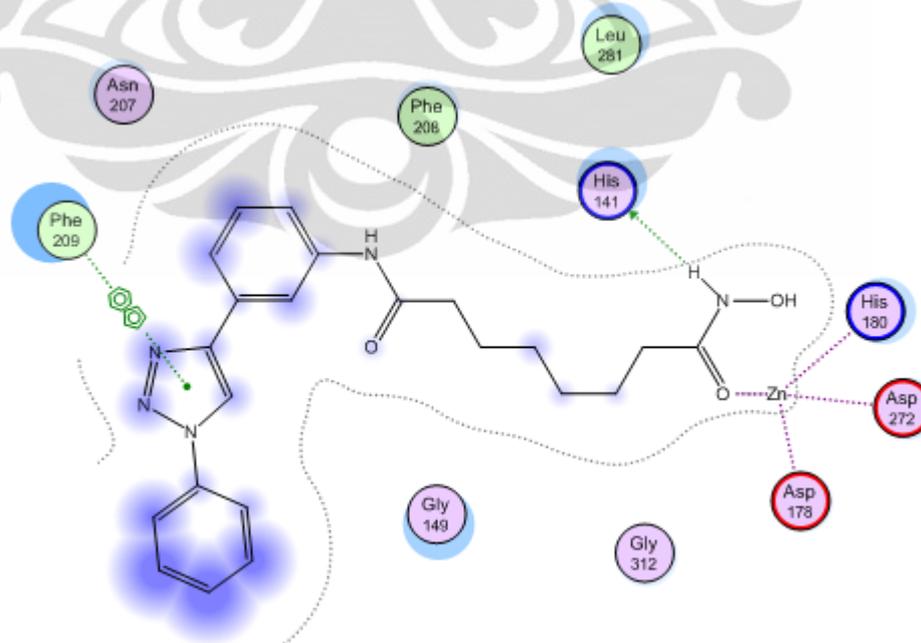
➤ 4000 ps



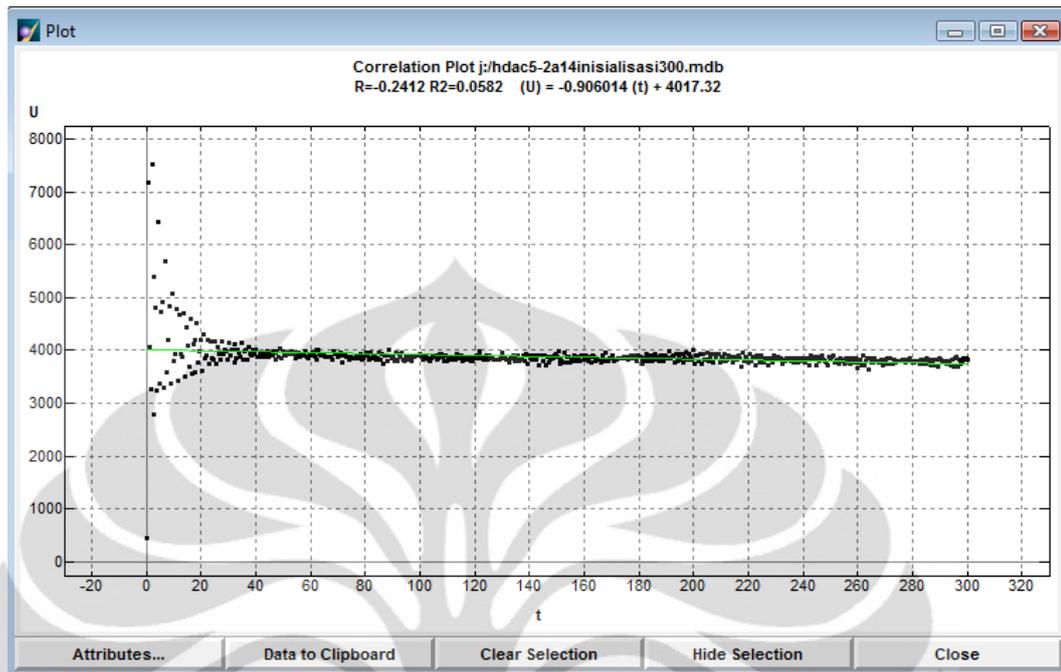
➤ 5000 ps



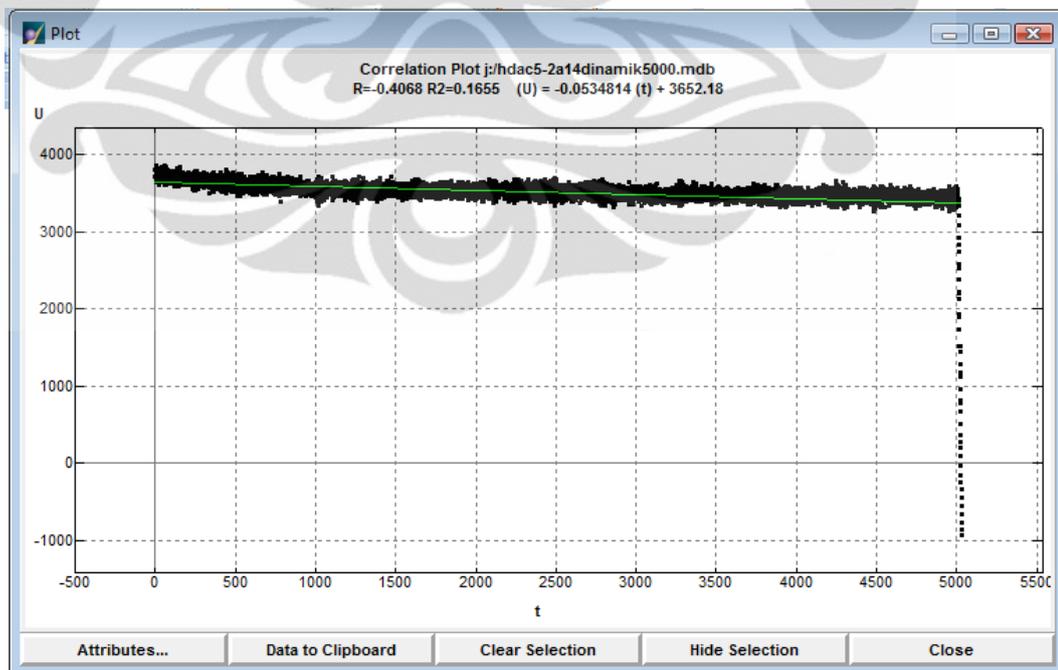
➤ *Cooling* 20 ps



➤ Grafik kestabilan inisialisasi HDAC 5 -2a



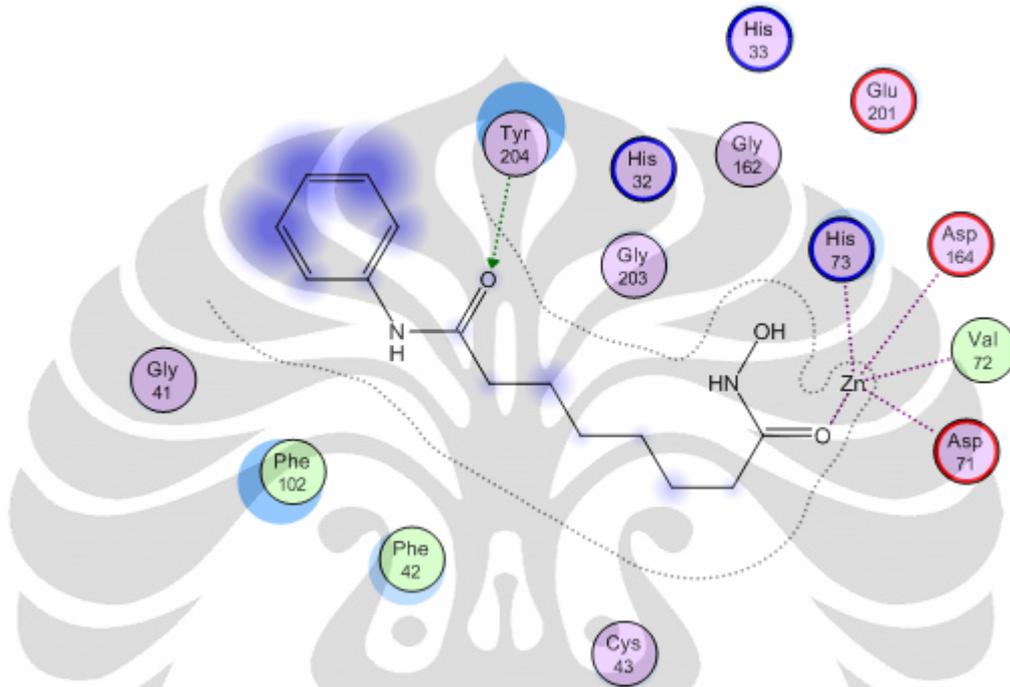
➤ Grafik kestabilan *dynamic* HDAC 5 -2a



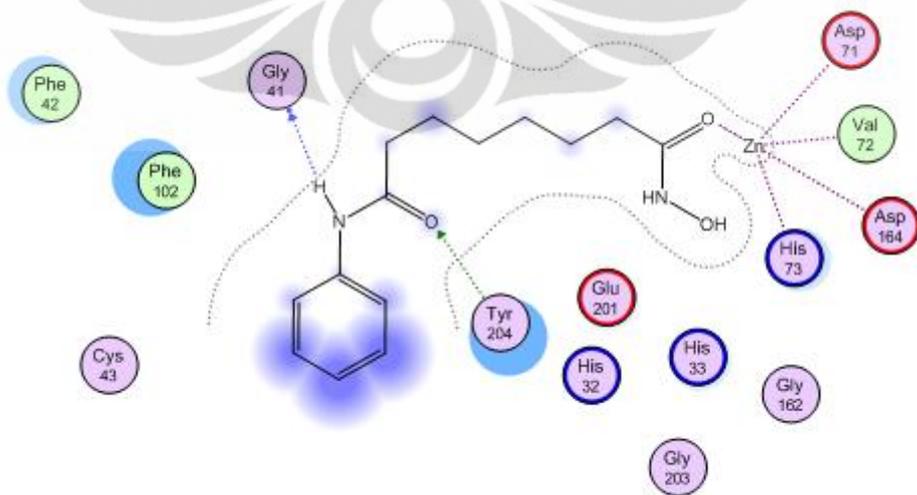
Lampiran 34. Visualisasi 2D Kontak Residu Hasil Simulasi Dinamika Molekul HDAC 6

- HDAC 6 - SAHA

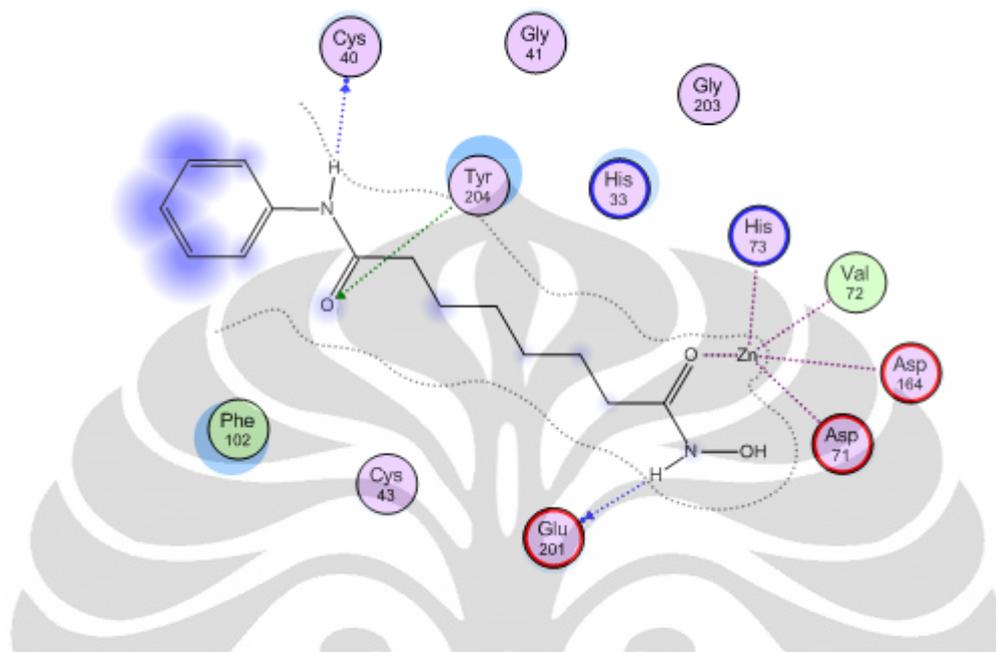
➤ Inisialisasi



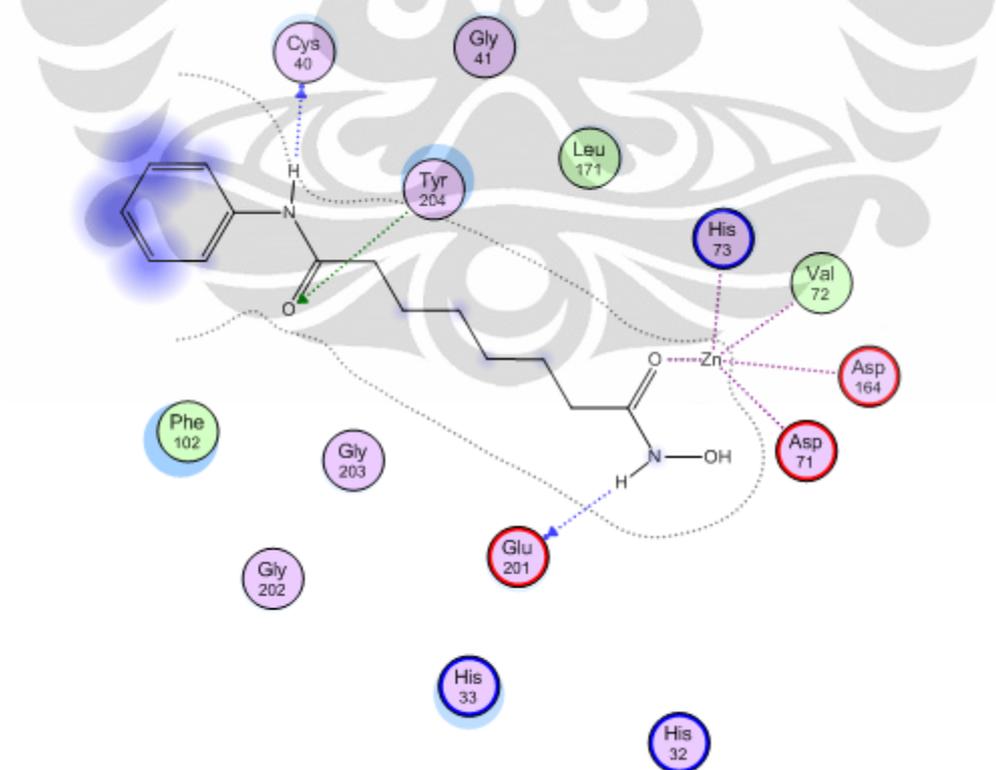
➤ Heating 10 ps



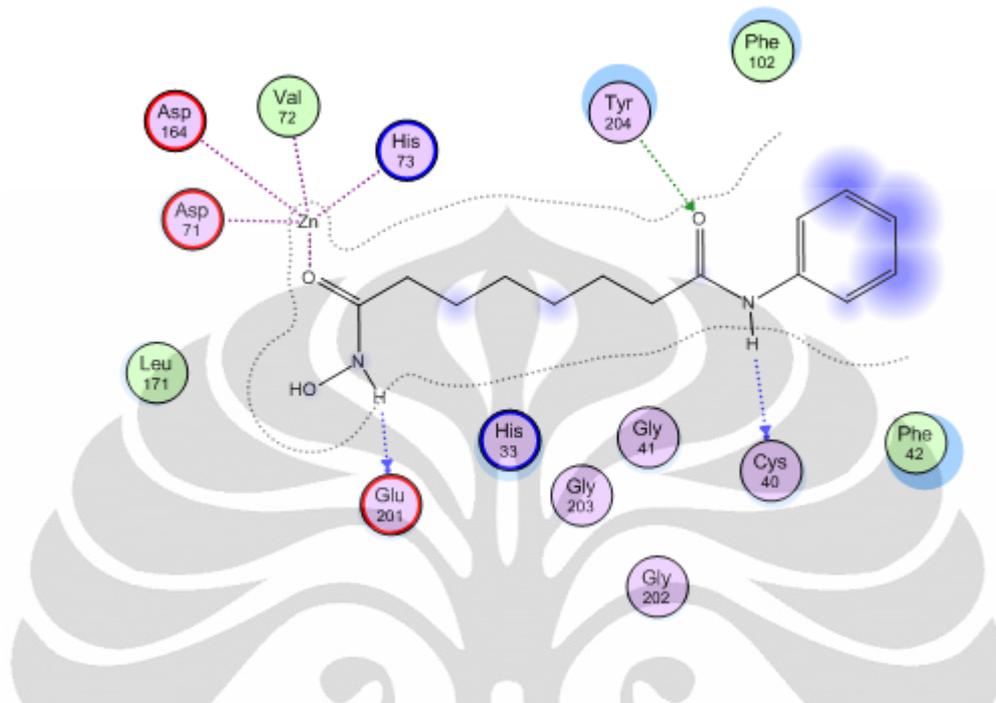
➤ 1000 ps



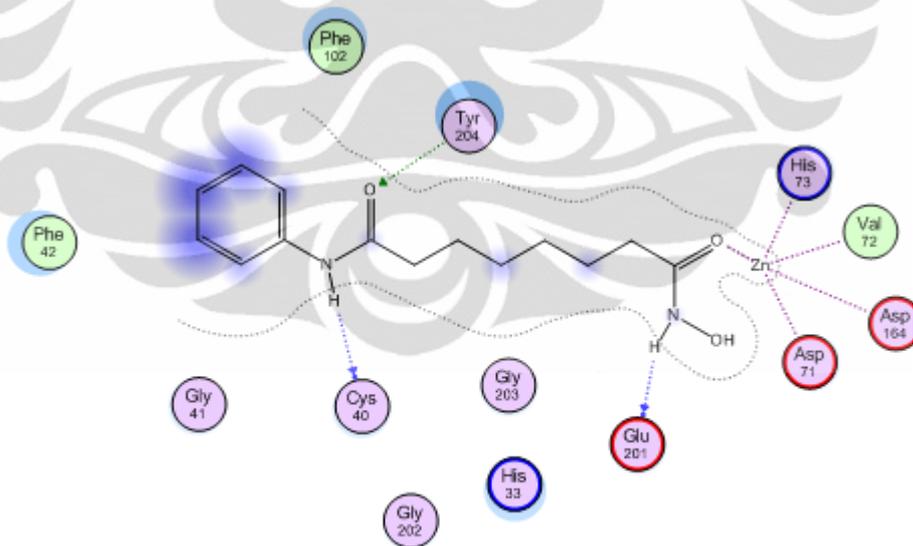
➤ 2000 ps



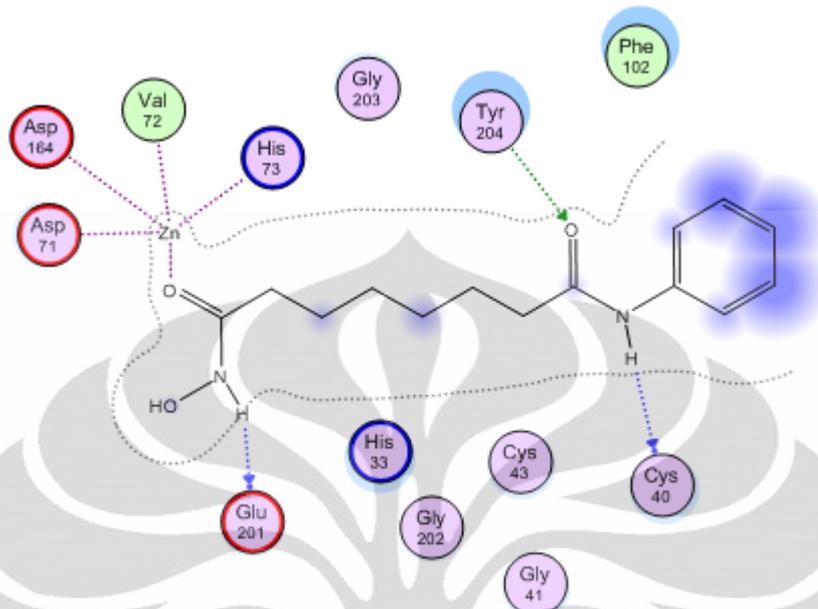
➤ 3000 ps



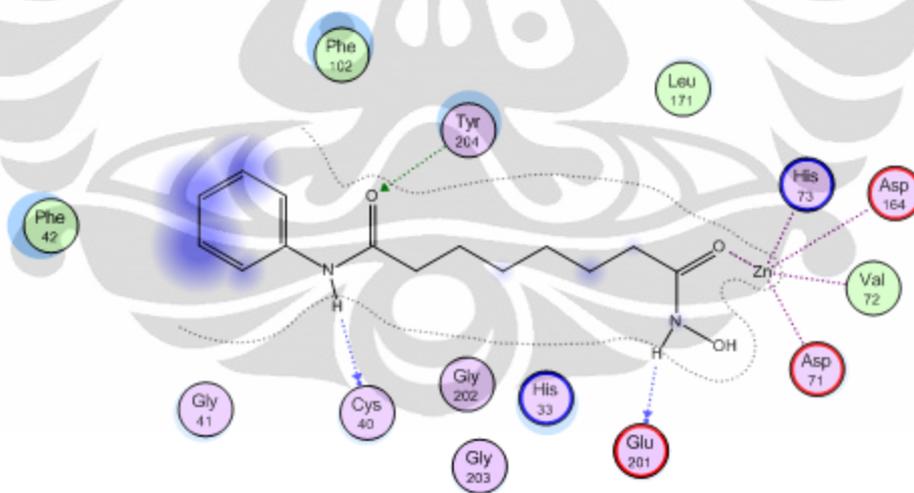
➤ 4000 ps



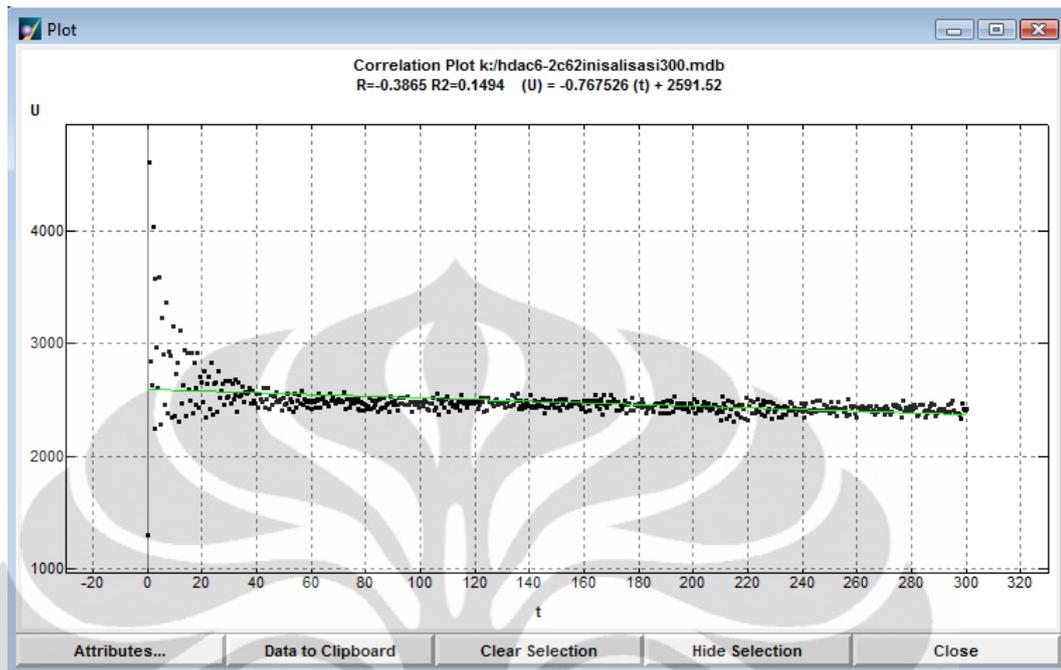
➤ 5000 ps



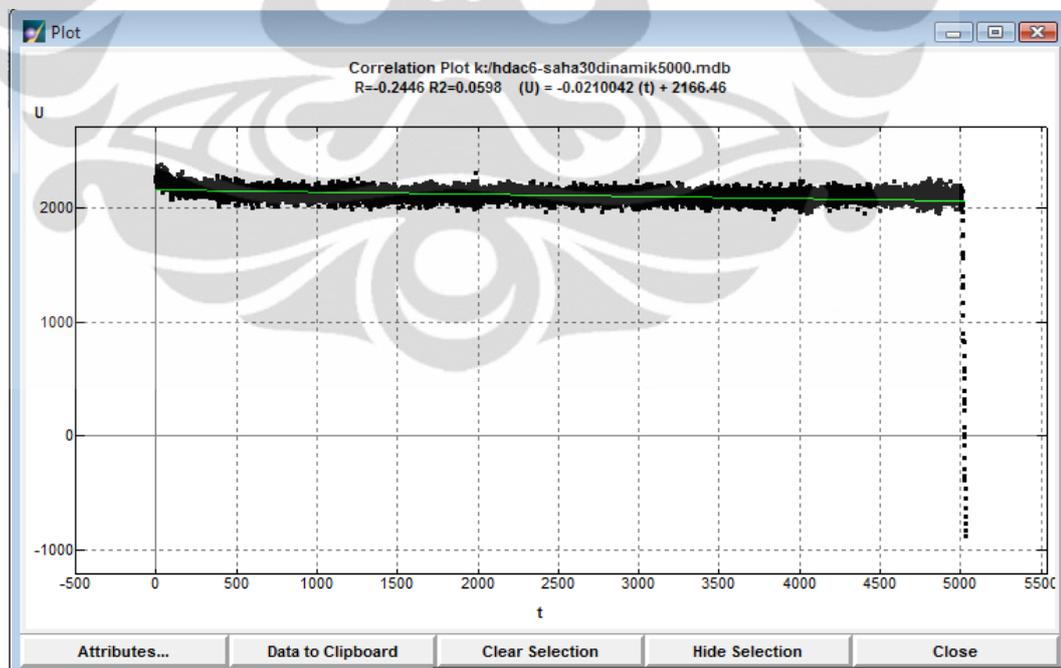
➤ Cooling 20 ps



➤ Grafik kestabilan inisialisasi HDAC 4 - SAHA

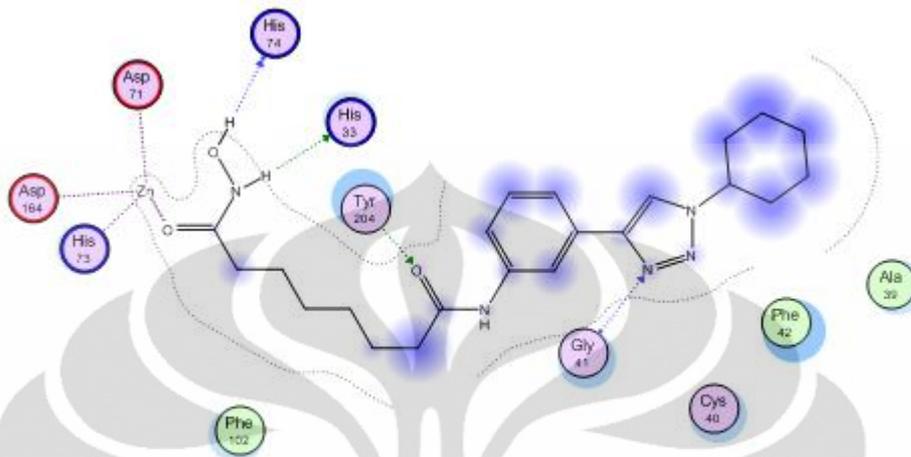


➤ Grafik kestabilan *dynamic* HDAC 4 - SAHA

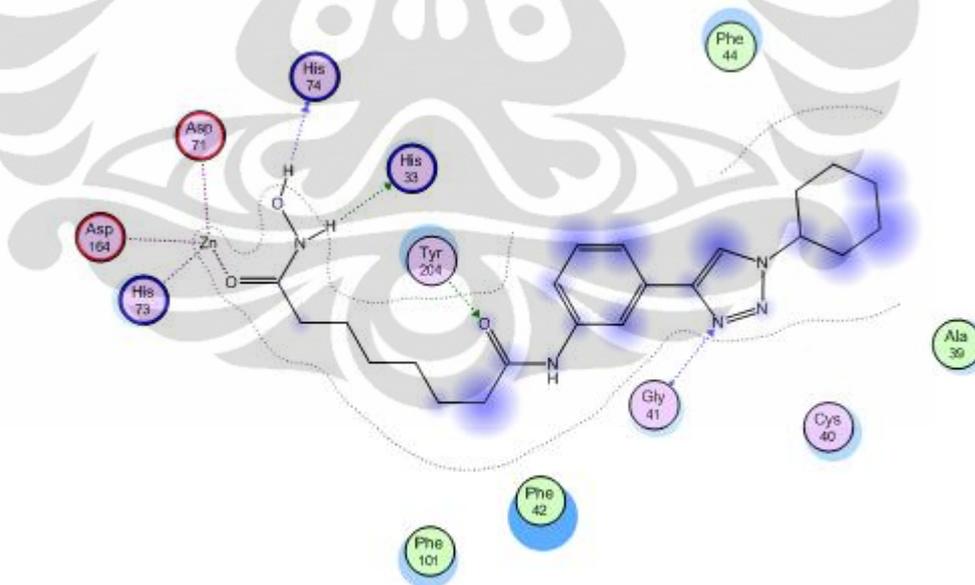


- HDAC 6 - 2c

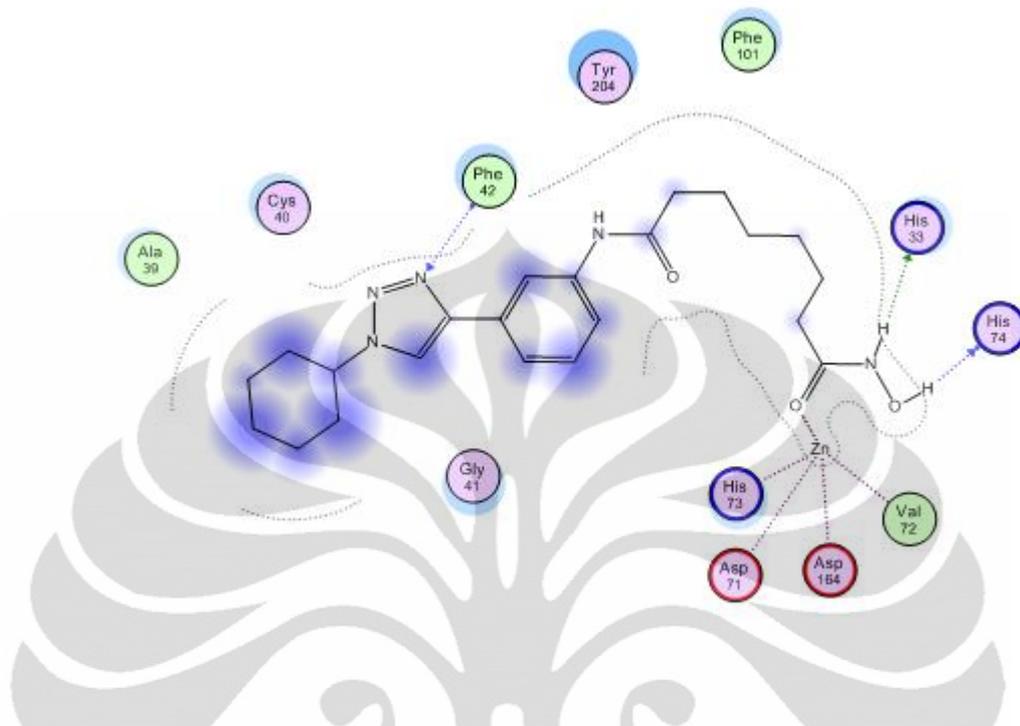
➤ Inisialisasi



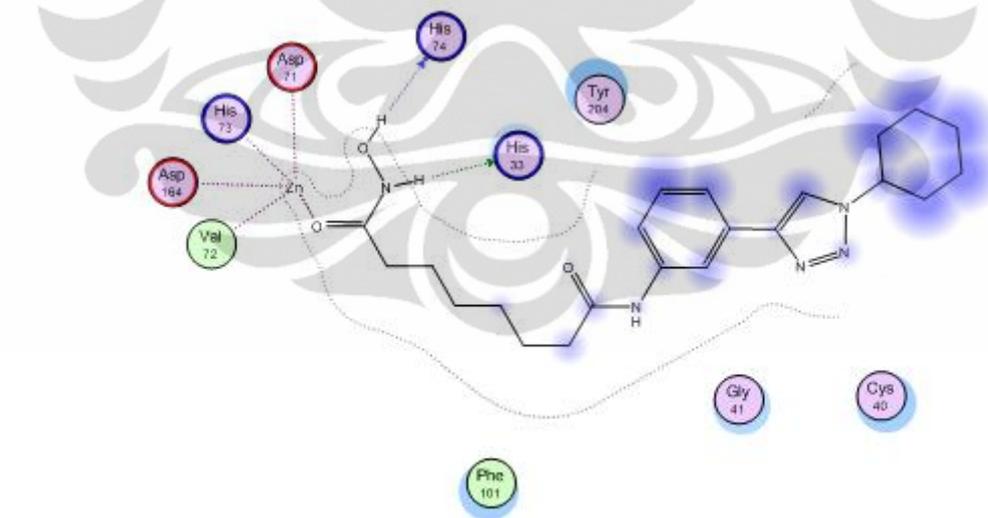
➤ Heating 10 ps



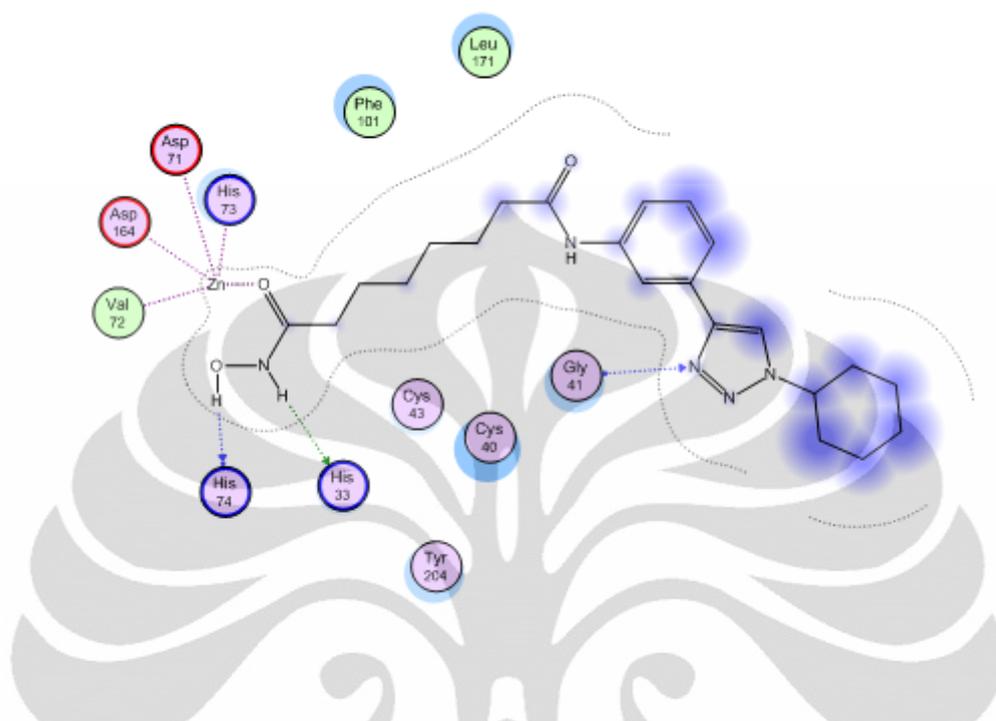
➤ 1000 ps



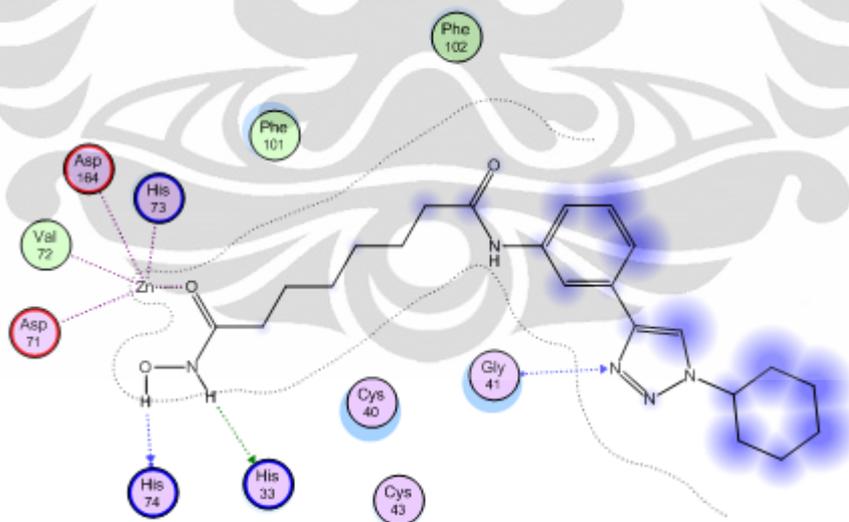
➤ 2000 ps



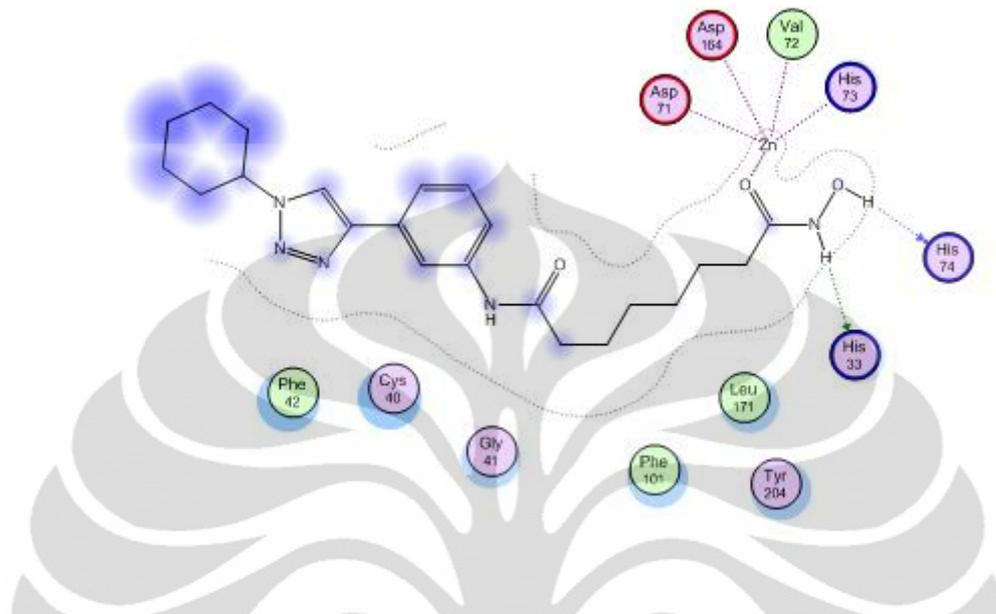
➤ 3000 ps



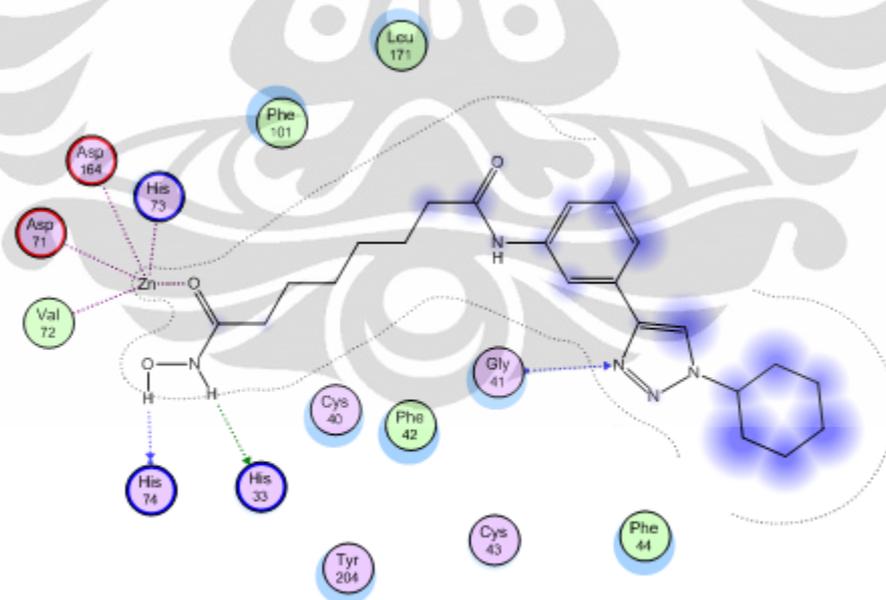
➤ 4000 ps



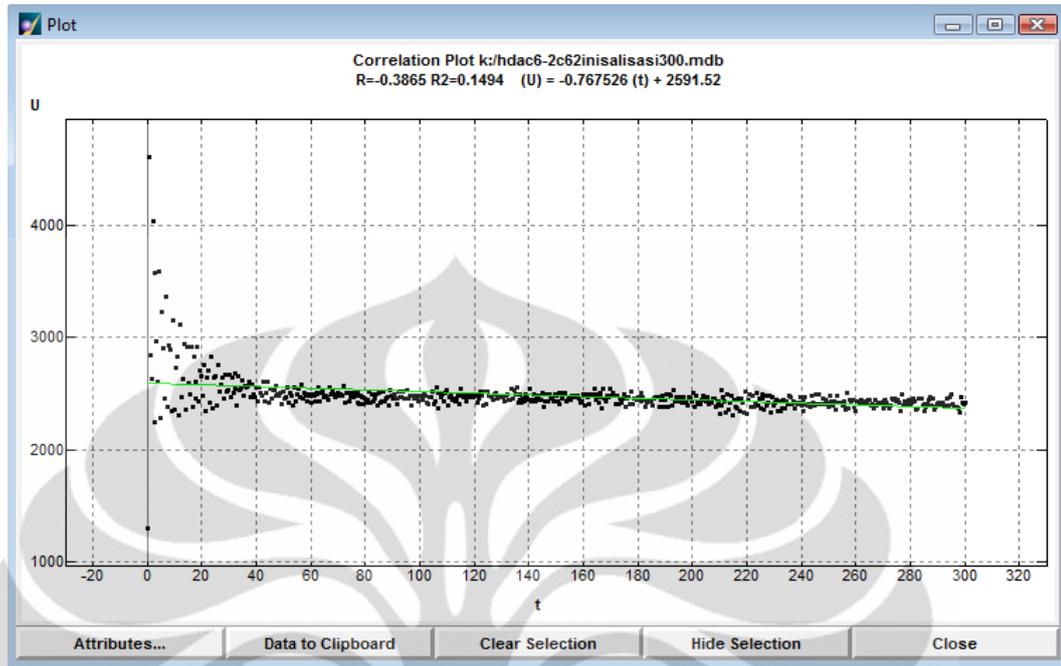
➤ 5000 ps



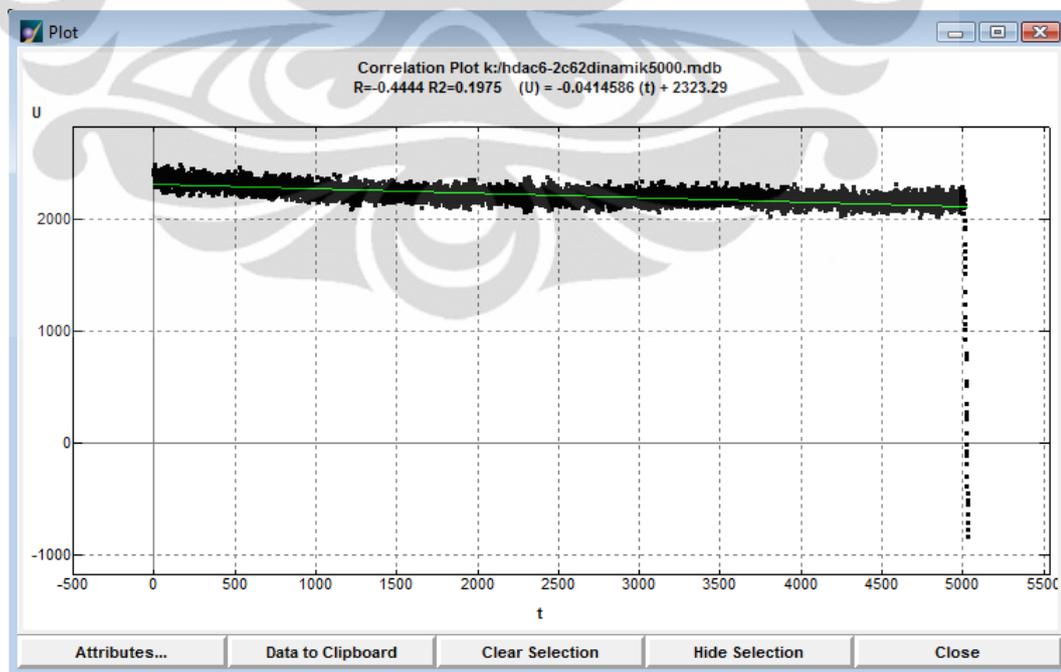
➤ *Cooling* 20 ps



➤ Grafik kestabilan inisialisasi HDAC 6 -2c



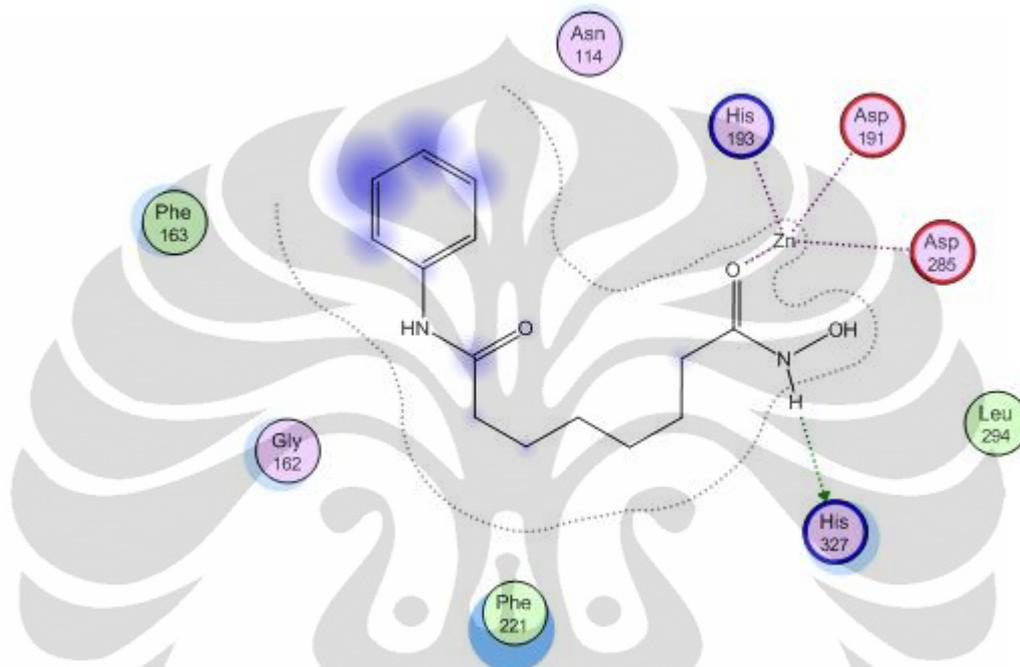
➤ Grafik kestabilan *dynamic* HDAC 6 -2c



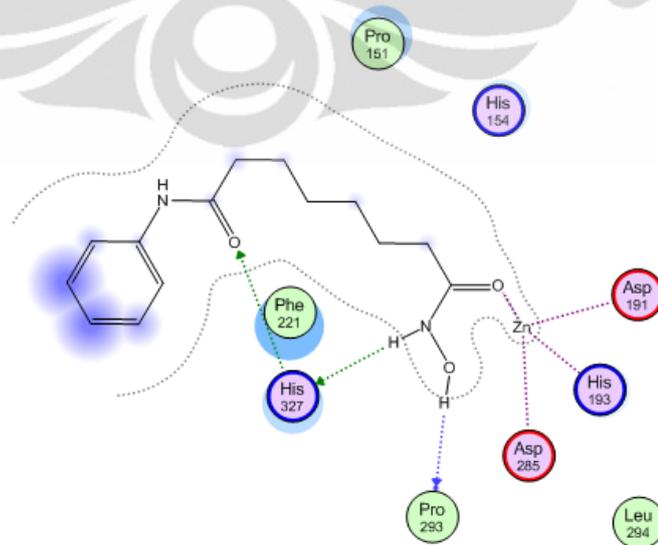
Lampiran 35. Visualisasi 2D Kontak Residu Hasil Simulasi Dinamika Molekul HDAC 7

- HDAC 7 - SAHA

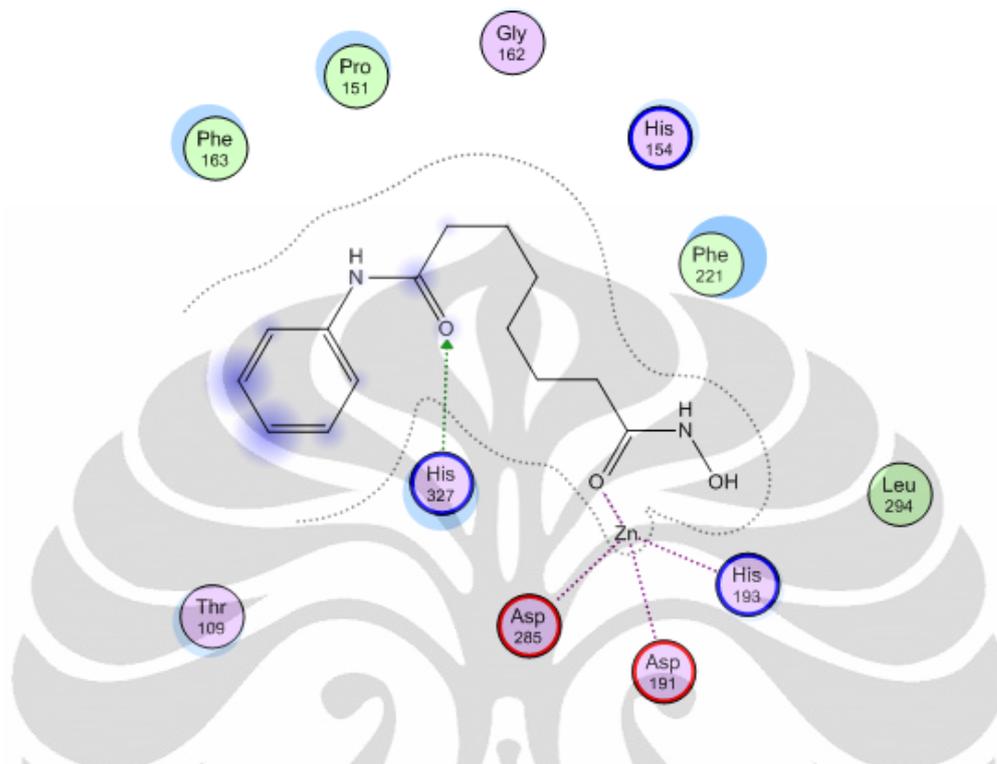
➤ Inisialisasi



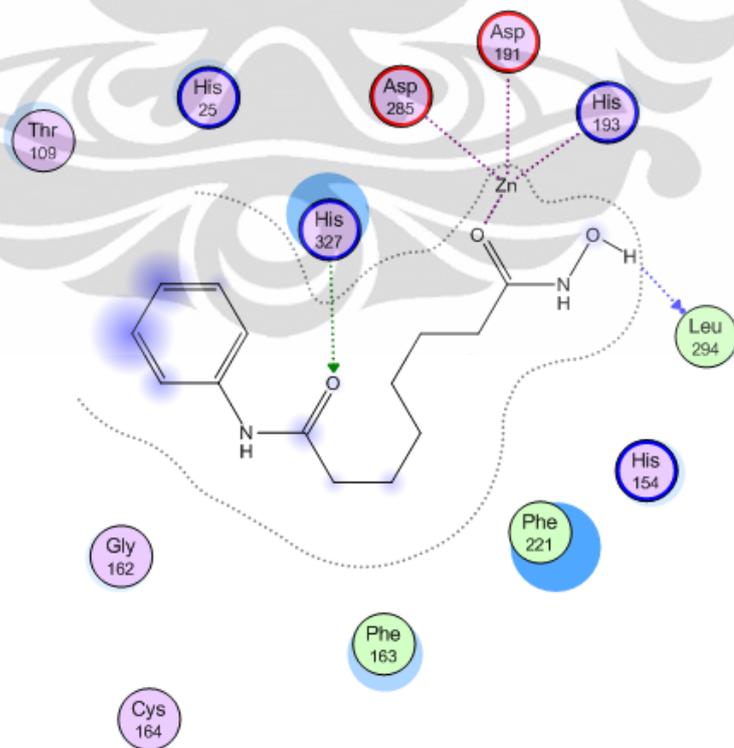
➤ Heating 10 ps



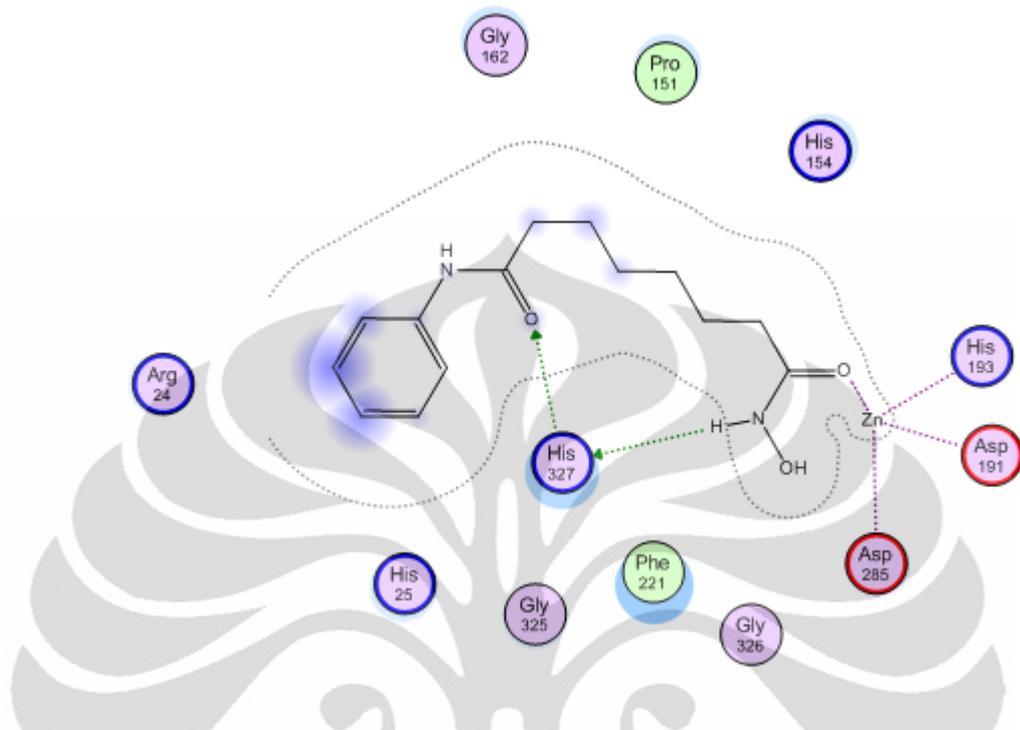
➤ 1000 ps



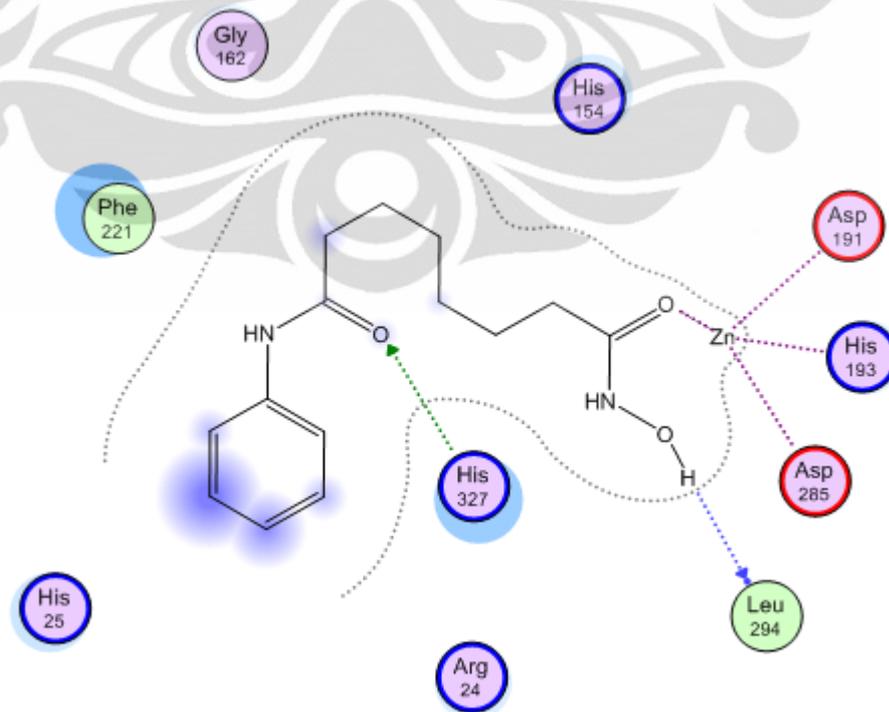
➤ 2000 ps



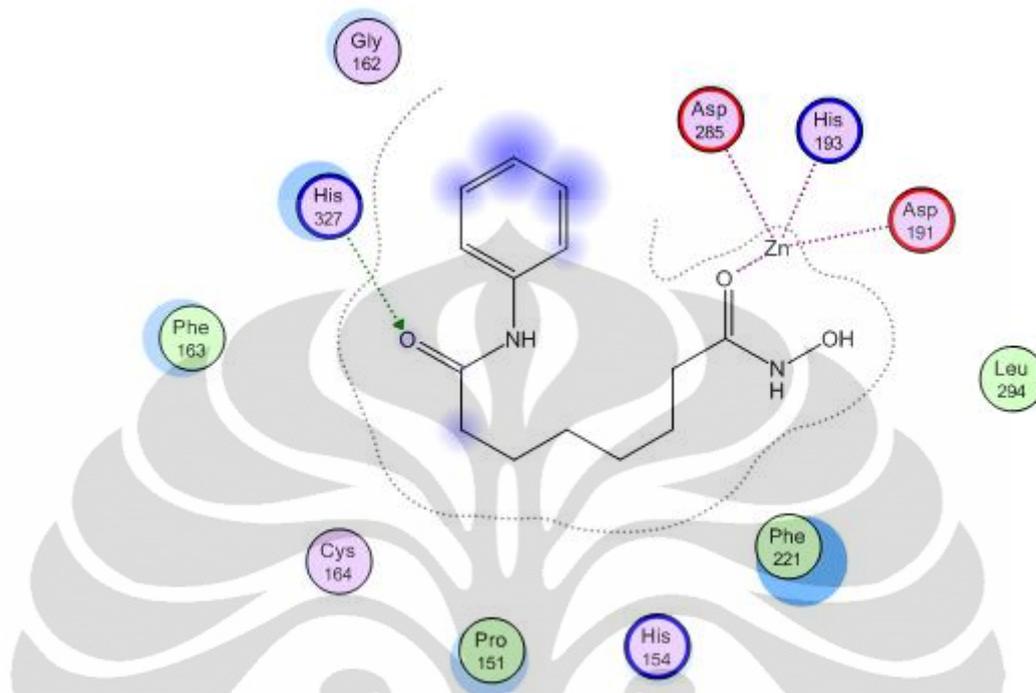
➤ 3000 ps



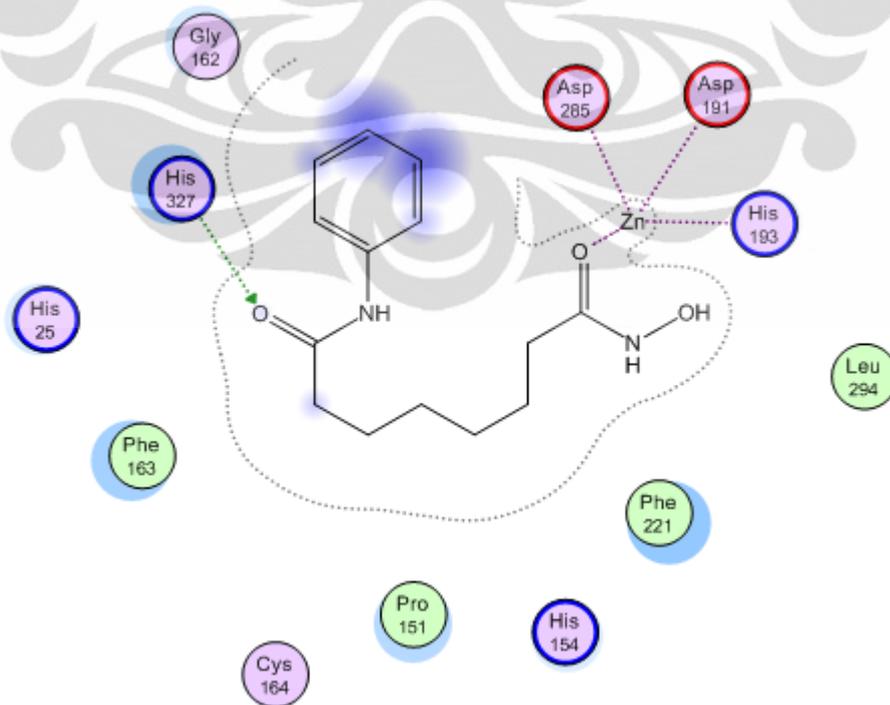
➤ 4000 ps



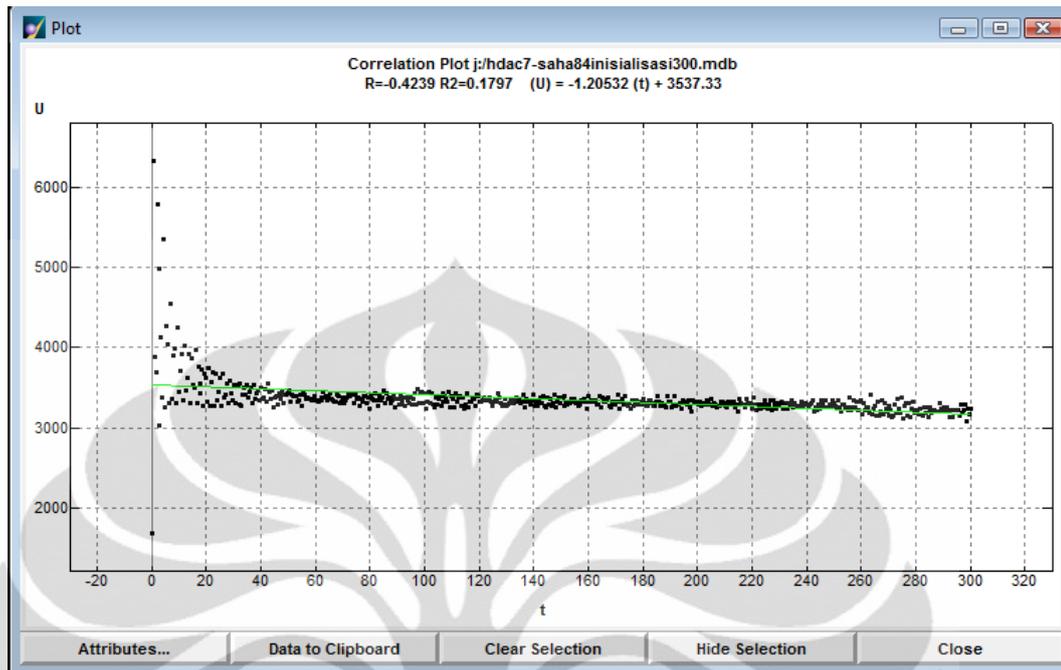
➤ 5000 ps



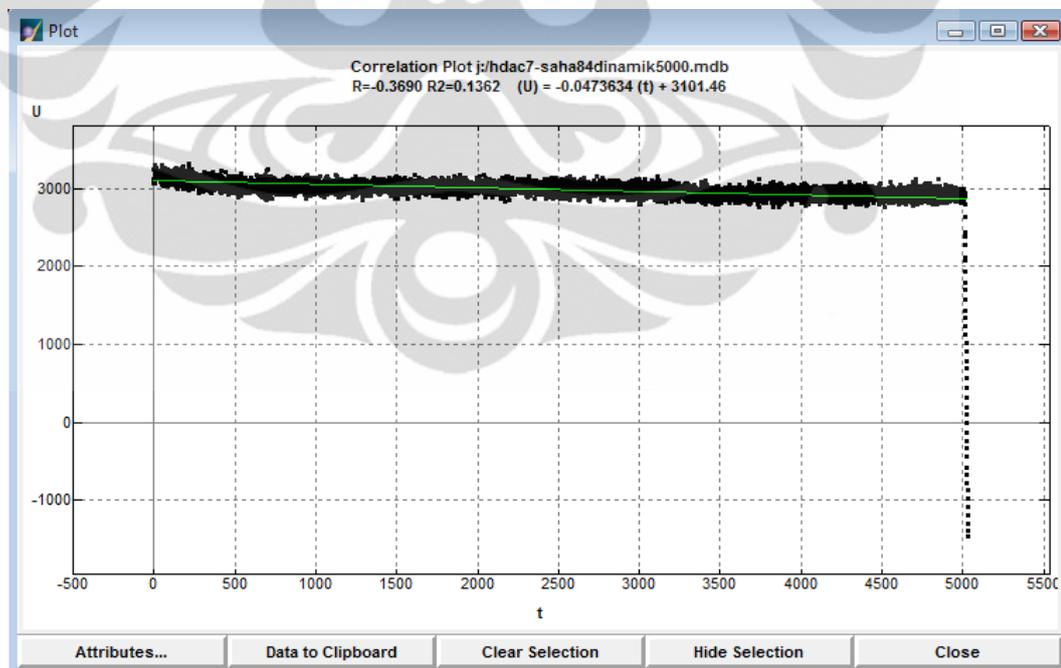
➤ *Cooling* 20 ps



➤ Grafik kestabilan inisialisasi HDAC 7 - SAHA

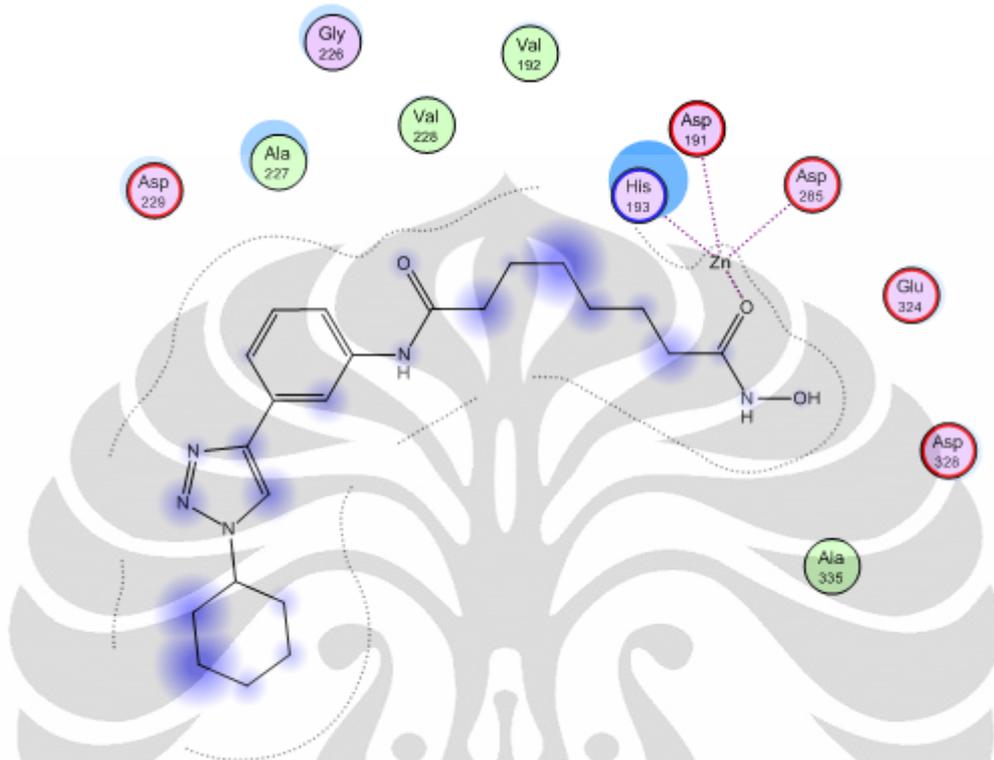


➤ Grafik kestabilan *dynamic* HDAC 7 - SAHA

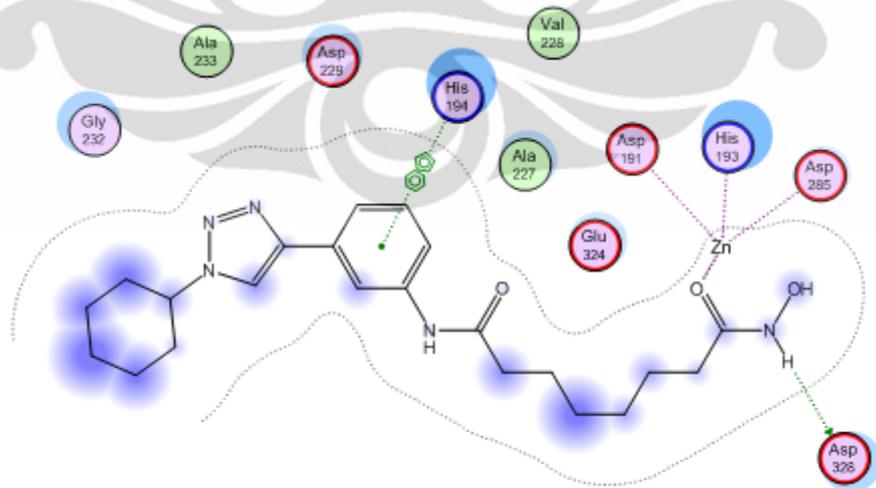


- HDAC 7 - 2c

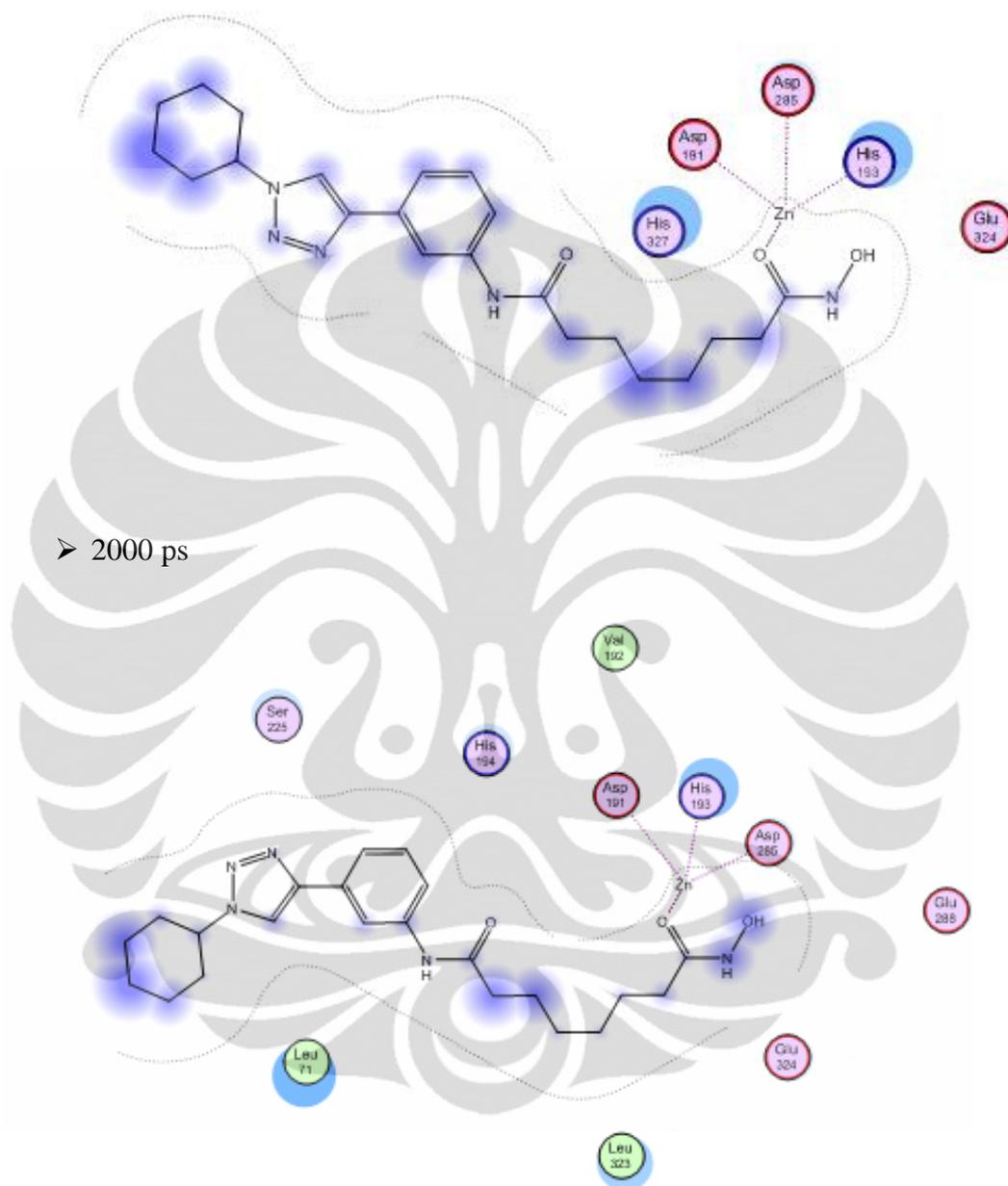
➤ Inisialisasi



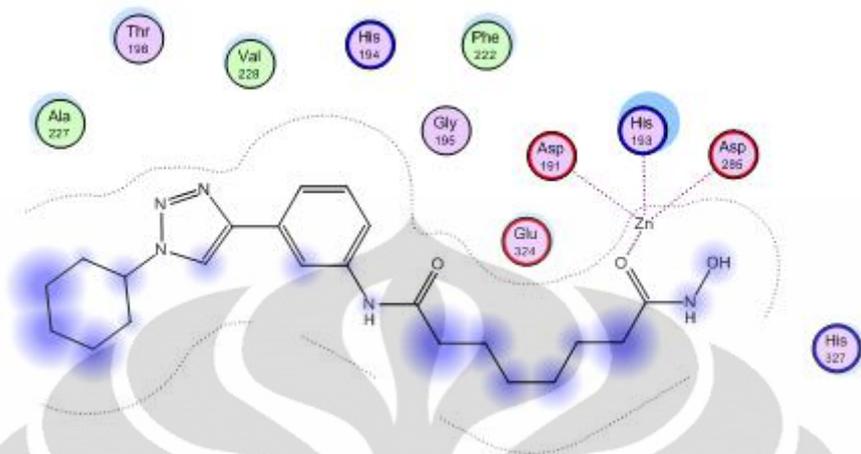
➤ Heating 10 ps



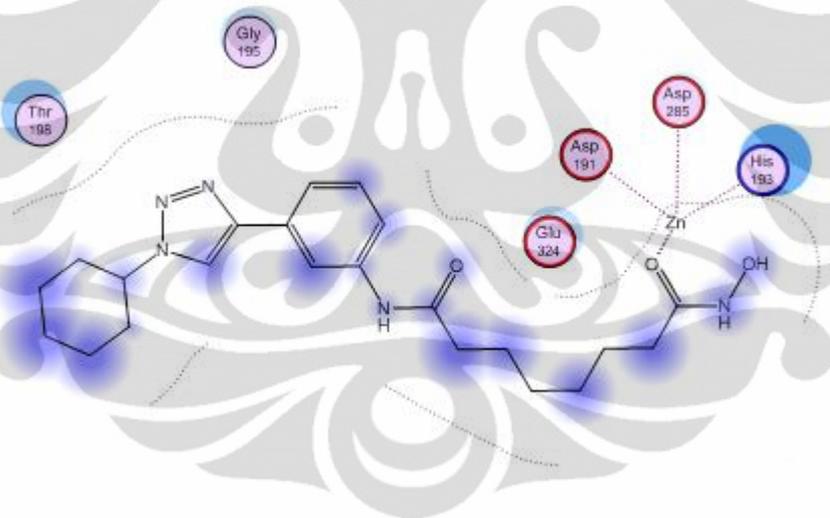
➤ 1000 ps



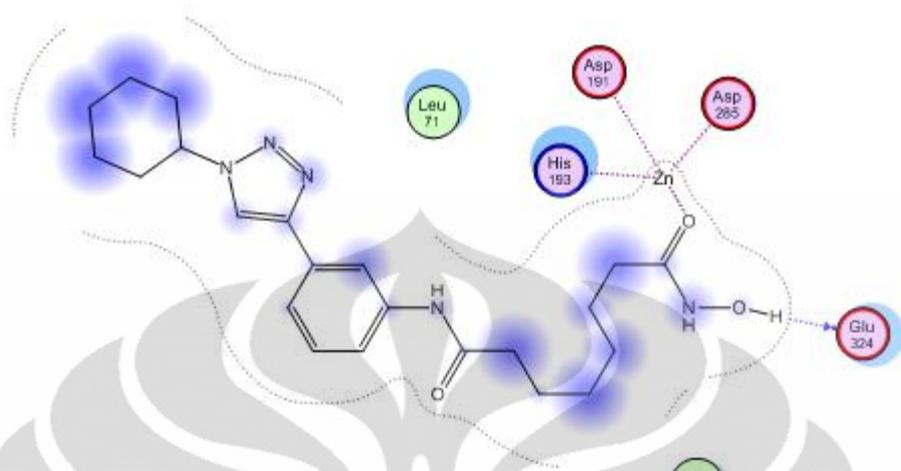
➤ 3000 ps



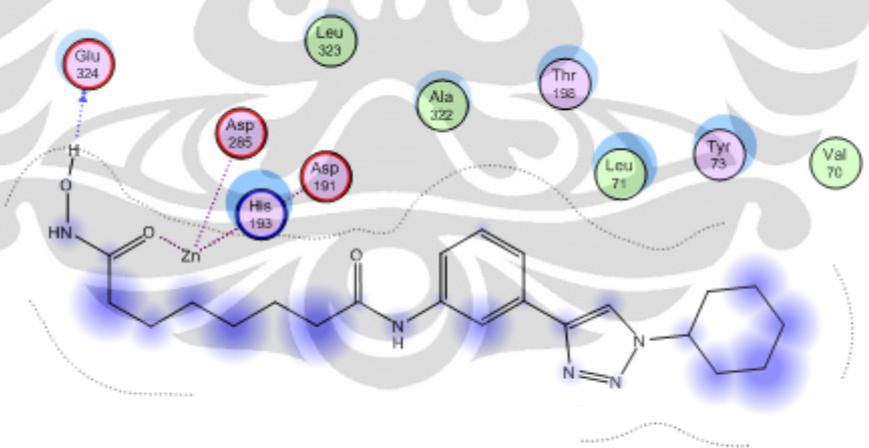
➤ 4000 ps



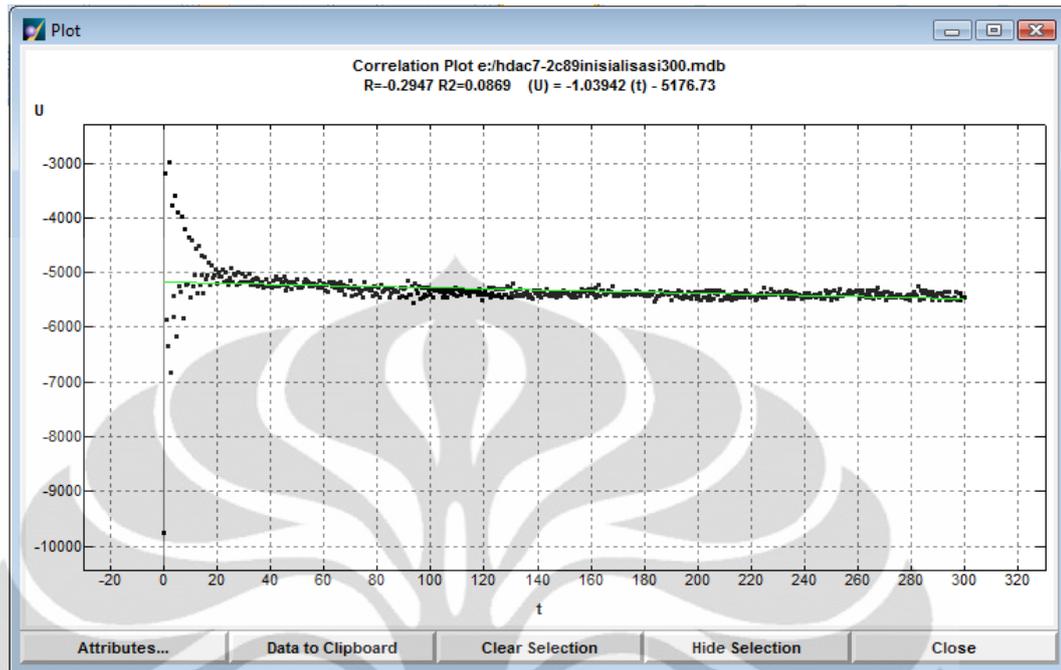
➤ 5000 ps



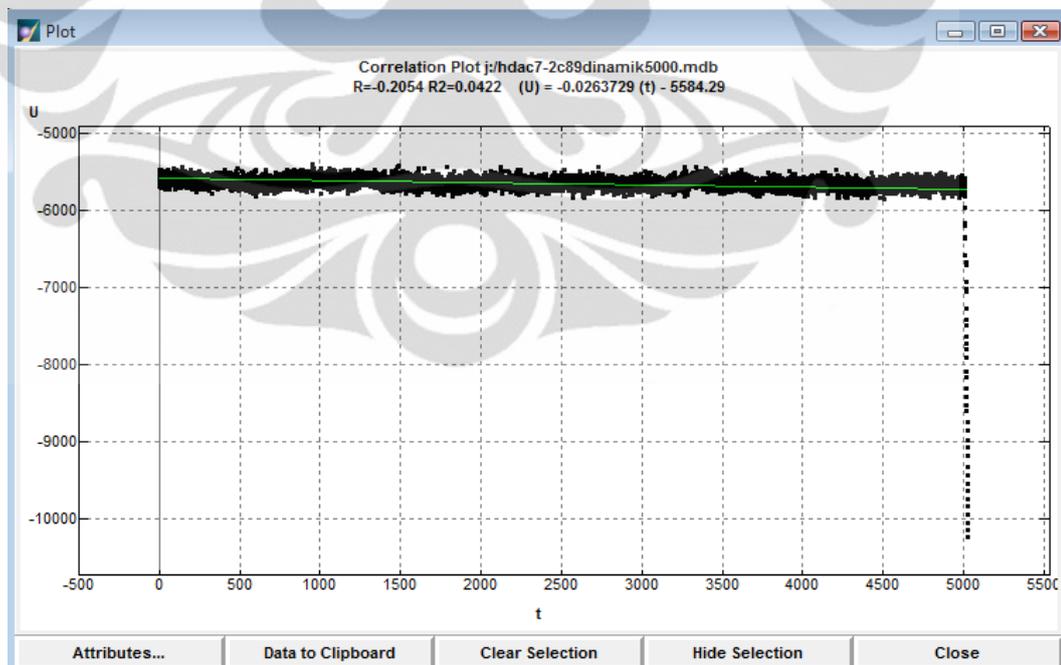
➤ *Cooling* 20 ps



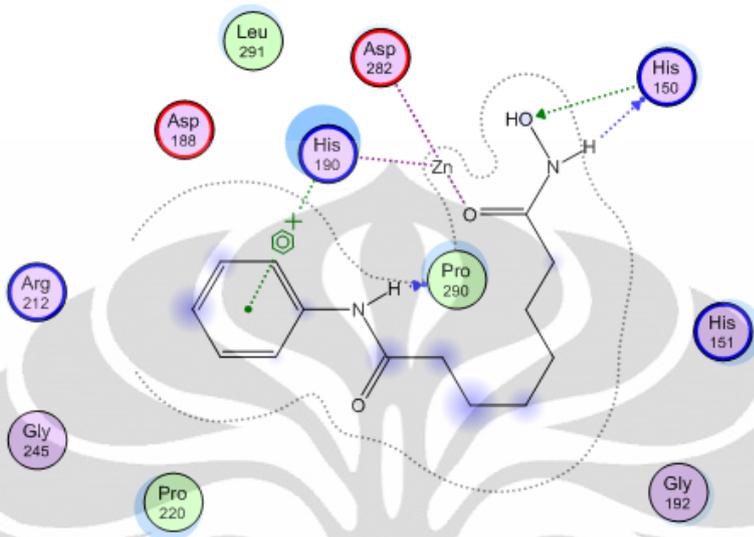
➤ Grafik kestabilan inisialisasi HDAC 7 -2c



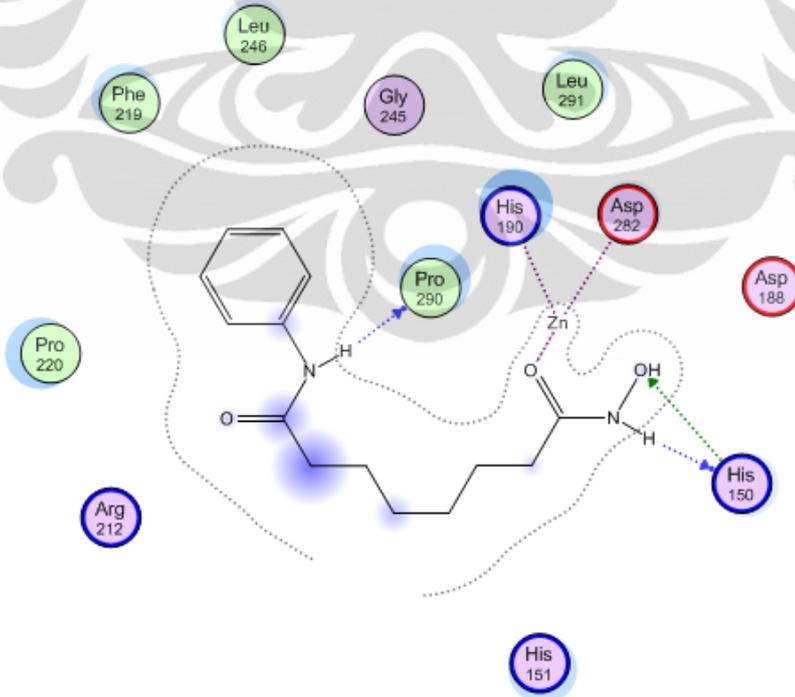
➤ Grafik kestabilan *dynamic* HDAC 7- 2c



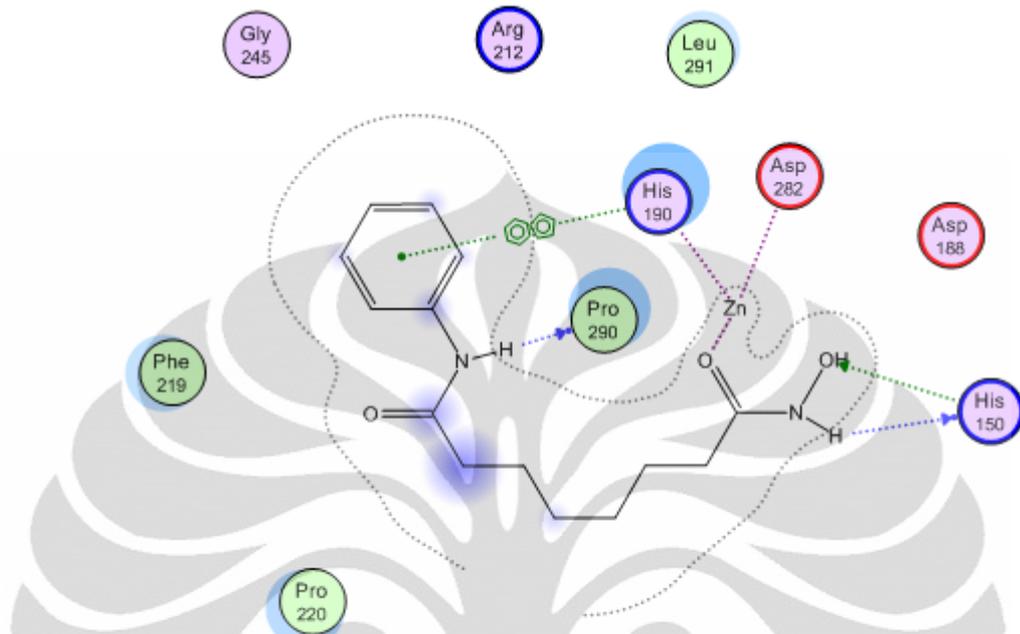
➤ 1000 ps



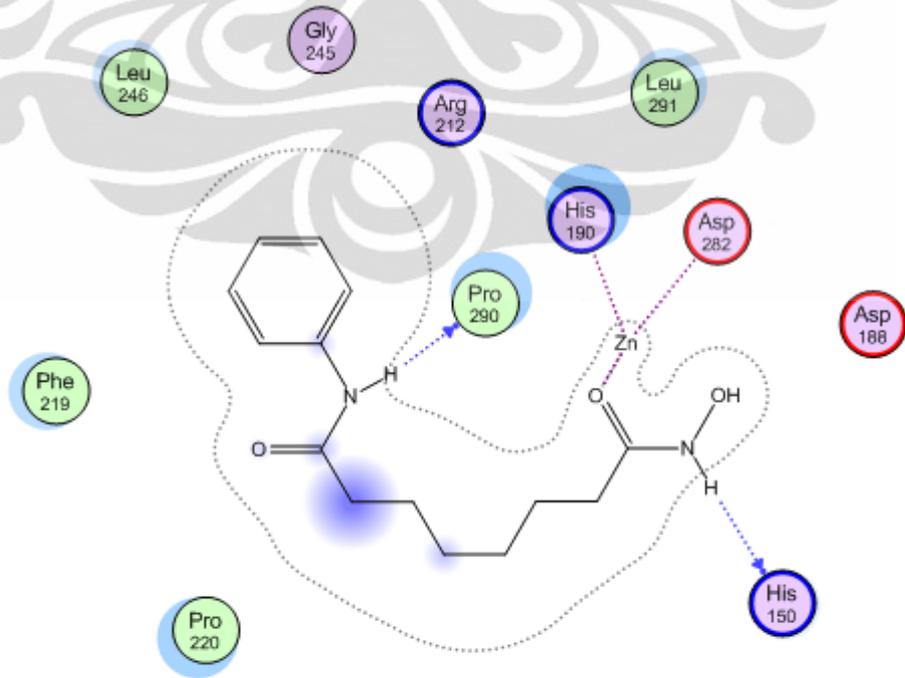
➤ 2000 ps



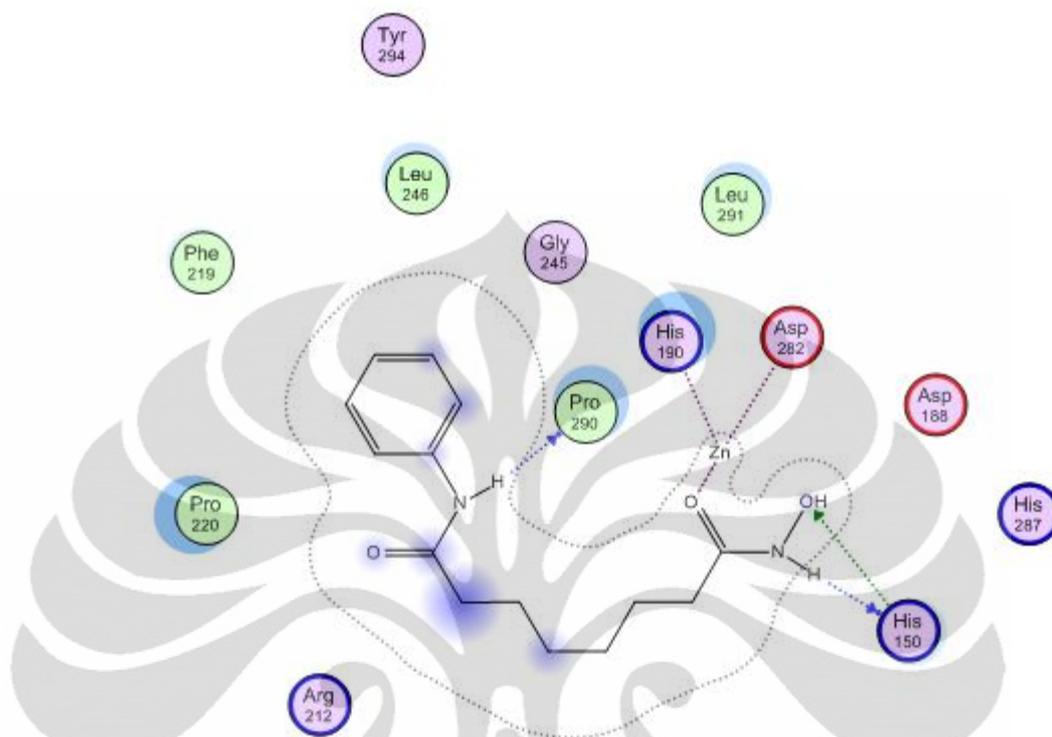
➤ 3000 ps



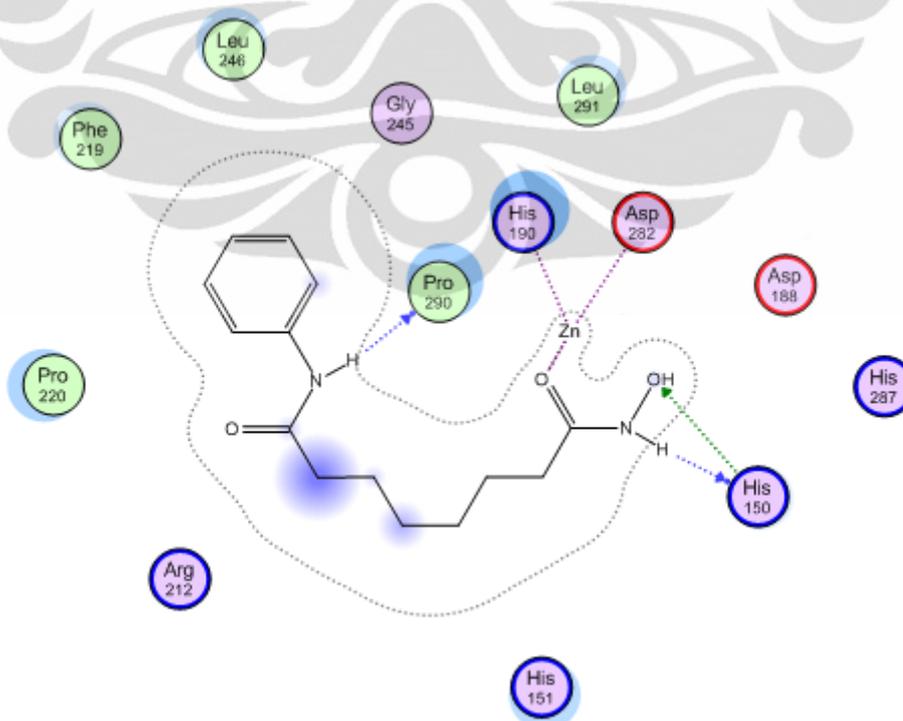
➤ 4000 ps



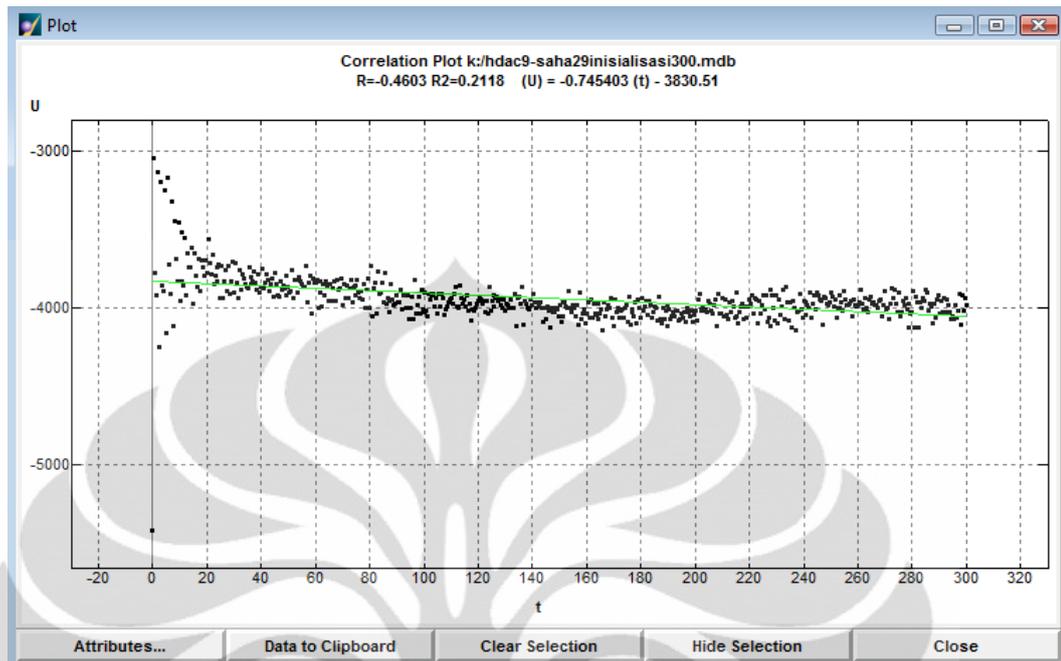
➤ 5000 ps



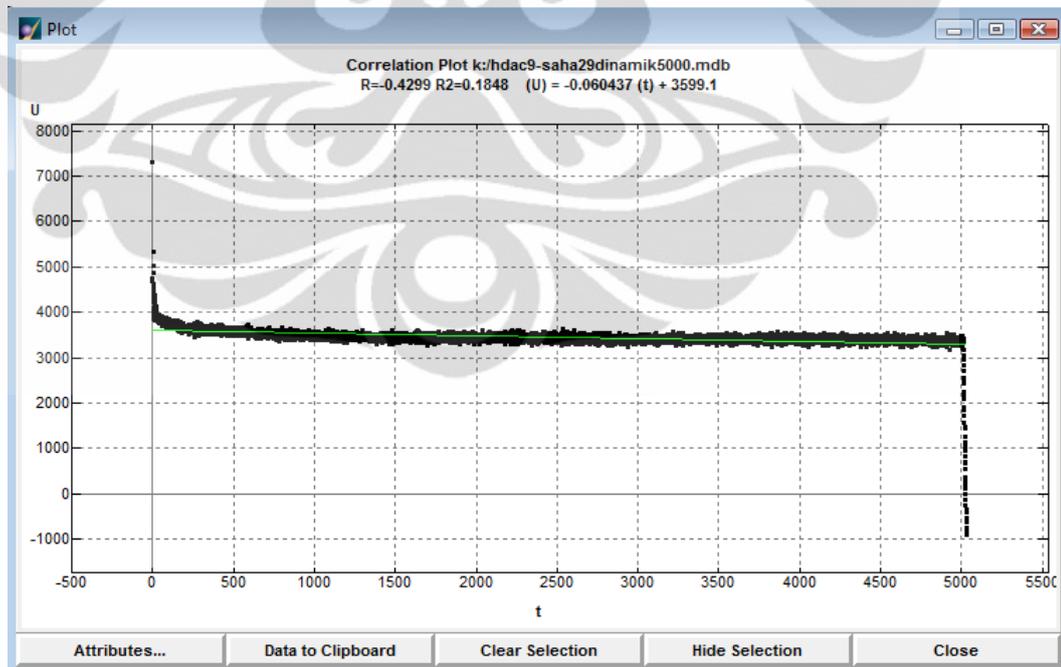
➤ Cooling 20 ps



➤ Grafik kestabilan inisialisasi HDAC 9 - SAHA

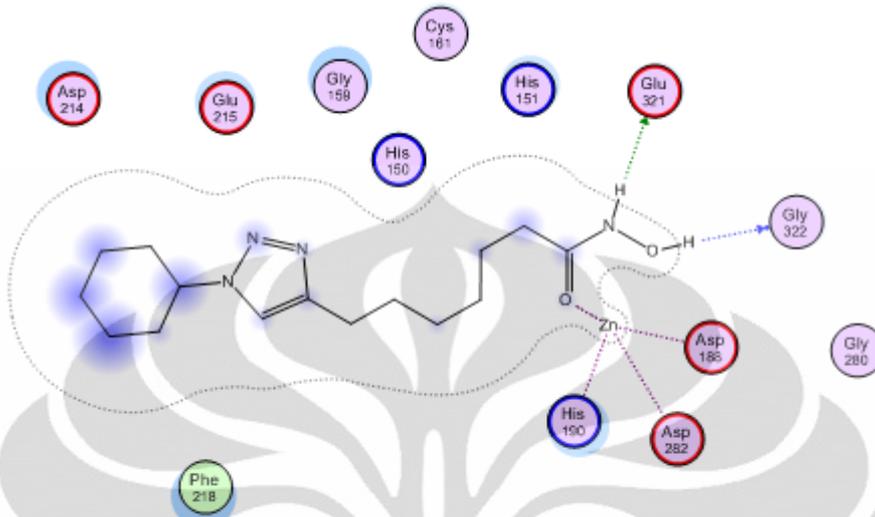


➤ Grafik kestabilan *dynamic* HDAC 9 - SAHA

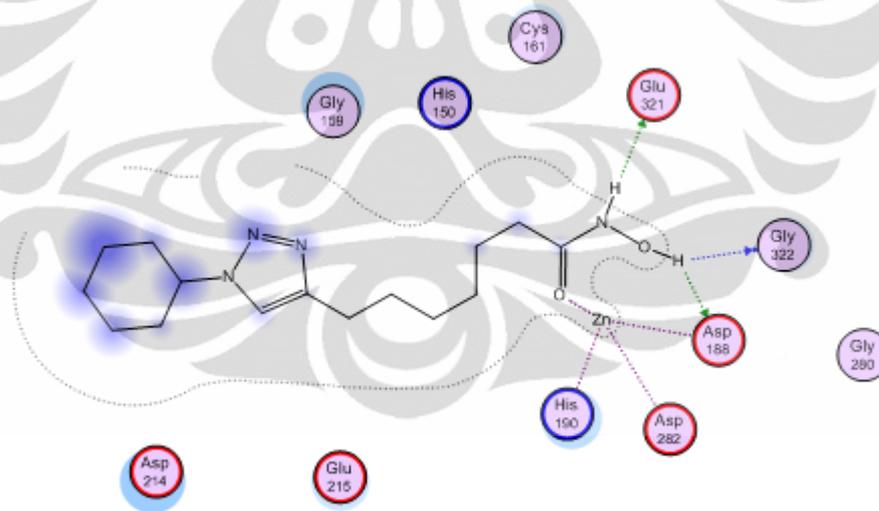


- HDAC 9 - 1c

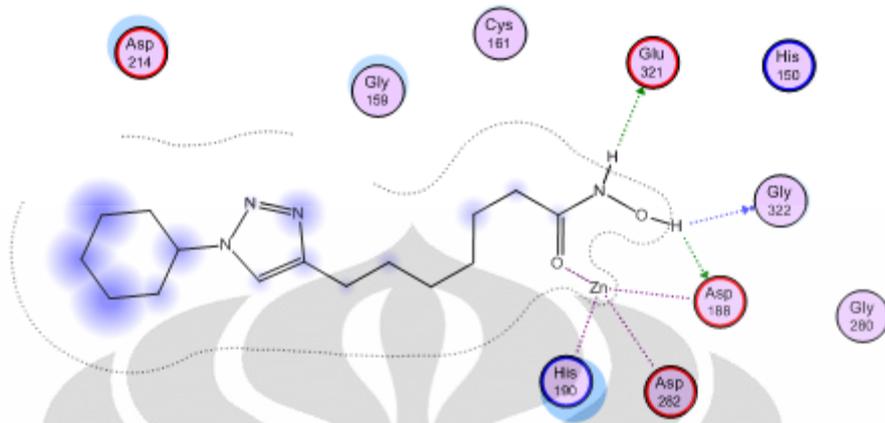
➤ Inisialisasi



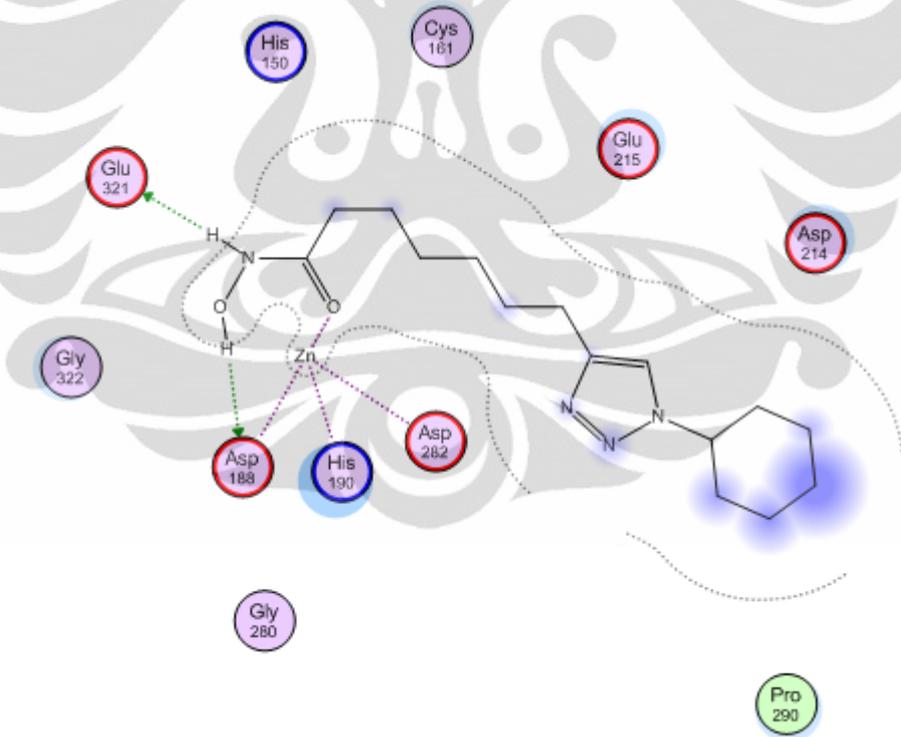
➤ Heating 10 ps



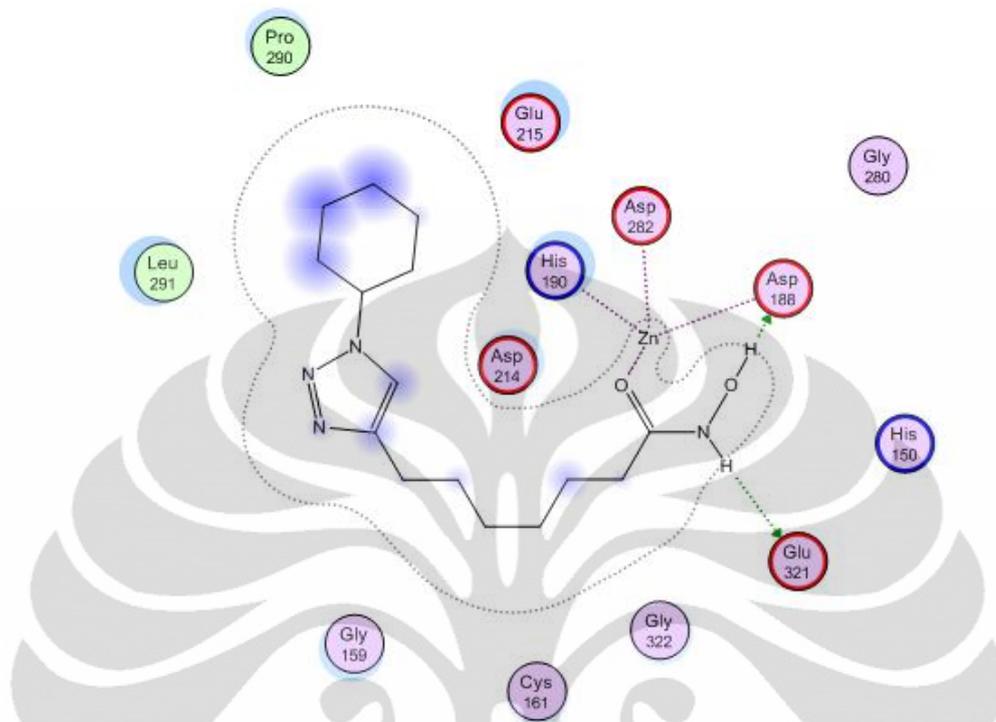
➤ 1000 ps



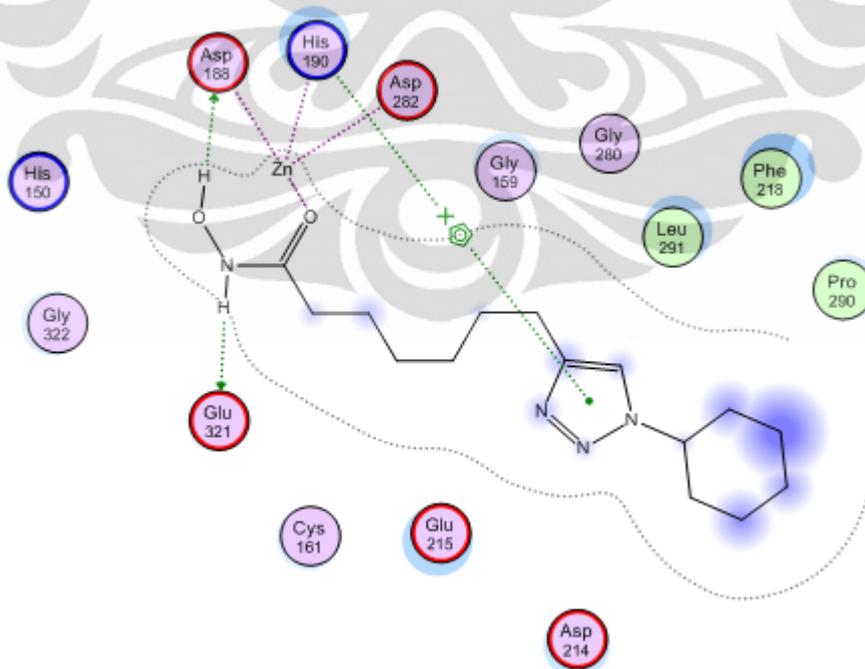
➤ 2000 ps



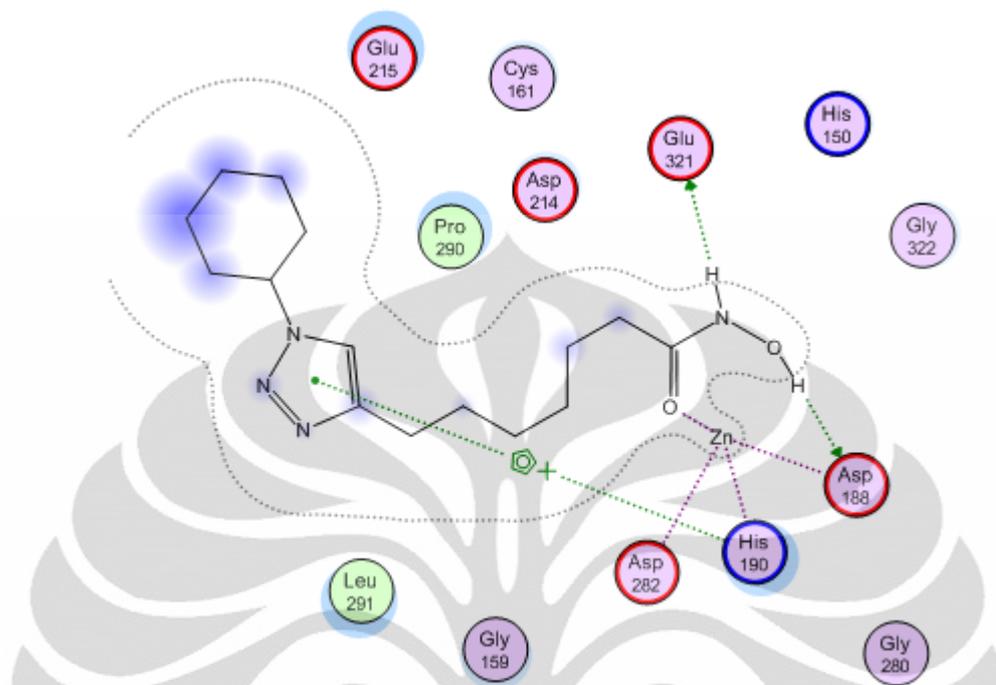
➤ 3000 ps



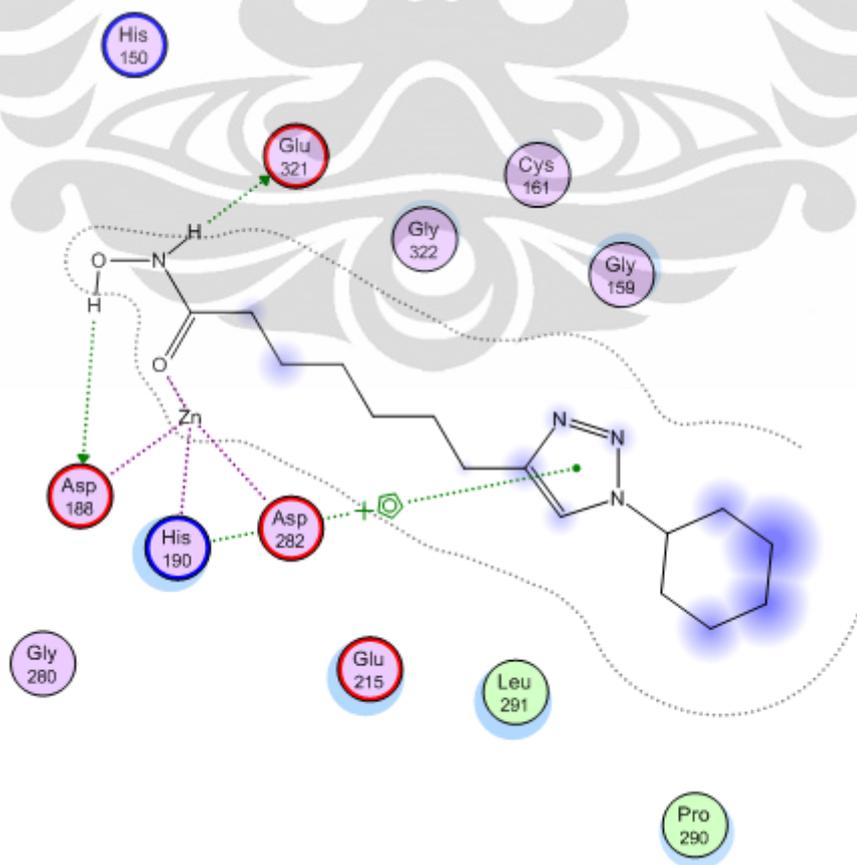
➤ 4000 ps



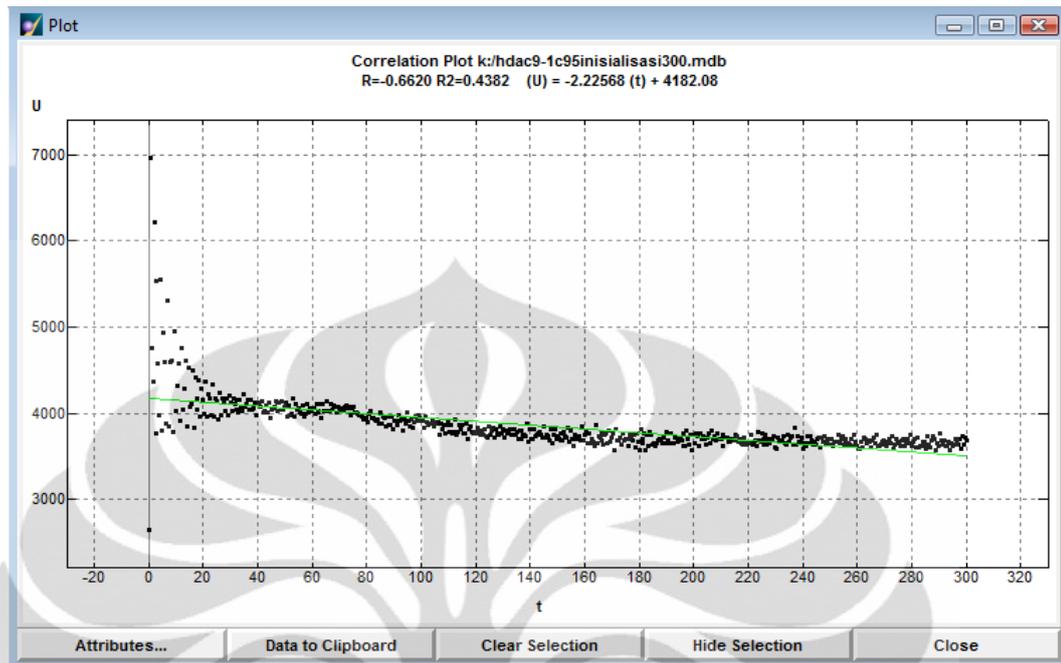
➤ 5000 ps



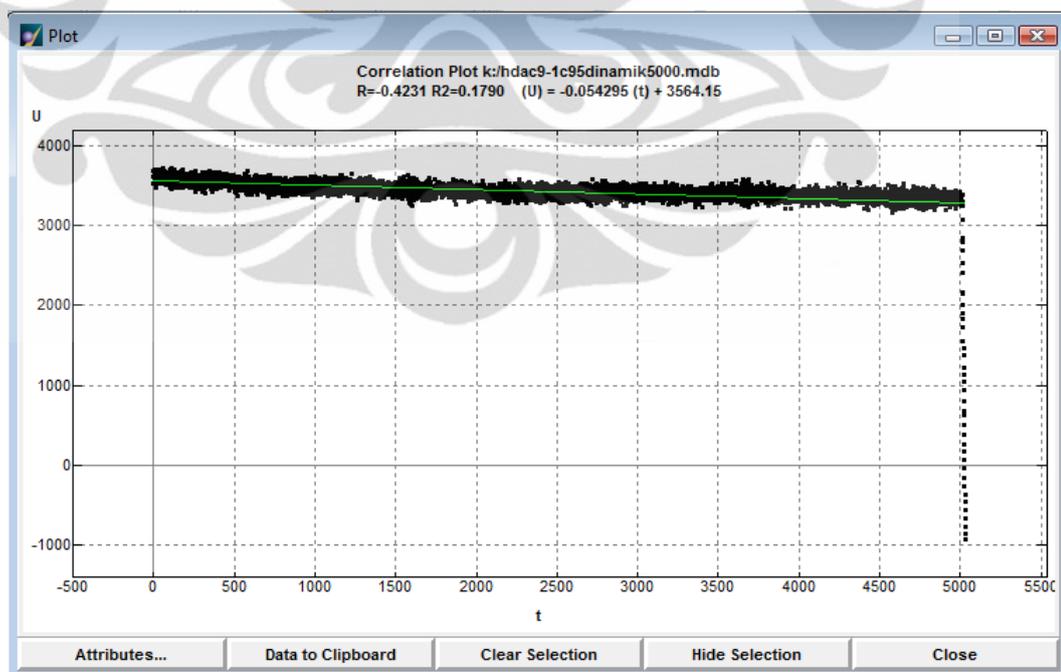
➤ Cooling 20 ps



➤ Grafik kestabilan inisialisasi HDAC 4 - SAHA



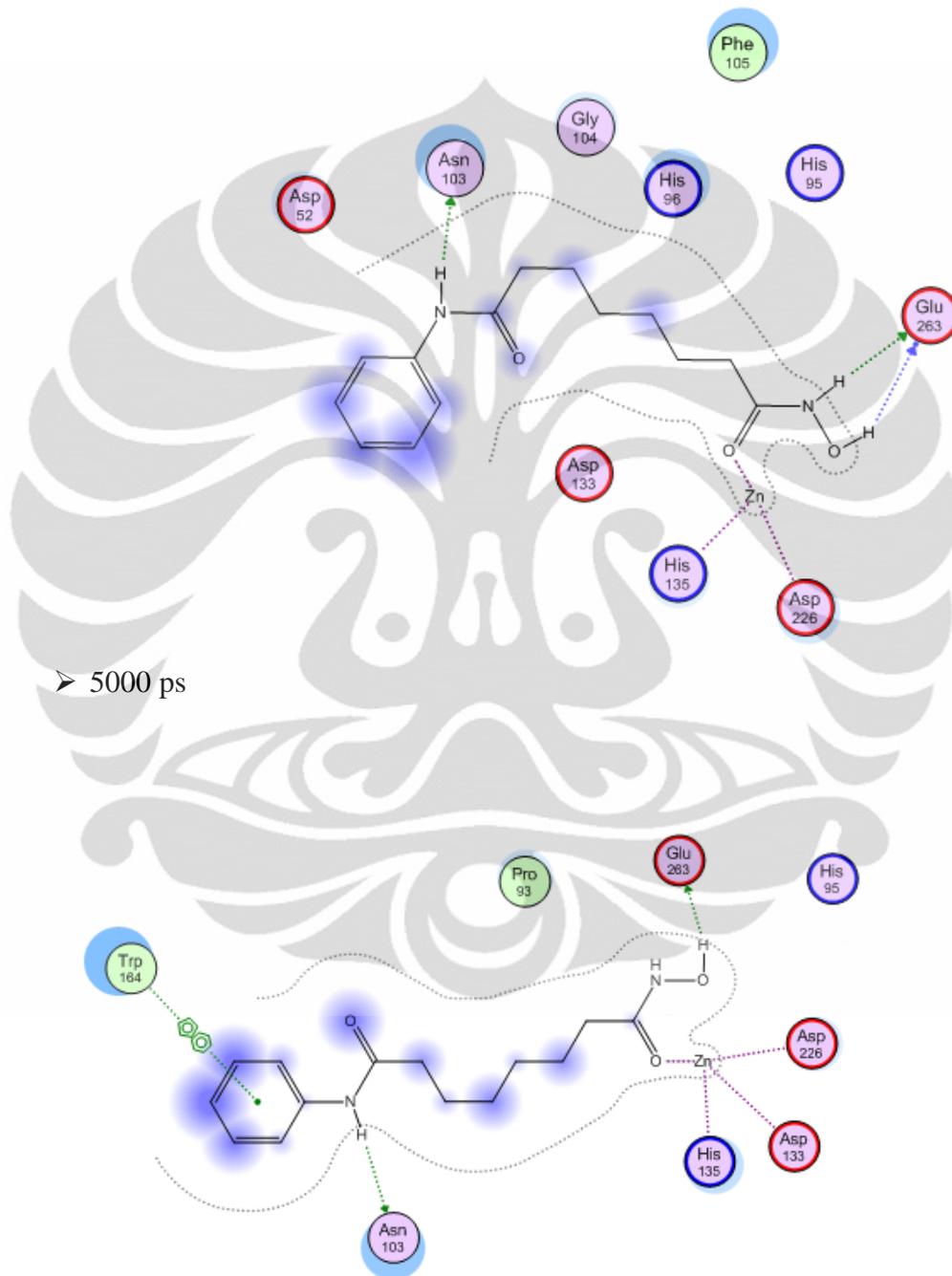
➤ Grafik kestabilan *dynamic* HDAC 4 - SAHA



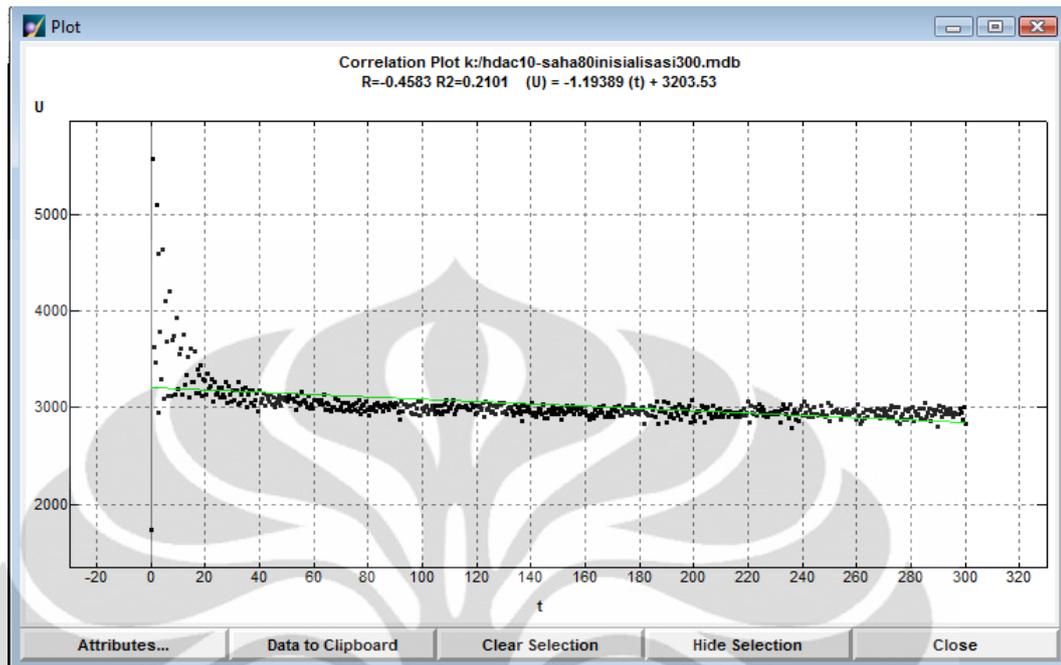
Lampiran 37. Visualisasi 2D Kontak Residu Hasil Simulasi Dinamika Molekul HDAC 10

- HDAC 10 - SAHA

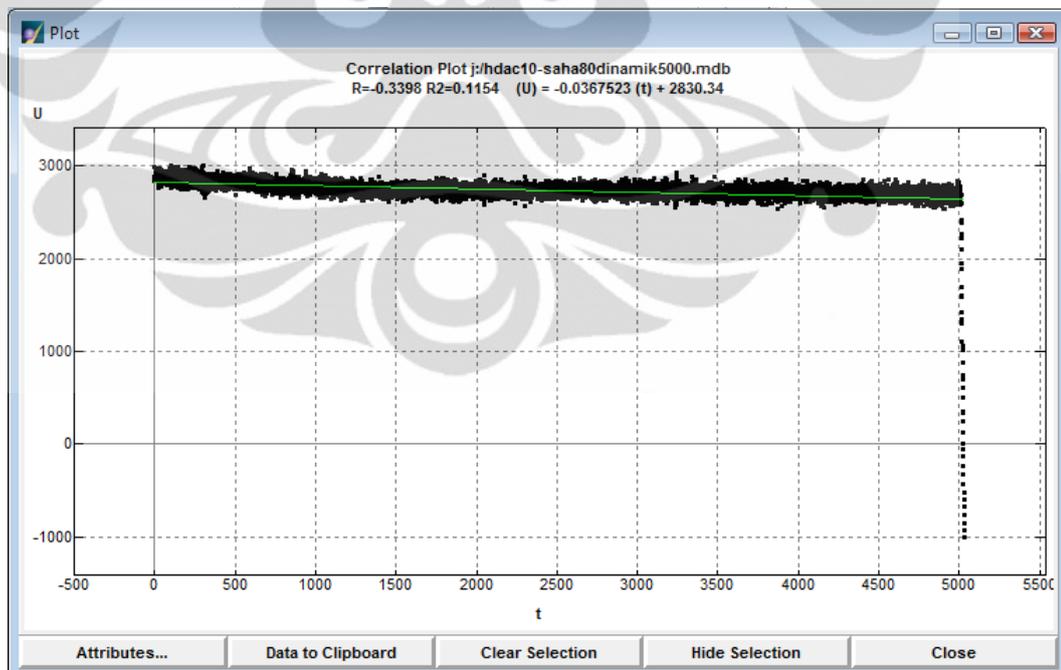
➤ Inisialisasi



➤ Grafik kestabilan inisialisasi HDAC 10 - SAHA

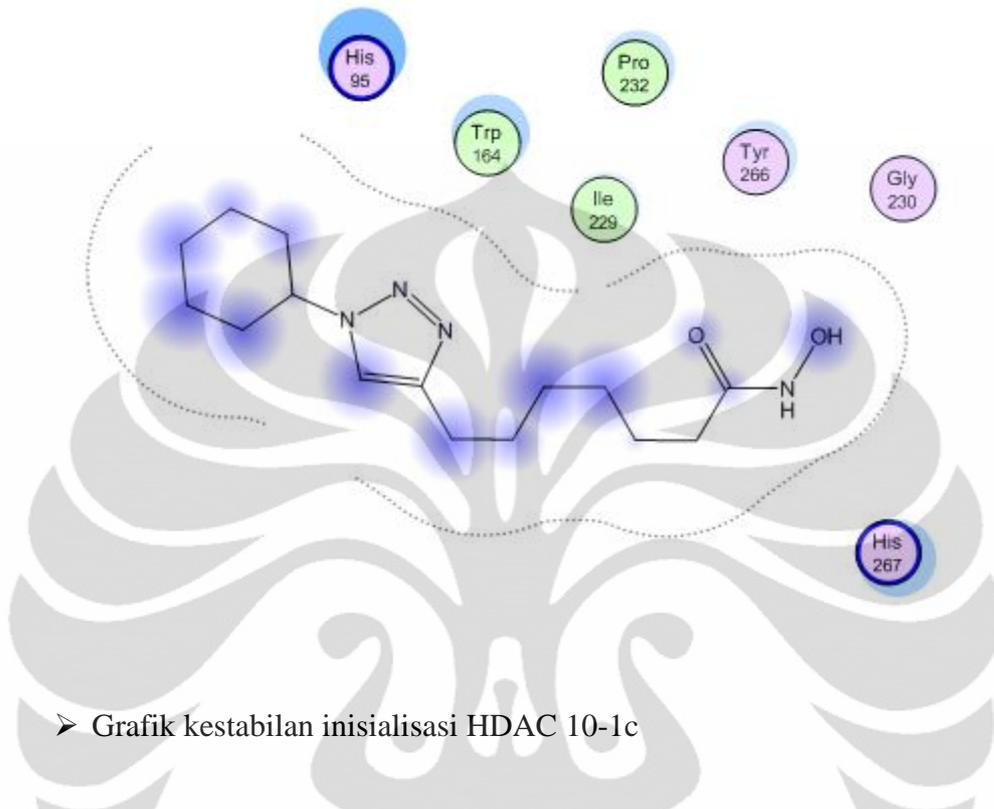


➤ Grafik kestabilan *dynamic* HDAC 10 - SAHA



- HDAC 10-1c

➤ Inisialisasi



➤ Grafik kestabilan inisialisasi HDAC 10-1c

