



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**PENAPISAN VIRTUAL BASIS DATA SENYAWA TANAMAN OBAT DI  
INDONESIA SEBAGAI INHIBITOR ENZIM-ENZIM HIV-1**

**TESIS**

**REZI RIADHI SYAHDI**

**0906651063**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**

**PROGRAM MAGISTER ILMU KEFARMASIAN**

**DEPOK**

**2011**



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**PENAPISAN VIRTUAL BASIS DATA SENYAWA TANAMAN OBAT DI  
INDONESIA SEBAGAI INHIBITOR ENZIM-ENZIM HIV-1**

**TESIS**

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

**Magister Farmasi**

**REZI RIADHI SYAHDI**

**0906651063**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**

**PROGRAM MAGISTER ILMU KEFARMASIAN**

**DEPOK**

**2011**

## HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : Rezi Riadhi Syahdi

NPM : 0906651063

Tanda Tangan :








Tanggal : 6 Januari 2012

## HALAMAN PENGESAHAN

Tesis ini diajukan oleh :  
Nama : Rezi Riadhi Syahdi  
NPM : 0906651063  
Program Studi : Ilmu Kefarmasian  
Judul Tesis : Penapisan Virtual Basis Data Senyawa Tanaman  
Obat di Indonesia Sebagai Inhibitor Enzim-Enzim  
HIV-1

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

### DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dr. Arry Yanuar, M.Si (  )  
Pembimbing II : Dr. Abdul Mun'im, M.S (  )  
Penguji I : Prof. Dr. Usman Sumo F. T. (  )  
Penguji II : Prof. Dr. Heru Suhartanto (  )  
Penguji III : Dr. Silvia Surini, M.Pharm.Sc. (  )

Ditetapkan di. : Depok

Tanggal : Januari 2012

## KATA PENGANTAR

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

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

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

1. Ibunda Siti Hasanah dan Ayahanda Abdul Hadi Achmad, serta keluarga yang selalu memberikan dukungan tak terbilang untuk penulis. Tanpa kalian, ananda bukanlah apa-apa
2. Prof. Dr. Yahdiana Harahap M.S., selaku Ketua Departemen Farmasi atas kesempatan yang telah diberikan untuk melakukan penelitian dan penyusunan skripsi ini
3. Prof. Dr Effionora., selaku Ketua program Magister Ilmu Farmasi atas bimbingannya dan petunjuknya selama kuliah dan penelitian.
4. Bapak Dr. Arry Yanuar, M.Si. selaku pembimbing I yang telah memberikan semangat, bimbingan, saran, bantuan, serta dukungan selama penelitian dan penyusunan tesis
5. Bapak Dr. Abdul Mun'im, M.S selaku pembimbing II yang telah memberikan semangat, bimbingan, saran, bantuan, dukungan selama penelitian dan penyusunan tesis
6. Seluruh staf pengajar Program Magister Ilmu Kefarmasian Universitas Indonesia yang telah dengan tulus membekali ilmu kepada penulis

7. Zuraida Syafara Dzuhro yang selalu mendukung, menyemangati dan memberikan yang terbaik untuk penulis
8. Rekan-rekan di ruang penelitian: Eko, Amel dan Berwy yang telah menemani penulis selama penyusunan dan penelitian
9. Sahabat serta semua teman selama perkuliahan di S2 kefarmasian
10. Seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah memberikan pengarahan, dorongan semangat dan membantu dalam proses penelitian dan penyusunan tesis ini.

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

**Penulis,**

**2011**

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

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

Nama : Rezi Riadhi Syahdi  
NPM : 0906651063  
Program Studi : Magister Ilmu Kefarmasian  
Departemen : Farmasi  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Jenis karya : Tesis

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:

beserta perangkat yang ada (bila diperlukan) Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk basis data, merawat, dan mempublikasikan 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: 19 Desember 2011

Yang menyatakan



(Rezi Riadhi Syahdi)

## ABSTRAK

Nama : Rezi Riadhi Syahdi  
Program Studi : Ilmu Kefarmasian  
Judul : Penapisan Virtual Basis Data Senyawa Tanaman Obat di Indonesia Sebagai Inhibitor Enzim-Enzim HIV-1

HIV-1 (*Human immunodeficiency virus* tipe 1) adalah anggota famili retrovirus yang dapat menyebabkan penyakit AIDS ketika menginfeksi manusia. Epidemi AIDS adalah salah satu penyakit yang paling destruktif di zaman modern. Diperkirakan lebih dari 33 juta orang telah terinfeksi hingga tahun 2010. Berbagai penelitian perancangan obat yang menarget berbagai enzim virus HIV terus dilakukan terutama enzim vital untuk reproduksi virus seperti transkriptase balik, integrase, dan protease. Penapisan virtual sebagai salah satu metode pendekatan *in silico* telah digunakan pada pencarian senyawa penuntun dari basis data senyawa *library* ataupun dari basis data bahan alam sebagai inhibitor HIV-1. Pada penelitian ini dilakukan penapisan virtual basis data senyawa tanaman obat di Indonesia pada transkriptase balik, integrase dan protease HIV-1. Penapisan dilakukan menggunakan piranti lunak GOLD, AutoDock dan AutoDock Vina. Berdasarkan hasil penapisan didapatkan 10 peringkat senyawa terbaik dari tiap metode untuk tiap enzim. Metode penapisan yang relatif lebih akurat adalah AutoDock untuk transkriptase balik; AutoDock Vina dan GOLD untuk protease; serta AutoDock Vina untuk integrase.

Kata kunci:

Bahan alam Indonesia, HIV-1, penambatan molekuler, penapisan virtual.

98 + xvii Halaman; 13 gambar; 41 tabel; 8 lampiran

Bibliografi: 104 (1987 - 2011)



## ABSTRACT

Name : Rezi Riadhi Syahdi  
Major : Pharmacy  
Title : Virtual Screening of Indonesian Herbal Database as HIV-1 Enzymes Inhibitors

HIV-1 (Human immunodeficiency virus type 1) is a member of retrovirus family that could infect human and causing AIDS disease. AIDS epidemic is one of the most destructive diseases in the modern era. There were more than 33 million people infected by HIV until 2010. Various researches have been done to design drug that targeting HIV enzymes primarily vital reproduction enzymes such as reverse transcriptase, integrase and protease. Virtual screening as *in silico* approach has been used to find lead molecules from compound library or natural database as HIV-1 inhibitors. In this research, virtual screening of Indonesian herbal database was done to reverse transcriptase, integrase and HIV-1 protease. Virtual screening was done using GOLD, AutoDock, and AutoDock Vina. Based on this research, top ten ranked compound was obtained for each methods and enzymes. Virtual screening method which relatively more accurate is AutoDock for reverse transcriptase; AutoDock Vina and GOLD for protease; and AutoDock Vina for integrase.

### Keywords:

Indonesian natural product, HIV-1, molecular docking, virtual screening,.

98 + xvii Pages; 13 figures; 41 tables; 8 appendixes

Bibliography: 104 (1987 - 2011)

## DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL.....	i
HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH.....	vii
ABSTRAK.....	viii
ABSTRACT.....	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Hasil Penelitian.....	4
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>5</b>
2.1 HIV-AIDS.....	5
2.2 Virologi HIV.....	6
2.3 Siklus Hidup HIV-1.....	6
2.4 HIV-1 Transkriptase Balik (RT).....	8
2.5 Inhibitor HIV-1 RT.....	9
2.6 HIV-1 Integrase (IN).....	10

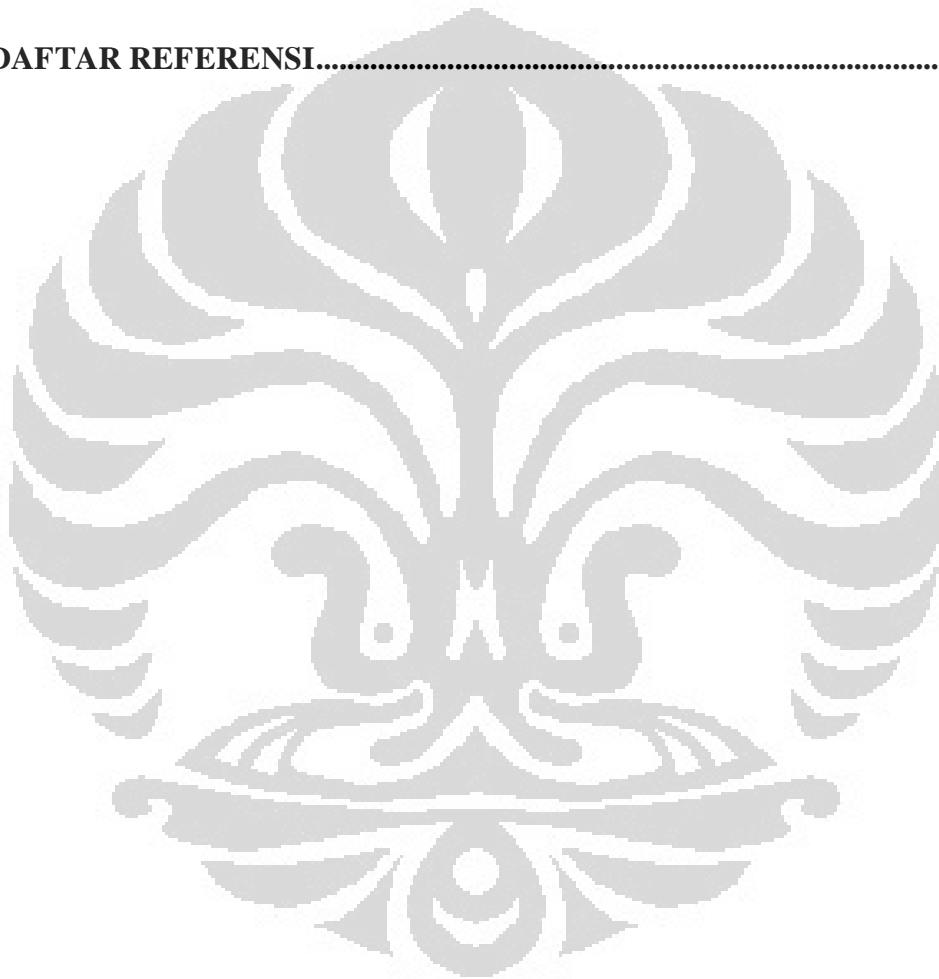
2.7	Inhibitor HIV-1 IN .....	11
2.8	HIV-1 Protease .....	13
2.9	Inhibitor HIV-1 PR .....	15
2.10	Penemuan Obat .....	16
2.11	Bioinformatika.....	16
2.12	Penambatan Molekuler .....	17
2.13	Fungsi Penilaian .....	18
2.14	AutoDock.....	20
2.15	AutoDock Vina.....	21
2.16	GOLD .....	21
2.17	Penapisan Virtual .....	23
2.17.1	Struktur Protein untuk Penapisan Virtual.....	25
2.17.2	Penapisan Virtual Menggunakan GOLD.....	25
2.17.3	Penapisan Virtual Menggunakan AutoDock.....	25
2.18	Basis Data.....	26
2.19	Protein Data Bank.....	27
2.20	VegaZZ.....	27
2.21	OpenBabel.....	28
2.22	PyRx .....	28
2.23	PyMOL.....	29
2.24	Symyx Draw .....	29

### **BAB 3. METODE PENELITIAN**

3.1	Lokasi dan Waktu Penelitian .....	30
3.2	Peralatan .....	30
3.2.1	Piranti Keras .....	30
3.2.2	Piranti Lunak .....	30
3.3	Bahan.....	30

3.4	Cara Kerja .....	30
3.4.1	Preparasi Struktur Protein Target .....	30
3.4.1.1	Pencarian dan Pengunduhan Struktur Protein .....	31
3.4.1.2	Optimasi Struktur Protein .....	31
3.4.1.3	Memisahkan Ligan dan Mendefinisikan Situs Ikatan .....	31
3.4.2	Preparasi Basis Data Ligan .....	31
3.4.3	Validasi Metode Penapisan Virtual .....	32
3.4.4	Penapisan Virtual .....	33
3.4.4.1	Penapisan Virtual Menggunakan GOLD .....	33
3.4.4.2	Penapisan Virtual Menggunakan AutoDock dan Vina .....	33
3.4.5	Analisis Hasil Penapisan Virtual .....	34
3.4.6	Visualisasi Hasil Penapisan Virtual .....	35
<b>BAB 4</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>36</b>
4.1	Preparasi Struktur Protein Target .....	36
4.1.1	Pencarian dan Pengunduhan Struktur Protein .....	36
4.1.2	Optimasi Struktur Protein .....	37
4.1.3	Memisahkan Ligan dan Mendefinisikan Situs Ikatan .....	38
4.2	Preparasi Basis Data Ligan .....	38
4.3	Validasi Metode Penapisan Virtual .....	39
4.4	Penapisan Virtual .....	49
4.4.1	Penapisan Virtual Menggunakan GOLD .....	49
4.4.2	Penapisan Virtual Menggunakan AutoDock dan Vina .....	49
4.5	Analisis Hasil Penapisan Virtual .....	50
4.5.1	Penapisan Virtual pada Transkriptase Balik .....	50
4.5.2	Penapisan Virtual pada Protease .....	56

4.5.3 Penapisan Virtual pada Integrase .....	59
4.6 Visualisasi Hasil Penapisan .....	65
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>67</b>
5.1 Kesimpulan .....	67
5.2 Saran.....	68
<b>DAFTAR REFERENSI.....</b>	<b>69</b>



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Tahap Infeksi Virus HIV.....	7
2.2 Struktur HIV-1 RT (1DLO).....	9
2.3 Domain Inti Integrase HIV-1 .....	11
2.4 Stuktur Kristal HIV-1 Protease.....	13
2.5 Nomenklatur Standar Situs Pengikatan HIV-1 PR.....	14
4.1 Visualisasi Hasil Penambatan Nevirapine pada Transkriptase Balik.....	75
4.2 Transkriptase Balik dan Nevirapine.....	75
4.3 Visualisasi Hasil Penambatan Saquinavir pada Protease.....	76
4.4 Protease dan Saquinavir .....	76
4.5 Struktur 2 Dimensi Senyawa Kontrol .....	77
4.6 Visualisasi Penapisan Virtual Transkriptase Balik dengan AutoDock...	80
4.7 Visualisasi Penapisan Virtual Protease dengan GOLD .....	81
4.8 Visualisasi Penapisan Virtual Integrase dengan AutoDock Vina .....	82

## DAFTAR TABEL

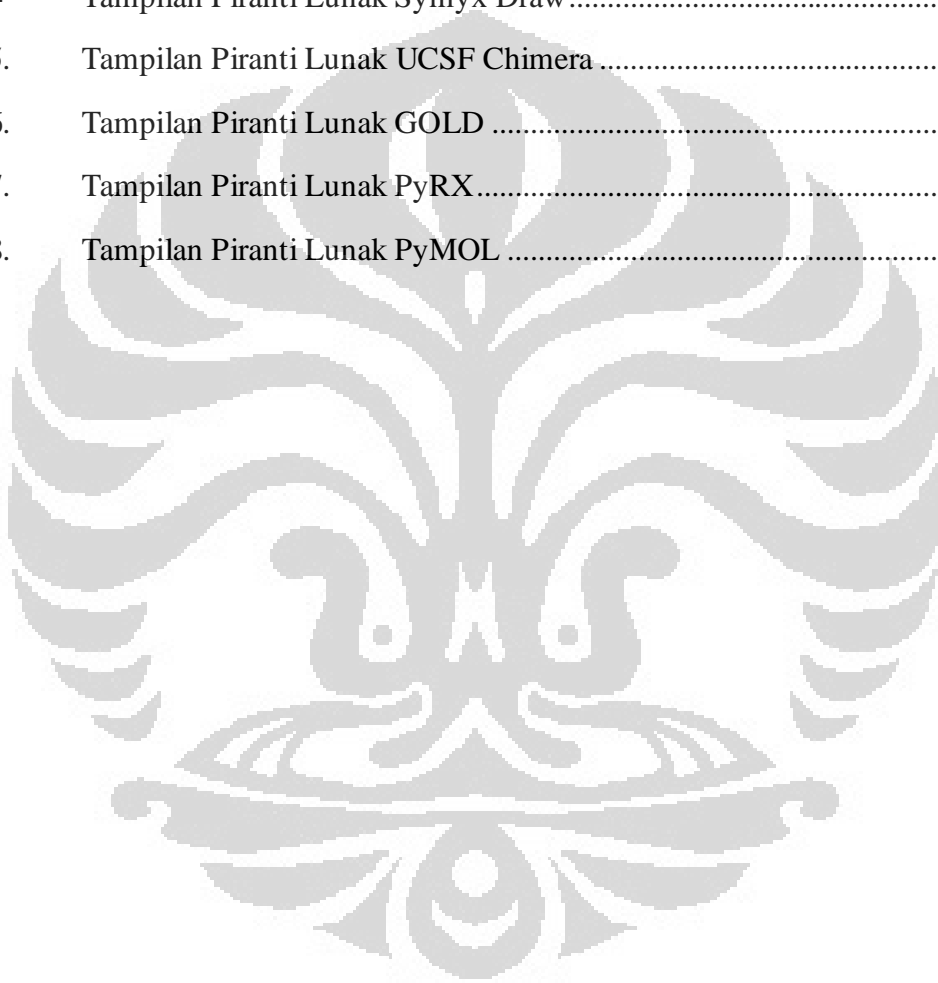
Tabel	Halaman
4.1	Senyawa Kontrol yang Digunakan untuk Validasi..... 37
4.2	Hasil Penambatan Senyawa Kontrol Menggunakan AutoDock pada Transkriptase Balik HIV-1 ..... 38
4.3	Hasil Penambatan Senyawa Kontrol Menggunakan AutoDock Vina pada Transkriptase Balik HIV-1 ..... 39
4.4	Hasil Penambatan Senyawa Kontrol Menggunakan GOLD pada Transkriptase Balik HIV-1 ..... 39
4.5	Hasil Validasi Ketiga Metode pada Transkriptase Balik HIV-1..... 40
4.6	Hasil Penambatan Senyawa Kontrol Menggunakan AutoDock pada Protease HIV-1 ..... 41
4.7	Hasil Penambatan Senyawa Kontrol Menggunakan AutoDock Vina pada Protease HIV-1 ..... 42
4.8	Hasil Penambatan Senyawa Kontrol Menggunakan GOLD pada Protease HIV-1 ..... 42
4.9	Hasil Validasi Ketiga Metode pada Protease HIV-1 ..... 43
4.10	Hasil Penambatan Senyawa Kontrol Menggunakan AutoDock pada integrase HIV-1 ..... 44
4.11	Hasil Penambatan Senyawa Kontrol Menggunakan AutoDock Vina pada integrase HIV-1 ..... 45
4.12	Hasil Penambatan Senyawa Kontrol Menggunakan GOLD pada integrase HIV-1 ..... 46
4.13	Hasil Validasi Ketiga Metode pada Integrase HIV-1 ..... 47
4.14	Hasil Penapisan Virtual Menggunakan AutoDock Vina pada Transkriptase Balik HIV-1 ..... 49
4.15	Hasil Penapisan Virtual Menggunakan AutoDock pada Transkriptase Balik HIV-1 ..... 50
4.16	Hasil Penapisan Virtual Menggunakan GOLD pada Transkriptase Balik HIV-1 ..... 52
4.17	Hasil Penapisan Virtual Menggunakan AutoDock Vina pada Protease HIV-1 ..... 54

4.18	Hasil Penapisan Virtual Menggunakan AutoDock pada Protease HIV-1 .....	56
4.19	Hasil Penapisan Virtual Menggunakan GOLD pada Protease HIV-1..	58
4.20	Hasil Penapisan Virtual Menggunakan AutoDock Vina pada integrase HIV-1 .....	60
4.21	Hasil Penapisan Virtual Menggunakan AutoDock pada integrase HIV-1 .....	61
4.22	Hasil Penapisan Virtual Menggunakan GOLD pada integrase HIV-1 .....	63
4.23	Validasi Penambatan pada RT Menggunakan AutoDock.....	83
4.24	Validasi Penambatan pada RT Menggunakan AutoDock Vina.....	83
4.25	Validasi Penambatan pada RT Menggunakan GOLD.....	84
4.26	Penapisan Virtual pada RT Menggunakan AutoDock.....	84
4.27	Penapisan Virtual pada RT Menggunakan AutoDock Vina .....	85
4.28	Penapisan Virtual pada RT Menggunakan GOLD .....	85
4.29	Validasi Penambatan pada PR Menggunakan AutoDock .....	86
4.30	Validasi Penambatan pada PR Menggunakan AutoDock Vina .....	86
4.31	Validasi Penambatan pada PR Menggunakan GOLD .....	87
4.32	Penapisan Virtual pada PR Menggunakan AutoDock.....	87
4.33	Penapisan Virtual pada PR Menggunakan AutoDock Vina.....	88
4.34	Penapisan Virtual pada PR Menggunakan GOLD.....	88
4.35	Validasi Penambatan pada IN Menggunakan AutoDock.....	89
4.36	Validasi Penambatan pada IN Menggunakan AutoDock Vina.....	89
4.37	Validasi Penambatan pada IN Menggunakan GOLD.....	90
4.38	Penapisan Virtual pada IN Menggunakan AutoDock.....	90
4.39	Penapisan Virtual pada IN Menggunakan AutoDock Vina .....	91
4.40	Penapisan Virtual pada IN Menggunakan GOLD .....	91
4.41	RMSD (dalam Angstrom) dari Posisi Hasil Penambatan Menggunakan PyMOL .....	64



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1 Skema Kerja .....	92
2. Tampilan Situs <i>Protein Data Bank</i> .....	93
3. Tampilan Piranti Lunak VegaZZ .....	93
4 Tampilan Piranti Lunak Symyx Draw.....	94
5. Tampilan Piranti Lunak UCSF Chimera .....	94
6. Tampilan Piranti Lunak GOLD .....	95
7. Tampilan Piranti Lunak PyRX.....	95
8. Tampilan Piranti Lunak PyMOL .....	96



# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

HIV (*Human immunodeficiency virus*) adalah anggota famili retrovirus yang dapat menyebabkan penyakit AIDS ketika menginfeksi manusia. AIDS merupakan suatu epidemik yang membuat kondisi sistem imun yang melemah, sehingga mengarahkan kepada infeksi oportunistik yang membahayakan kehidupan (Ashford, 2006). Epidemi AIDS adalah salah satu penyakit yang paling destruktif di zaman modern. Diperkirakan lebih dari 33 juta orang telah terinfeksi hingga tahun 2010. Pada tahun 2009, diestimasi 2,6 juta jiwa terinfeksi HIV serta 1,8 juta meninggal karena HIV/AIDS. Di Indonesia, pada tahun 2010 terdapat 4.158 kasus baru terinfeksi HIV/AIDS. Data akumulasi penderita HIV/AIDS di Indonesia 10 tahun terakhir adalah 26.483 kasus (Ditjen Penanggulangan Penyakit dan Kesehatan Lingkungan, 2011). Karena virulensinya dan kemampuannya melemahkan antibodi, penyakit ini berdampak terhadap kehidupan bermasyarakat, ekspektasi hidup, produktivitas bahkan stabilitas ekonomi (Joint United Nations Programme on HIV/AIDS, 2010).

Virus HIV memiliki siklus produksi yang cepat dan intensitas resistensi karena mutasi yang tinggi. Setiap hari, replikasi virus mencapai  $1 \times 10^{10}$  virion baru dengan kemungkinan lebih dari 5-10 mutasi setiap siklus replikasi (Basavapathruni & Anderson, 2007). Mutasi ini dapat menyebabkan kemungkinan virion baru menjadi resisten terhadap metode pengobatan. Oleh karena itu, dibutuhkan kombinasi obat yang mentarget enzim-enzim virus yang berbeda untuk memperkecil kemungkinan hidup mutasi virus yang resisten ini. Berbagai penelitian terus dilakukan sebagai upaya perancangan obat yang mentarget berbagai enzim virus HIV terutama enzim yang sangat vital untuk reproduksi virus HIV seperti transkriptase balik, integrase, dan protease (Hong, et al., 1997; Beale & Robinson, 2000). Apabila fungsi enzim-

enzim tersebut terhambat maka replikasi virus HIV, pematangan virus serta infeksi sel imun lain oleh virus tersebut dapat berkurang secara signifikan.

Beberapa senyawa dari bahan alam memiliki potensi untuk menjadi senyawa-senyawa penuntun baru yang menghambat kerja enzim-enzim viral HIV (Braz, 2010; Cotelle, 2006). Pada penelitian ini, dilakukan pencarian secara *in silico* senyawa-senyawa dari tanaman Indonesia yang dapat berpotensi menjadi inhibitor viral HIV menggunakan metode *virtual screening* (penapisan virtual). Metode ini dipakai karena dapat menghemat biaya dan waktu yang dibutuhkan. Metode lain seperti pencarian langsung ataupun menguji tiap senyawa secara *in vitro* dan *in vivo* akan banyak menghabiskan waktu, tenaga dan biaya.

Penapisan virtual merupakan metode komplementer di bidang kimia medisinal untuk menemukan suatu senyawa penuntun baru. Tujuan utama penapisan virtual adalah mengurangi secara signifikan jumlah senyawa-senyawa kimia yang perlu disintesis. Sehingga jumlah senyawa untuk diuji aktivitas biologisnya juga akan berkurang. Selain itu, metode ini berguna untuk memberikan pengetahuan awal tentang jenis ikatan senyawa obat sebagai ligan dengan makromolekul tertentu (Klebe, 2005).

Pendekatan *in silico* telah menunjukkan manfaatnya dalam sintesis senyawa-senyawa obat antiretroviral yang berperan sebagai inhibitor enzim virus HIV terutama HIV-1 protease (Wlodawer & Vondrasek, 1998). Beberapa obat terkini protease inhibitor, seperti darunavir, dikembangkan melalui metode perancangan obat berbantu komputer (Ghosh, Dawson, & Mitsuya, 2007). Penapisan virtual sebagai salah satu metode pendekatan *in silico* telah digunakan pada pencarian senyawa penuntun sebagai inhibitor anti HIV-1 dari basis data *compound library* ataupun dari basis data bahan alam. Ehrman dan kawan kawan (2007) melakukan penelitian menggunakan penapisan virtual dari basis data tumbuhan China yang menyimpulkan beberapa senyawa alkaloid, flavonoid, tannin, terpenoid sebagai inhibitor poten HIV-1. Penelitian terkini lainnya adalah penapisan virtual pada HIV-1

integrase, yang menghasilkan data 9 ligan turunan tioglikosida yang memiliki aktivitas inhibisi (Ke-Zhu, Ai-Xiu, & Ma, 2011).

Ketika menginfeksi, virus HIV melakukan replikasi yang membutuhkan tiga enzim, yaitu: transkriptase balik (RT), integrase (IN) dan protease (PR) (Evering & Markowitz, 2008). Pada penelitian ini, dilakukan penapisan virtual terhadap senyawa dari bahan alam sebagai penghambat kerja ketiga enzim kunci tersebut. Hal tersebut bertujuan untuk mengeksplorasi secara terintegrasi probabilitas bioaktivitas komponen bahan alam sebagai senyawa pemandu melalui pendekatan terkomputasi. Hal ini didukung oleh adanya publikasi struktur kristal dari enzim-enzim tersebut sebagai target yang menjadi syarat penting penapisan virtual (Lyons, Fisher, Varma, & Chen, 2005). Selain itu, basis data kandungan senyawa kimia tanaman obat Indonesia telah tersedia (Yanuar, Mun'im, Lagho, Syahdi, Rahmat, & Suhartanto, 2011).

Penapisan virtual dilakukan menggunakan tiga piranti lunak penambatan yang berbeda yakni GOLD, AutoDock, dan AutoDock Vina. Hal ini bertujuan untuk membandingkan hasil yang diperoleh serta menganalisis perbedaan yang didapatkan dari ketiga pendekatan tersebut. Hasil yang didapat berupa energi interaksi dari kalkulasi fungsi penilaian kedua piranti lunak serta visualisasi pengikatan dan kontak antara ligan dengan masing-masing enzim.

Penelitian ini diharapkan memberikan pengetahuan tentang senyawa-senyawa yang berpotensi sebagai senyawa penuntun inhibitor tiap enzim melalui ketiga pendekatan dan mendapatkan protokol pendekatan yang lebih sesuai untuk masing-masing enzim tersebut serta merekomendasikan nama tanaman obat yang memiliki kandungan kombinasi senyawa inhibitor enzim viral yang berbeda.

## 1.2 Rumusan Masalah

Dari hasil penelusuran pustaka, belum ada penelitian mengenai penapisan virtual basis data senyawa obat tanaman di Indonesia sebagai inhibitor enzim HIV-1 khususnya enzim transkriptase balik, protease dan integrase. Informasi mengenai penapisan virtual dibutuhkan untuk mengetahui potensi senyawa untuk menjadi obat / inhibitor.

Berikut adalah permasalahan penelitian ini secara rinci:

- a) Bagaimana metode penapisan virtual yang relatif lebih cocok untuk tiap enzim dari tiga opsi metode (GOLD, AutoDock, AutoDock Vina)?
- b) Apa saja senyawa dari basis data bahan alam yang dimiliki yang dinilai termasuk dalam peringkat 10 besar potensi senyawa sebagai inhibitor tiap enzim menggunakan penapisan virtual?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk memberikan 10 senyawa dengan peringkat tertinggi hasil penapisan virtual pada tiap-tiap enzim virus HIV-1 menggunakan tiga pendekatan berbeda serta merekomendasikan pendekatan yang dianggap lebih unggul untuk penapisan virtual berikutnya menggunakan enzim-enzim ini.

## 1.4 Manfaat Hasil Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah direkomendasikannya senyawa dari tanaman Indonesia yang berpotensi sebagai inhibitor pada tiap enzim HIV-1. Selain itu, memberikan pengetahuan tentang metode penapisan virtual yang dinilai lebih baik untuk tiap enzim, sehingga penelitian lebih lanjut menggunakan enzim ini bisa menjadi lebih mudah. Bagi peneliti sendiri, penelitian ini dapat meningkatkan pengetahuan dan keterampilan.

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 HIV-AIDS

AIDS (*acquired immunodeficiency syndrome*) adalah penyakit yang disebabkan oleh virus HIV (*human immunodeficiency virus*) tipe I, anggota dari famili retrovirus. Perkembangan yang cepat dalam pemahaman tentang struktur dan siklus hidup virus mengarahkan pada perkembangan obat-obat yang mengarah pada berbagai protein virus. Enzim-enzim retrovirus - transkriptase balik (RT), integrase (IN), dan protease (PR) – menjadi target nyata dalam pengembangan penemuan obat HIV. Hingga sekarang, lebih dari dua lusin metode pengobatan AIDS telah diperkenalkan pada 25 tahun terakhir dan proses perkembangannya merupakan suatu contoh hasil yang didapatkan dari desain obat yang rasional (Wlodawer & Vondrasek, 1998).

Obat pertama yang berhasil diidentifikasi adalah inhibitor RT analog nukleosida yang ditemukan jauh sebelum struktur RT tersebut diketahui (Devita, Broder, Fauci, Kovacs, & Chabner, 1987). Analog nukleosida tersebut berikatan dengan sisi aktif dan menghambat RT HIV-1 dan HIV-2. Karakter penghambatan disebabkan tidak adanya gugus 2'-3' hidroksil ataupun penggantian dengan gugus fungsi yang lain. Namun, obat-obat baru yang menarget RT yakni inhibitor nonnukleosida, dikembangkan dengan mengetahui struktur enzim terkait.

Protease retroviral, juga telah diidentifikasi sebagai target potensial. Penemuan dan pengembangan inhibitorynya merupakan suatu kesuksesan dari bidang biologi dan farmakologi struktural modern. Inaktivasi HIV-1 PR dengan mutasi ataupun inhibisi kimia mengarahkan pada produksi partikel virus yang tidak matang dan noninfektif (Kohl, et al., 1988). Oleh karena itu, disimpulkan bahwa PR penting untuk penataan virion dan proses pematangannya. Sejak itu, disimpulkan bahwa pentingnya makromolekul baru sebagai target inhibisi senyawa-senyawa obat untuk meningkatkan efektivitas pengobatan HIV-AIDS.

## 2.2 Virologi HIV

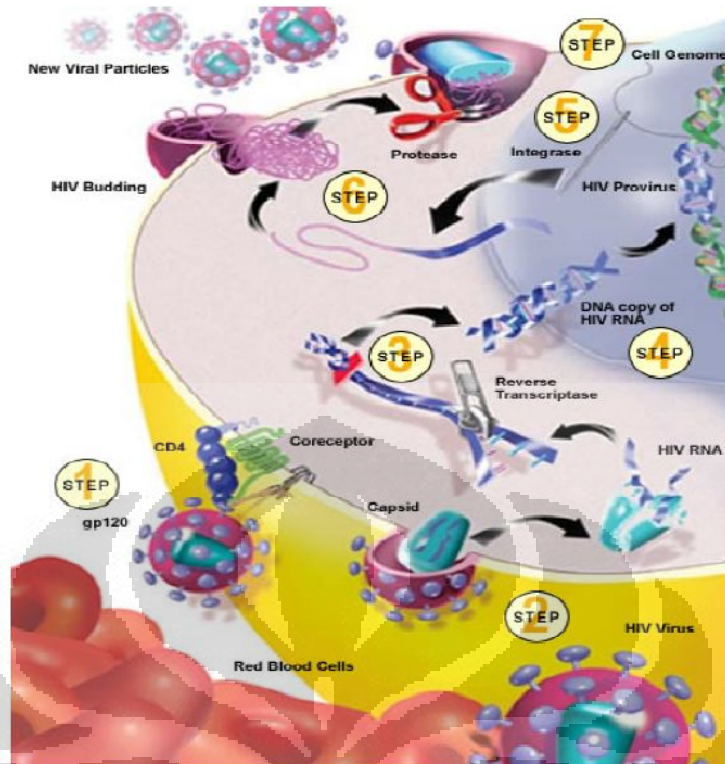
HIV adalah anggota dari genus *Lentivirus* dan merupakan bagian dari famili Retroviridae (Heapy, 1999). Virion HIV dewasa memiliki morfologi berbentuk sferik dengan diameter 100-120 nm serta tersusun atas nukleokapsid seperti kerucut yang dilapisi oleh membran lipid bilayer. Nukleokapsid mengandung molekul genomik RNA, protease, transkriptase balik, integrase dan beberapa faktor seluler lainnya. HIV-1 memiliki genom yang tersusun atas dua molekul RNA untai tunggal 9,2 kb yang identik.

Secara umum, retrovirus adalah suatu grup besar dari virus RNA terselubung yang menggunakan transkripsi balik RNA genomiknya untuk menghasilkan DNA untai ganda (*double stranded* - ds). DNA untai ganda ini lalu diintegrasikan ke dalam genom seluler inang. Pada genom tersebut terdapat pengkode protein-protein struktural, replikasi dan selubung yang digunakan selama proses infeksi. Ketiganya berada pada domain yang dinamakan *gag*, *pol* dan *env* secara berurutan (Levy & Coffin, 1992).

Terdapat dua bentuk HIV: HIV-1 dan HIV-2. HIV-1 merupakan bentuk virus yang paling virulen dan prevalensinya lebih banyak. HIV-1 juga sangat bervariasi yang disebabkan oleh tingginya laju mutasi, rekombinasi genetik, dan produksi viral yang cepat (Ratner, 1993).

## 2.3 Siklus Hidup HIV-1

Siklus hidup virus HIV menggambarkan bagaimana partikel virus tunggal memasuki sel T CD4<sup>+</sup> serta menggunakan instrumen pada inang untuk memproduksi partikel viral baru. Hal tersebut menyebabkan deplesi bertahap dari sel-sel T *helper*. Infeksi virus dapat dibagi menjadi 10 tahap: (1) absorpsi, (2) pelepasan selubung/*uncoating*, (3) transkripsi balik, (4) transport ke dalam inti sel serta integrasinya, (5) pemotongan/*splicing*, (6) transport RNA, (7) translasi, (8) penataan/*assembly*, (9) pembedahan/*budding*, dan (10) pendewasaan (Braz, 2010).



**Gambar 2.1.** Tahap Infeksi Virus HIV, ilustrasi: Dominic Doyle (Braz, 2010).

Proses awal absorpsi terjadi ketika virus berikatan dengan membran sel target menggunakan protein SU (*surface*). Kemudian dengan bantuan gp41 TM (transmembran), virus dan inang berfusi yang akan mengakibatkan pelepasan partikel inti virus (mengandung RT, PR, IN, TM, SU, Vpr, Vif dan  $tRNA^{Lys3}$ ) ke dalam sitoplasma inang.

Setelah partikel masuk ke sel inang, dimulailah proses transkripsi balik oleh enzim *reverse transcriptase*. DNA viral untai ganda diproduksi dari primer  $tRNA^{Lys3}$  dan RNA genomik untai tunggal. Enzim RT dinilai sebagai salah satu pemeran utama dari diversitas virus HIV. Ketika ds DNA dibuat menggunakan cetakan (*template*) RNA, domain RNase H secara simultan menghancurkan cetakan RNA tersebut. Hal ini mencegah mekanisme koreksi (*proofreading*) selama proses transkripsi serta memfasilitasi diversitas virus karena tingginya kemungkinan kesalahan transkripsi. Ketidakmampuan koreksi tersebut menyebabkan rata-rata 1 kesalahan per 4.000 nukleotida.



Diperkirakan konsentrasi RT sekitar  $10^6$  dalam satu virion dan juga sekitar  $10^6$  kejadian transkripsi balik perhari. Apabila dianggap satu RT berperan dalam satu kejadian transkripsi balik maka hampir pasti terjadi 1 mutasi titik per harinya. Hal ini menyebabkan banyak varian dalam satu jenis HIV-1 dan dipostulasikan dalam satu individu terinfeksi adanya varian-varian yang berbeda (Braz, 2010).

Setelah proses transkripsi balik, terbentuk kompleks preintegrasi yang memungkinkan transport ke nukleus. IN lalu akan memotong DNA inang dan mengintegrasikan DNA untai ganda virus yang baru dibuat (Vink & Plasterk, 1993). Setelah terintegrasi, mekanisme inang digunakan untuk produksi partikel virus selanjutnya melalui transkripsi seluler normal serta translasi genom terkait. Pematangan virus, yakni pelepasan setelah pembedahan dari membran sel, akan terjadi setelah poliprotein *gag* dipotong oleh PR viral. Proses tersebut penting untuk infeksi virus yang efisien (Braz, 2010).

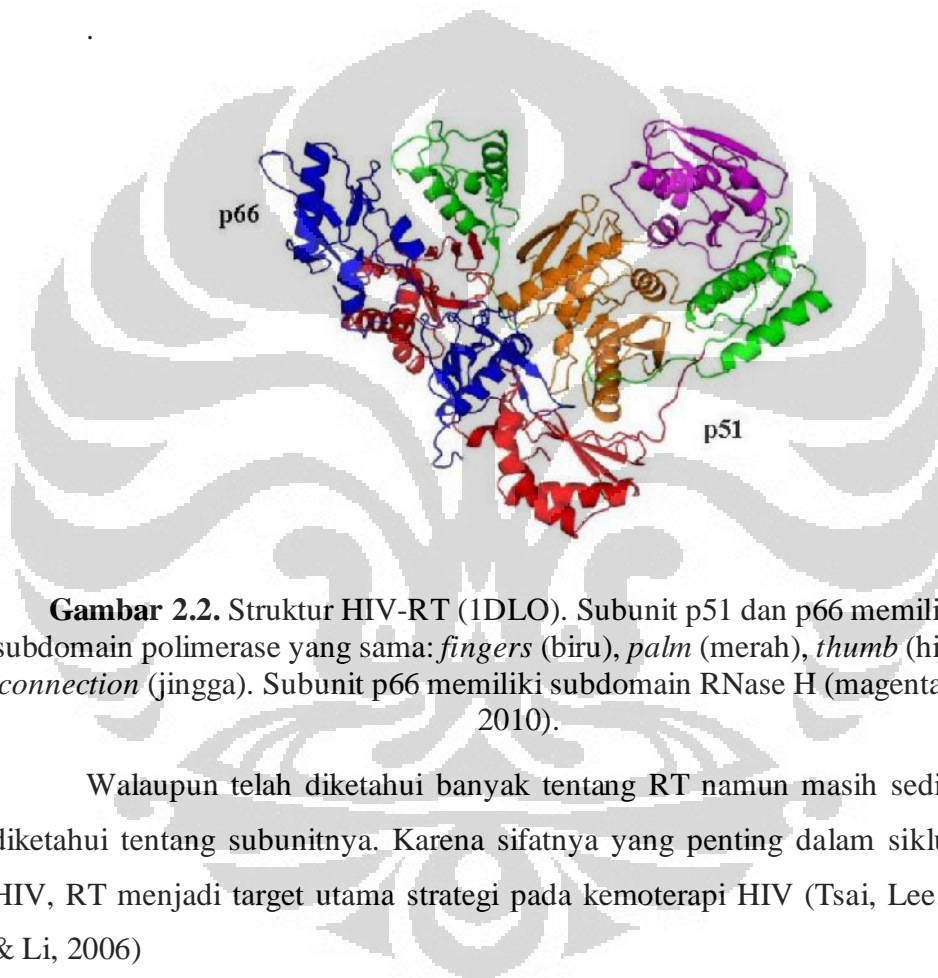
#### 2.4 HIV-1 Transkriptase Balik (RT)

Transkriptase balik memiliki tiga fungsi enzim yang berbeda: (1) aktivitas DNA polimerase dependen RNA, (2) DNA polimerase dependen DNA dan (3) aktivitas RNase H (Patel, et al., 1995). Bentuk RT yang aktif biologis adalah heterodimer yakni antara subunit p51 dan p66. Selain itu, tiap subunit tersebut dapat membentuk homodimer. Subunit p51 tidak memiliki domain ribonuklease H (RNase H) sedangkan subunit p66 memiliki domain tersebut sekaligus domain polimerase. Subunit-subunit tersebut merupakan produk dari gen yang sama dan memiliki sekuens residu asam amino N-terminal yang sama.

Subunit p66 memiliki 560 residu asam amino sementara p51 terdiri atas 440 residu asam amino. Perbedaan 120 residu asam amino pada p66 berperan sebagai aktivitas RNase H (2). Hasil penyejajaran struktur unit p66 dan p51 dapat dilihat pada lampiran 30.

. Gambar struktur kristal transkriptase balik dapat dilihat pada gambar 2.2. Subdomain RNase H terlihat pada gambar memiliki warna magenta Subunit p66

berperan dalam aktivitas RT dan mengandung sisi aktif pengikatan DNA serta memiliki konformasi terbuka untuk memungkinkan menggenggam cetakan. Tiap subunit memiliki empat subdomain yang sama dengan orientasi berbeda satu dengan yang lainnya. Keempat subdomain tersebut adalah: *finger*/jemari (residu 1-85, 118-155), *palm*/telapak (residu 86-117, 156-237), dan *thumb*/ibu jari (residu 238-318). Residu penghubung kedua subunit yang disebut sebagai subdomain *connector* adalah residu 319-426 (Wang, et al., 1994).



**Gambar 2.2.** Struktur HIV-RT (1DLO). Subunit p51 dan p66 memiliki 4 subdomain polimerase yang sama: *fingers* (biru), *palm* (merah), *thumb* (hijau) dan *connection* (jingga). Subunit p66 memiliki subdomain RNase H (magenta) (Braz, 2010).

Walaupun telah diketahui banyak tentang RT namun masih sedikit yang diketahui tentang subunitnya. Karena sifatnya yang penting dalam siklus hidup HIV, RT menjadi target utama strategi pada kemoterapi HIV (Tsai, Lee, Stollar, & Li, 2006)

## 2.5 Inhibitor HIV-1 RT

Selama lebih dari satu dekade telah dilakukan pengembangan terhadap agen antiviral yang mentarget HIV-RT. Sekarang, secara umum inhibitor yang mentarget RT dapat diklasifikasikan menjadi dua kelas yaitu nukleosida RT inhibitor (NRTI) dan nonnukleosida RT inhibitor (NNRTI). NRTI merupakan

analog dideoksinukleosida trifosfat (ddNTP) yang mencegah pemanjangan lebih lanjut (elongasi) rantai DNA. NNRTI adalah inhibitor nonkompetitif selektif yang mengikat pada kantung dekat sisi aktif RT dan mekanisme aksinya masih belum terlalu dipahami (Braz, 2010).

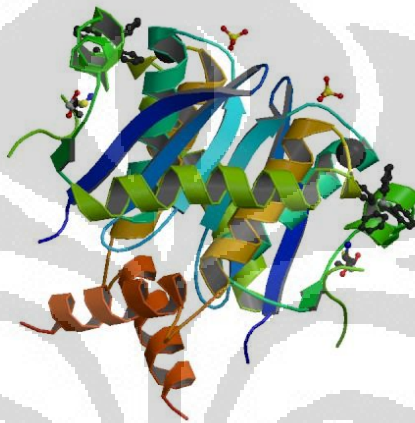
Secara luas untuk penggunaan klinik, tersedia empat jenis NNRTI: nevirapine, delavirdine, efavirenz, dan etravirine. NNRTI diketahui dapat menghambat aktivitas DNA polimerase, meningkatkan aktivitas RNase H dependen polimerase (pengarah 3'-DNA) dan menghambat parsial aktivitas RNase H independen polimerase (pengarah 5'-RNA). NNRTI sangat efektif dan relatif nontoksik.

NNRTI adalah kelas berbagai senyawa kecil berbeda yang mengikat pada kantung hidrofobik dengan jarak sekitar 10 Å dari sisi aktif polimerase RT. Menggunakan suatu model kompleks RT-EFV, diketahui kantung pengkompleksan berada pada subdomain *palm* (Ren, Milton, Weaver, Short, Stuart, & Stammers, 2000). Efavirenz mengikat 14 residu pada kantung ikatan subunit p66 heterodimer: L100, K101, K103, V106, V179, Y181, Y188, G190, F227, W229, L234, H235, P236, dan Y318 diamati menggunakan piranti lunak LPC. Diduga, subunit p51 dan p66 memiliki kantung ikatan yang sama karena keduanya memiliki sekuens asam amino identik dan pola pelipatan subdomain polimerase yang mirip (Braz, 2010).

## 2.6 HIV-1 Integrase (IN)

HIV-1 IN adalah enzim yang berperan penting dalam menginsersi/mengintegrasikan ds DNA virus ke DNA inang. IN merupakan suatu enzim 32 kDa yang terdiri atas 288 residu asam amino. Protein IN memiliki tiga domain: N-terminal, inti/*core* (katalitik), dan C-terminal. Domain N-terminal meningkatkan multimerisasi IN melalui suatu pengkoordinasian oleh atom Zn (motif HHCC) dan mempromosikan integrasi bersamaan dua cDNA viral ke kromosom sel inang. Domain C terminal berperan dalam pengikatan DNA independen logam dan sekuens (Semenova, Marchand, & Pommier, 2006).

Setiap molekul IN memiliki situs katalitik dalam domain inti triad residu asam amino karboksilat: Asp64, Asp 116, dan Glu 152 (motif D,D-35-E). Residu ini berkoordinasi dengan satu atau dua kation divalen ( $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  atau  $\text{Mn}^{2+}$ ) dengan D64 dan D116 yang membentuk jembatan ikatan dengan substrat DNA. Terdapat satu *loop* fleksibel (residu 140-149) yang menghadap sisi katalitik dan mungkin berimplikasi pada reaksi katalitik (Engelman, Hickman, & Craigie, 1994).



**Gambar 2.3.** Domain inti integrase HIV (Molteni, et al., 2001)

## 2.7 Inhibitor HI-1 IN

Integrasi adalah proses yang melibatkan banyak bagian berbeda (setidaknya empat) yakni enzim, ion logam divalen, DNA viral dan DNA inang. Inhibisi integrasi membutuhkan intervensi dari inhibitor yang bisa berperan sebagai: (1) oligonukleotida yang dapat berinteraksi dengan IN pada sisi aktif DNA viral atau inang, (2) peptida yang berinteraksi dengan viral DNA atau inang ataupun (3) senyawa ber-BM relatif kecil yang berikatan dengan ion divalen sisi aktif IN. Manusia tidak memiliki enzim seperti IN, sehingga pentargetan IN diharapkan adalah pentargetan yang selektif seperti pada inhibitor RT.

Pengembangan inhibitor IN yang berprinsip mentarget komponen yang berbeda dari sasaran terapi kombinasi antiretroviral akan memberikan alternatif perawatan yang dapat dipilih untuk kasus resistensi inhibitor RT dan PR. Diketahui dari hasil penelitian *in vitro* bahwa penggunaan inhibitor IN akan

memberikan efek sinergis saat diberikan bersama dengan inhibitor RT dan PR (Santo, Costi, Artico, Tramontano, Colla, & Pani, 2003). Contohnya adalah hasil penelitian yang menunjukkan bahwa L-asam kikorat, suatu inhibitor IN dari senyawa alam menunjukkan efek yang sangat sinergis terhadap pemberian zidovudine, serta pada pemberian dideoksisitidin dan nelfinavir yang memberikan harapan bahwa integrase inhibitor dapat menjadi metode baru obat antiretroviral (Beale & Robinson, 2000).

Inhibitor IN nonpeptidik dapat dibagi menjadi empat kelas berbeda: turunan benzoilpiruvat, turunan 8-hidroksikuinolin, turunan polifenol dan kelas lain-lain untuk molekul yang belum terklasifikasikan. Inhibitor integrase pertama yang selektif menginhibisi transfer utas DNA, termasuk dalam anggota DKA, dipatenkan pada 1999. Penamaan yang tepat untuk molekul tersebut adalah asam 4-aril-3-okso-2-hidroksibutenoat. Dengan adanya  $Mg^{2+}$ , senyawa ini akan terdeprotonasi menjadi dianion dan dapat berinteraksi dengan ion divalen (Hajuda, et al., 2000).

Turunan 8-hidroksikuinolin adalah ligan ion divalen yang telah dikenal secara luas dan secara cepat dijadikan sebagai farmakofor utama. Terdapat paten yang berhasil memasukkan asam 8-hidroksikuinolin-7-karboksilat ke dalam struktur IN Inhibitor dengan  $IC_{50}$  in vitro pada rentang 0,3-4  $\mu M$ . Lebih lanjut lagi, dipatenkan ester metil 8-hidroksikuinolin-7-karboksilat tersubsitusi pada posisi 3 oleh gugus benzil dengan  $IC_{50}$  mencapai 200 nM. Diketahui N heterosiklik tidak terlalu berpengaruh terhadap aktivitas inhibisi IN. Terdapat banyak senyawa turunan polifenol diidentifikasi sebagai inhibitor IN. Diantaranya adalah polifenol alam seperti asam kikorat, asam 3,5-dikafeoilkuinat dan asam litospermat (Cotelle, 2006).

Pada tahun 2007, FDA menyetujui peluncuran dari raltegravir (Isentress®) sebagai pengobatan HIV untuk dikombinasikan dengan agen terapi infeksi HIV-1 lainnya. Senyawa ini adalah senyawa pertama dari kelas farmakologis antiretroviral golongan integrase inhibitor yang disetujui oleh FDA (Klein, 2007). Raltegravir merupakan suatu analog 1-N-alkil-5-hidroksipirimidon yang memiliki struktur dengan karakteristik pengkhelat logam dan dipostulasikan berinteraksi

dengan logam bivalen dalam sisi aktif integrase HIV-1. Integrase inhibitor (raltegravir) digunakan dalam regimen kombinasi dengan antiretroviral lainnya untuk pasien yang menunjukkan tanda-tanda multiresisten obat antiretroviral (Evering & Markowitz, 2008).

Percobaan penapisan virtual pada integrase inhibitor HIV-1 telah dilakukan pada lab NCI (Liao, Karki, Marchand, Pommier, & Nicklaus, 2007). Hipotesis awal penelitian ini didasarkan atas integrase yang dinilai dapat dijadikan target terapi HIV-AIDS, hal ini disebabkan enzim tersebut merupakan enzim yang esensial untuk mengintegrasikan DNA viral ke kromosom sel yang terinfeksi. Basis data yang digunakan berisi 207.000 struktur dari NCI *drug information system*. Acuan farmakofor didapatkan dari dua inhibitor yang diketahui yakni CAPE dan NSC 115290.

Total 267 senyawa dihasilkan dari penapisan virtual sebagai senyawa poten dan 60 diantaranya dipilih berdasarkan ketersediaan fisik dilakukan uji, estimasi kelarutan dan kemiripan sifat obat (*druglikeness*). Dari 60 senyawa yang menjadi daftar hasil pencarian, 19 diantaranya senyawa aktif (konsentrasi inhibisi 50% atau  $IC_{50} < 200 \mu M$ ), berarti nilai kesuksesan mencapai 32%. Penelitian ini membuktikan bahwa proses penapisan virtual secara statistik signifikan membantu. Selain itu, penelitian ini memberikan ide bahwa kemungkinan adanya senyawa yang negatif palsu, yakni senyawa yang memiliki probabilitas senyawa aktif namun tidak teramati sebagai farmakofor (Hong, et al., 1997).

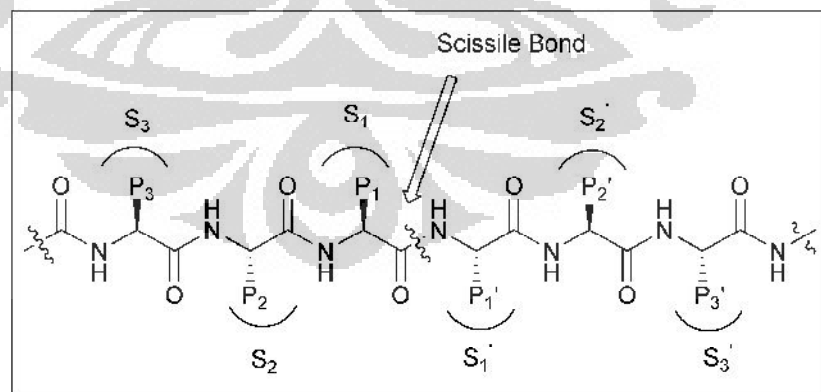
## 2.8 HIV-1 Protease (PR)

HIV-1 protease adalah enzim yang berperan dalam pemotongan polipeptida hasil translasi genomik viral untuk menghasilkan protein-protein fungsional virion baru. Sehingga, protease menunjukkan fungsi yang penting dalam penataan dan pematangan virus. Struktur kristal HIV-PR pertama kali didapatkan menunjukkan bahwa HIV protease terdiri atas dua rantai protein yang identik, masing-masing rantai tersusun atas 99 residu asam amino (Wlodawer, 2002).



**Gambar 2.4.**Struktur kristal HIV-1 Protease

Enzim ini merupakan anggota kelas aspartil protease dan hanya memiliki satu sisi aktif saat berbentuk homodimer. Setiap monomer memiliki region  $\beta$ -sheet ekstensi (*loop/pilinan* yang kaya dengan glisin pada residu 43-49 dan 52-58) yang disebut dengan *flap* dan memainkan peran penting sebagai sisi pengikatan substrat. Selain itu, setiap monomer memiliki satu residu asam amino Asp-25 dan Asp-25' yang berada di bawah bagian pengikatan substrat. Substrat berikatan dalam konformasi ekstensi dimana interaksi dengan residu berbeda yang menentukan spesifitas enzim dan diklasifikasikan menjadi subsitus 1 (S1 dan S1'), 2 (S2 dan S2'), 3 (S3 dan S3') (gambar 5). Subsitus 1 sangat hidrofobik, sementara subsitus 2 hidrofobik kecuali Asp-29 dan 29', Asp-30 dan 30'. Subsitus S3 berbatasan dengan S1 dan juga bersifat hidrofobik (Brik & Wong, 2003).



**Gambar 2.5.** Nomenklatur Standar Situs Pengikatan HIV-1 Protease.  $P_1$ - $P_n$ ,  $P_1'$ - $P_n'$  adalah untuk menggambarkan residu asam amino substrat peptida. Subsitus pengikatan dinamakan sebagai  $S_1$ - $S_3$ ,  $S_1'$ - $S_3'$  (Brik & Wong, 2003)

## 2.9 Inhibitor HIV-PR

Inaktivasi protease dengan mutasi ataupun inhibitor kimia menghasilkan produksi dari partikel viral yang tidak matang dan noninfeksi. Tersedianya struktur kristal PR menjadi salah satu sebab perkembangan yang cepat dalam penemuan inhibitor. Dengan diketahui fungsi dan klasifikasinya sebagai penghidrolisis peptida, dirancanglah berbagai senyawa obat yang bersifat sebagai peptidometik dengan mengganti gugus yang rentan hidrolisis pada  $P_1-P_1'$  dengan gugus yang tidak rentan penyerangan (*nonscissile*). Senyawa inhibitor pertama adalah saquinavir yang dirancang tanpa mengetahui struktur kristal namun dengan analisis menggunakan renin. Pada saquinavir, gugus rentan amida polipeptida disubstitusi dengan gugus hidroksietilamin. Karena sifat farmakokinetiknya kurang memuaskan dan konsentrasi plasma cenderung rendah, dilanjutkan pencarian molekul inhibitor dengan karakteristik lebih baik.

Ritonavir, inhibitor peptidometik berikutnya, mulai beredar pada 1996 yang didesain untuk berikatan pada situs ikatan simetris C2. Gugus fenil diganti dengan piridiluntuk meningkatkan kelarutan dalam air. Kemudian berkembang nelfinavir, inhibitor protease nonpeptidik pertama. Nelfinavir memiliki gugus 2-metil-3-hidroksibenzamid, sementara terminal karboksilnya mengandung gugus dehidroisokuinolin seperti saquinavir. Sementara ini, obat PI yang paling baru adalah darunavir dan beberapa protease inhibitor generasi kedua lainnya yang didesain spesifik untuk selektif terhadap enzim protease HIV dari berbagai strain (Ghosh, Dawson, & Mitsuya, 2007). Gambar struktur inhibitor protease dapat dilihat pada lampiran 6.

Ketersediaan struktur kristal HIV-1 PR adalah salah satu penyebab utama perkembangan obat yang sangat cepat (Wlodawer, 2002). Setelah publikasi struktur pertama HIV-1 PR yang berkompleks dengan inhibitor peptidomimetik, kristal HIV-1 dan HIV-2 yang berkompleks dengan inhibitor semakin banyak dan beberapa mencapai resolusi sebesar 1,55 Å (Mahalingam, et al., 1999).



## 2.10 Penemuan Obat

Secara umum terdapat tujuh tahap dalam proses penemuan obat: pemilihan penyakit, hipotesis target, identifikasi senyawa (penapisan), percobaan praklinik, percobaan klinik, serta optimisasi farmakogenomik.. Teknologi telah berkembang untuk melakukan penelusuran serta penapisan terhadap ribuan senyawa perharinya untuk menemukan senyawa obat. Pustaka senyawa kimia yang beragam dapat mengandung banyak senyawa tidak mirip obat (*non-drug-like*) sehingga mengurangi efisiensi apabila dilakukan pengujian dan sintesis terhadap keseluruhan pustaka. Dilakukan berbagai percobaan untuk memberikan hasil yang lebih efisien dalam penemuan obat. Metode yang banyak digunakan oleh perusahaan dan peneliti obat adalah menggunakan desain obat rasional (Xu & Hagler, 2002).

Desain obat berbantuan struktur (*structure-assisted*) atau desain obat rasional menggunakan teknik seperti kristalografi protein, NMR, dan biokimia komputasi untuk mensintesis obat yang potensial. Informasi struktur berguna sebagai dasar pengembangan yang efektif dan meningkatkan potensi dan spesifitas senyawa pemandu. Metode komplementer desain molekuler berbantuan komputer dan kimia kombinatorial telah banyak digunakan dalam mengidentifikasi pemandu dan fase pengembangan obat (Gane & Dean, 2000).

## 2.11 Bioinformatika

Bioinformatika dapat didefinisikan sebagai penelitian, pengembangan atau aplikasi dari peralatan komputasi dan pendekatan untuk mengembangkan penggunaan data kesehatan, tingkah laku, medis dan biologis termasuk untuk mendapat, menyimpan, mengarsip dan menganalisis data tersebut (Huerta, Haseltine, Liu, Gregory, & Seto, 2000). Tujuan umum dari bioinformatika dalam penemuan obat adalah identifikasi target teurapetik baru dan pencarian senyawa penuntun.

Bioinformatika memiliki peranan yang luas, termasuk dalam bidang desain obat. Terutama obat-obat yang mempengaruhi kerja enzim baik sebagai

induktor ataupun inhibitor. Penelitian untuk mengetahui fungsi dan struktur enzim membutuhkan waktu yang sangat lama. Data penelitian tersebut, dengan adanya perkembangan bioinformatika, dapat dengan mudah diakses dan dianalisa untuk penelitian berikutnya. Dari data ini dapat dilakukan pencarian situs aktif dan perancangan senyawa obat menggunakan metode berdasarkan struktur (*structure based drug design*) melalui metode penambatan molekuler (Pollock & Safer, 2001).

## 2.12 Penambatan Molekuler

Penambatan molekuler adalah salah satu metode untuk penapisan senyawa dengan prinsip berdasarkan struktur (*structure based*) dengan bantuan komputasi. Penambatan dapat dilakukan bila diketahui struktur tiga dimensi protein target. Selama proses pengikatan, terdapat perubahan entalpi dan entropi dalam sistem protein-ligan yang berkaitan dengan perubahan struktur inter dan intraatomik protein dan ligan. Penambatan molekuler memprediksi konformasi kompleks ligan-protein dan mengkalkulasi afinitas pengikatannya.

Secara umum, interaksi ligan-protein adalah interaksi nonkovalen yang mencakup ikatan hidrogen, interaksi ionik, interaksi hidrofobik, interaksi  $\pi$ - $\pi$  dan interaksi kation- $\pi$ . Metode komputasi berusaha untuk memprediksi interaksi dan afinitas ikatan serta konformasi dari kompleks ligan-protein tersebut (Fong & Lei, 2010).

Untuk memprediksi interaksi ligan-protein, semua program penambatan melakukan dua fungsi utama yakni “penambatan/*docking*” dan “penilaian/*scoring*”. Fungsi pertama mencakup pembuatan konformasi-konformasi ligan-protein yang disebut “posisi/*pose*” ataupun penyampelan konformasi yang mungkin pada kantung ikatan protein. Umumnya, program penambatan melakukan proses pencarian posisi dengan pola ligan yang fleksibel dan protein yang kaku. Setiap posisi dievaluasi (dinilai) berdasarkan bentuk dan karakteristik seperti elektrostatik untuk menemukan posisi yang paling disukai (Okimoto, et al., 2009).

Dalam sistem biologi yang real, sistem tersebut mencakup ligan, makromolekul dan pelarut. Proses penambatan molekuler umumnya mengeksklusikan molekul pelarut karena derajat kebebasannya yang sangat banyak dan memberatkan proses (Kaapro & Ojanen, 2002). Molekul yang memiliki karakter obat umumnya bersifat fleksibel, dapat mencapai 8 ikatan yang dapat berotasi (Oprea, 2000). Fleksibilitas ligan pada percobaan penambatan umumnya dicapai menggunakan metode optimasi kombinatorial seperti fragmentasi, pemasangan, algoritma genetik, ataupun teknik simulasi (Kaapro & Ojanen, 2002).

### **2.13 Fungsi Penilaian**

Saat melakukan studi tentang penambatan, peneliti akan melakukan tahap sebagai berikut: penambatan suatu set molekul, penilaian ulang (opsional), mensortir hasil penambatan berdasarkan penilaian, dan mengamati secara visual molekul dengan penilaian teratas. Oleh karena itu, kemampuan penilaian untuk mengidentifikasi secara tepat senyawa aktif adalah penting untuk keberhasilan penelitian.

Fungsi penilaian harus mampu memperingkatkan ordo kolektif molekul pada penapisan virtual, yang dilakukan pada target tunggal. Walaupun fungsi penilaian terkalibrasi pada satu target akan lebih efektif, namun umumnya data yang dimiliki saat pengembangan obat belum cukup untuk melakukan hal tersebut. Sehingga alasan tersebut dan kepraktisan penggunaan alat yang dapat secara umum digunakan menginspirasi pengembangan fungsi penilaian untuk prediksi ikatan pada sistem yang berbeda.

Berbagai variasi kombinasi fungsi penilaian dan penambatan telah diaplikasikan pada penapisan virtual. ChemScore dari GOLD adalah fungsi penilaian yang paling banyak digunakan dalam penapisan virtual serta diketahui memberikan output yang lebih baik pada beberapa studi komparatif (Perola, Walters, & Charifson, 2005).

Secara umum, fungsi penilaian dibagi menjadi tiga macam – berdasarkan fisika, statistik, dan empirik. Fungsi penilaian berdasarkan fisika menggambarkan interaksi atom, gugus dan molekul melalui gaya fundamental yang dikenal oleh ahli fisikokimia seperti ikatan kovalen, vdW, gaya elektrostatik dan lain lain melalui fungsi potensial, medan gaya, atau Hamiltonian dengan preskripsi (dinamika molekuler, penyampelan Monte Carlo, dan sebagainya) untuk mendapatkan kesetimbangan. Contoh dari tipe ini adalah deskriptor fungsi AMBER, CHARMM, dan Poisson-Boltzmann. Fungsi penilaian berbasis fisika mengekstraksi potensial gugus atau atom efektif sebagai fungsi dari jarak struktur kompleks ligan yang telah diketahui.

Tipe kedua adalah fungsi penilaian berdasarkan statistik (atau dikenal juga berbasis pengetahuan). Energi ikatan bebas kompleks dihasilkan dari total energi bebas (rata-rata potensial) kontak interatomik dihitung berdasarkan frekuensi jarak interatomik dari database struktur eksperimental menggunakan metode statistika mekanik. Contoh untuk tipe ini adalah Drugscore dan Bleep (Lyne, 2002).

Tipe ketiga adalah fungsi penilaian berdasarkan empirik yang diderivatisasi dari data fisikokimia menggunakan suatu data potensial yang menghubungkan karakter struktur kompleks ikatan ke afinitas ikatan. Koefisien dari masing-masing karakter diparameterisasi menjadi suatu set data pengikatan. Contoh untuk tipe ketiga adalah ChemScore dan potensial Ludi (Lyne, 2002; Sharp, 2005). Kebanyakan fungsi penilaian tipe ini menggunakan ekstensi persamaan pemodelan energi ikatan bebas dengan menambahkan entropi ke dalam persamaan mekanika molekuler (Morris, et al., 1998):

$$\Delta G = \Delta G_{vdW} + \Delta G_{hbond} + \Delta G_{elec} + \Delta G_{conform} + \Delta G_{tor} + \Delta G_{Sol}$$

Berturut-turut dalam rumus tersebut adalah terminologi umum untuk energi bebas kompleks; dispersi / repulsi ( $\Delta G_{vdW}$ ); ikatan hidrogen ( $\Delta G_{hbond}$ ); elektrostatik ( $\Delta G_{elec}$ ); deviasi kovalen geometri ( $\Delta G_{conform}$ ); restriksi rotasi internal, rotasi global dan translasi ( $\Delta G_{tor}$ ); serta desolvasi pengikatan / efek hidrofobik ( $\Delta G_{Sol}$ ).

## 2.14 AutoDock

AutoDock adalah peralatan penambatan terautomatisasi. AutoDock didesain untuk memprediksi molekul kecil berikatan dengan reseptor. AutoDock terdiri atas dua program utama: AutoDock yang melakukan penambatan ligan pada suatu set grid yang menggambarkan protein target dan AutoGrid yang memprekalkulasi grid tersebut. AutoDock dilengkapi dengan AutoDock Tools (ADT) yang membantu dalam analisis dan pengaturan penambatan (Morris, et al., 2009).

AutoDock menggunakan perhitungan Monte Carlo *simulated annealing* dan dikombinasikan algoritma genetika Lamarckian (LGA) untuk menghasilkan suatu set probabilitas konformasi. LGA digunakan sebagai pengoptimasi global dan meminimisasi energi dalam metode pencarian lokal. Pada AutoDock, konsep algoritma genetik digunakan untuk menganalogikan translasi, orientasi, serta konformasi ligan terhadap protein dengan variabel gen. Kondisi ligan dihubungkan sebagai genotip dan kordinat atomnya adalah fenotip.

Orientasi yang mungkin dievaluasi menggunakan suatu model medan gaya AMBER berdasarkan fungsi penilaian energi bebas dan suatu set besar kompleks-ligan dengan konstanta protein-ligan yang diketahui. AutoDock versi 4 dilengkapi dengan fleksibilitas rantai samping. AutoDock memiliki halaman situs yang lebih informatif dan memiliki izin gratis untuk pengguna kalangan akademik sehingga dapat digunakan sebagai titik awal dalam mendalami piranti lunak penambatan molekular (Kaapro & Ojanen, 2002).

Berkas keluaran penambatan menggunakan AutoDock adalah pose dan energi bebas ( $\Delta G$ ) tiap pose tersebut. Selain itu, didapatkan nilai konstanta inhibisi ( $K_i$ ) yang didefinisikan sebagai konsentrasi inhibisi laju reaksi dengan inhibitor adalah setengah laju reaksi tanpa inhibitor untuk suatu konsentrasi substrat. Nilai  $K_i$  dikalkulasi menggunakan persamaan Cheng-Prusoff (Giraldo, Serra, Roche, & Rovira, 2007):

$$K_i = \frac{I_{50}}{1 + \frac{[S]}{K_M}}$$

### 2.15 AutoDock Vina

AutoDock Vina (Vina) adalah piranti lunak yang dikembangkan untuk penambatan serta penapisan virtual. Vina dikembangkan oleh *Molecular Graphics Lab*. Menggunakan AutoDock Vina, kecepatan proses penambatan dapat mencapai dua kali lipat dibandingkan AutoDock. Berbeda dengan AutoDock, Vina secara otomatis mengkalkulasi pemetaan grid.

Bentuk fungsi penilaian Vina adalah sebagai berikut

$$c = \sum_{i < j} f_{t_i t_j}(r_{ij})$$

Penjumlahan seluruh pasangan atom yang dapat berpindah relatif satu dengan yang lain, umumnya mengabaikan interaksi elektrostatik 1-4 (atom-atom yang dipisahkan oleh 3 ikatan kovalen). Setiap atom  $i$  diberikan tipe  $t_i$ , dengan set simetris fungsi interaksi  $f_{t_i t_j}$  untuk jarak interatomik  $r_{ij}$ .

Nilai  $c$  terdiri atas penjumlahan kontribusi intermolekular dan intramolekular. Algoritma optimisasi akan mencari global minima dari  $c$  kemudian memperingkatkannya. Langkah algoritma yang dimasukkan terdiri atas mutasi dan optimisasi lokal menggunakan metode Broyden-Fletcher-Goldfarb-Shanno (BFGS). BFGS adalah metode optimisasi kuasi-Newton yang menggunakan derivat fungsi penilaian berdasarkan argumen posisi dan orientasi ligan, nilai torsi ikatan yang dapat diputar (*rotatable bonds*).

Kalkulasi oleh Vina dilakukan secara *multithreading* yang memungkinkan paralelisme piranti keras dengan pembagian memori bersama (*shared memory*) seperti CPU *multi-core*. Algoritma optimisasi akan mempertahankan set minima dari berbagai penjalanan kalkulasi (*run*), kemudian mengkombinasinya dan mengklusternya (Trott & Olson, 2010).

### 2.16 GOLD

GOLD (*Genetic Optimization for Ligand Docking*) merupakan suatu program untuk menambatkan ligan yang fleksibel ke dalam sisi aktif. GOLD pertama kali diciptakan oleh Jones dari Universitas Sheffield, Inggris. Semenjak dirilis pada 1998, GOLD didistribusikan dan dikembangkan oleh CCDC

(*Cambridge Crystallographic Centre*). GOLD telah divalidasi menggunakan 305 kompleks protein-ligan berbeda dari PDB, 72% solusi peringkat teratas menunjukkan hasil yang akurat dan mereproduksi sekitar 81% modus ikatan dalam rentang 2,0 Å dibandingkan dengan struktur kristal (*The Cambridge Crystallographic Data Centre*, 2009).

GOLD menggunakan suatu algoritma genetik untuk menghasilkan penambatan ligan yang fleksibel dengan protein yang dianggap kaku. Kromosom genetika GOLD terdiri atas empat gen yang masing-masing mengkodekan informasi konformasional protein dan ligan, ikatan hidrogen dan interaksi lipofilik. Setiap ikatan hidrogen dan interaksi lipofilik protein direpresentasikan sebagai elemen larik. Elemen ini lalu dihubungkan dengan pasangan pada ligan atau tidak dipasangkan sama sekali. Posisi 3 dimensi dibuat berdasarkan setiap informasi kromosom.

Populasi kromosom akan berevolusi selama operasi genetik sekuensial dan dikumpulkan dalam sejumlah *ring* populasi (jumlah *default* adalah 5). Tiga operasi genetik akan dilakukan terhadap populasi tersebut: (1) mutasi titik; (2) pertukaran silang; (3) migrasi. Kromosom baru akan diterjemahkan dan *fitness* posisi terkait dievaluasi. Bila hasilnya lebih baik dari posisi kromosom *least fit*, posisi ini akan menggantikan kromosom tersebut (Stouten & Kroemer, 2007).

Protein dengan gugus hidroksil dapat diperlakukan sebagai protein fleksibel. Hal ini yang menjadikan GOLD sebagai pilihan yang baik pada kantung ikatan yang terdapat asam amino yang memiliki ikatan hidrogen dengan ligan. GOLD menggunakan fungsi penilaian berdasarkan konformasi dari CSD (*Cambridge Structural Database*) dan berdasarkan hasil empirik interaksi kimiawi lemah. Pengembangan GOLD sekarang difokuskan kepada peningkatan algoritma komputasional dan menambahkan dukungan untuk proses secara paralel (Kaapro & Ojanen, 2002).

Fungsi penilaian GoldScore memberikan nilai kesesuaian (*fitness*) yang tidak memiliki dimensi. Semakin tinggi nilai kesesuaian GoldScore, semakin baik hasil penambatan. GoldScore dalam memprediksi posisi ikatan ligan

menggunakan parameter seperti energi ikatan hidrogen, van der Waals, dan torsi. Nilai kesesuaian GoldScore didapat menggunakan persamaan berikut:

$$Fitness = S(hb_{ext}) + (1,3750 \times S(vdw_{ext})) + S(hb_{int}) + S(vdw_{int}) + SCust$$

S adalah nilai kesesuaian untuk tiap parameter. Parameter  $hb_{ext}$  adalah ikatan hidrogen antara ligan dan makromolekul,  $vdw_{ext}$  adalah interaksi van der Waals antara ligan dan makromolekul,  $hb_{int}$  adalah ikatan hidrogen intramolekuler ligan,  $vdw_{int}$  adalah interaksi van der Waals intramolekuler ligan (The Cambridge Crystallographic Data Centre, 2011).

## 2.17 Penapisan Virtual

Penapisan virtual (*virtual screening*) ataupun dikenal juga sebagai *in silico screening* (penapisan *in silico*) adalah suatu metode pendekatan yang menarik khususnya untuk praktisi bidang farmasi industri sebagai suatu teknologi yang efektif biaya serta produktif dalam pencarian senyawa penuntun (*lead compound*). Penapisan virtual digambarkan sebagai penggunaan perhitungan komputasi kinerja tinggi untuk menganalisis suatu database dari banyak senyawa kimia untuk mengidentifikasi probabilitas kandidat obat. Pendekatan ini menjadi langkah yang komplemen terhadap pendekatan sintesis kimia secara *high-throughput screening* dan uji biologis (Waszkowycz, Perkins, Sykes, & Li, 2001).

Percobaan eksperimental melakukan penapisan biologis jutaan senyawa diperkirakan membutuhkan banyak usaha, sehingga desain rasional obat menggunakan pendekatan komputasi dapat menjadi alternatif (Reddy, Pati, Kumar, Pradeep, & Sastry, 2007). Penapisan *in silico* dengan pendekatan yang sesuai dapat mengurangi jumlah molekul yang akan dilakukan uji *in vitro* dan *in vivo* dari ribuan senyawa menjadi ratusan senyawa.

Tahap yang penting dalam penapisan virtual mencakup: preparasi struktur protein, preparasi basis data ligan, kalkulasi penambatan dan postproses. Langkah yang paling penting untuk penapisan virtual adalah analisis awal dari kantung ikatan dari protein target (Klebe, 2005). Tahap paling awal dari penapisan virtual adalah mempersiapkan struktur protein untuk proses penapisan. Ketika didapatkan lebih dari satu struktur representatif sebagai protein target, harus dilakukan



determinasi struktur yang paling sesuai untuk menjadi target penapisan. Perlu diperhatikan bahwa pada struktur protein tanpa ligan, sisi pengikatannya cenderung lebih kecil dan rantai samping residu mungkin tidak mengarah ke bagian yang cocok untuk pengikatan senyawa. Pada beberapa kasus, adanya perubahan struktur protein yang signifikan ketika mengikat suatu inhibitor. Sehingga adanya ligan pada struktur protein memberikan kepastian sisi ikatan telah dioptimasi, orientasi sisi aktifnya sesuai untuk interaksi dengan ligan lainnya (Lyons, Fisher, Varma, & Chen, 2005).

Umumnya protein cukup sekali dipreparasi kecuali diinginkan konformasi yang berbeda. Situs ikatan harus ditentukan dan muatan harus telah diberikan kepada reseptor. Selain itu dilakukan penentuan data interaksi termasuk menandai akseptor / donor ikatan hidrogen dan sebagainya yang biasanya sudah ada pada piranti lunak penambatan. Metode preparasi situs aktif tersebut bergantung pada piranti lunak yang digunakan sebagai alat penambatan namun yang umum digunakan adalah penambahan hidrogen lalu meminimasi energi untuk menghindari tabrakan sterik yang mungkin timbul (Lyne, 2002).

Karena jumlah molekul yang digunakan banyak, tahapan manual pada preparasi ligan sebaiknya dihindari. Umumnya dimulai dari struktur 2 dimensi, tipe ikatan harus ditentukan, kondisi protonasi dideterminasi, muatan perlu diberikan serta molekul pelarut dihilangkan. Kalkulasi penambatan biasanya dilakukan pada satu ligan pada satu waktu. Bergantung pada optimisasi dan parameter penyampelan serta fleksibilitas senyawa, dibutuhkan waktu beberapa detik hingga menit untuk tiap ligan. Karena proses penambatan bersifat independen satu dengan yang lain, proses ini dapat dilakukan secara paralel. Terkadang program pembagian proses penambatan pada CPU tersedia pada banyak program penambatan. Postproses dapat mencakup perlakuan teknik MD untuk mengolah data yang belum tercapai pada fungsi penilaian primer (Muegge & Enyedy, 2003).

### 2.17.1 Struktur Protein untuk Penapisan Virtual

Struktur 3 dimensi reseptor resolusi skala atom penting untuk memulai eksperimen penambatan ligan ke protein. Pertumbuhan eksponensial data tentang struktur kristal pada beberapa tahun belakangan menyediakan sumber terpercaya untuk struktur protein. Protein Data Bank (PDB) hingga tahun 2011 mencakup hingga lebih dari 70.000 struktur kristal. Perlu diperhatikan, kemungkinan suksesnya penapisan virtual sangat bergantung pada kualitas struktur yang ada. Struktur harus cukup rinci, umumnya dianggap penting untuk memiliki resolusi sekitar 2,5Å (Jones, Willett, Glen, Leach, & Taylor, 1997). Tiap protein harus dipelajari tersendiri secara teliti yang dapat menentukan hasil penapisan virtual yang lebih menjanjikan (Muegge & Enyedy, 2003).

### 2.17.2 Penapisan Virtual Menggunakan GOLD.

GOLD memiliki dua fungsi penilaian yang sudah tercakup didalamnya (*built-in*) untuk penapisan virtual yakni GoldScore dan ChemScore. Goldscore memiliki tiga fokus penilaian: energi ikatan hidrogen protein-ligan (*external H-bond*), energi van der Waals protein-ligan (*external vdW*) dan energi tarikan internal ligan (*internal strain*). Fokus keempat, energi ikatan intramolekuler ligan (*internal H-Bond*) adalah fokus opsional. ChemScore didapat dari prediksi afinitas dan diparameterisasi menggunakan regresi dari konstanta pengikatan protein-ligan. Terdapat beberapa publikasi tentang penapisan virtual menggunakan GOLD yang berhasil seperti pada protein DNA girase, reseptor asam retinoat, reseptor hormon inti, hormon tiroid, protein kinase CK2, dan beberapa target protein lainnya (Cole, Nissink, & Taylor, 2005).

### 2.17.3 Penapisan Virtual Menggunakan AutoDock.

Tahap pertama yang dilakukan dalam penapisan menggunakan AutoDock adalah pengadaan direktori pustaka yang biasanya telah dikarakterisasi dengan aturan Lipinski melalui empat kriterianya: (1) berat molekul < 500, (2) logP < 5,

(3) jumlah donor ikatan hidrogen < 5 dan jumlah akseptor ikatan hidrogen < 10. Kemudian ligan diproses menjadi bentuk berkas .pdbqt dengan skrip python `prepare_ligand4.py` dalam modul AutoDock Tools. Kemudian protein target (yang sudah diunduh) juga dipreparasi menjadi bentuk .pdbqt.

Setelah bahan siap, dilakukan preparasi parameter AutoGrid dan pemetaan afinitas atomik dikalkulasi menggunakan AutoGrid. Kemudian dilakukan validasi menggunakan kontrol positif. Lalu mempreparasi direktori penambatan dan berkas parameter untuk ligan. Setelah itu, dilakukan penambatan dan diperiksa hasil yang menarik untuk dianalisis secara visual (Lindstrom, Morris, Weber, & Huey, 2008).

## 2.18 Basis Data

Basis data (*database*) adalah suatu kumpulan data yang telah diatur sedemikian rupa sehingga dapat digunakan untuk memudahkan penggunaannya untuk suatu keperluan analisis. Setiap berkas memiliki informasi terkait dan nomor akses yang dapat digunakan untuk identifikasi sekuens yang diinginkan (Utami, 2009).

Saat ini, terdapat basis data *small molecules* global, seperti PubChem (NCBI), ZINC (Shoichet Lab, UCSF), dan drugbank (*University of Alberta*). Basis data senyawa tanaman obat Indonesia telah dibuat oleh beberapa sumber, seperti yang disusun oleh LIPI, IPTEK.net dan Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma serta herbal db Universitas Indonesia (Yanuar, Mun'im, Lagho, Syahdi, Rahmat, & Suhartanto, 2011). Basis data yang disusun mencakup berbagai jenis tanaman yang sudah dikenal memiliki efek farmakologis, kandungan senyawanya, walaupun bisa juga senyawa tersebut hanya dalam bentuk golongan bukan senyawa spesifik (Sentra Informasi Iptek, 2005).

## 2.19 Protein Data Bank

Protein Data Bank (PDB) adalah arsip dari data struktural makromolekular biologis yang mencakup lebih dari 32.500 struktur. Data tersebut terdiri atas proyek yang menyumbangkan struktur, pengidentifikasi target, nama protein, organisme sumber, status produksi (klon, ekspresi dan kristalisasi), referensi terkait, serta link untuk proyek terkait. Protein target dapat dicari berdasarkan nama protein, nama pengidentifikasi target, sekuens yang mirip, program atau organisme asal. Hasil pencarian dapat disimpan dalam format FASTA ataupun txt .pdb (Kouranov, et al., 2006).

## 2.20 VegaZZ

VegaZZ adalah suatu projek kimia komputasi yang dikembangkan untuk menciptakan suatu piranti lunak pemodelan molekuler dengan antarmuka grafik 3 dimensi. VegaZZ dikembangkan dalam suatu baris perintah (*command line*) berbasis system operasi seperti Unix.

VegaZZ pertama kali digunakan untuk menghubungkan program sejenis dan mempermudah proses pembelajaran dari pemodelan molekuler. Saat ini, VegaZZ dapat digunakan untuk menyelesaikan permasalahan kimia komputasi baik untuk desain obat, optimasi ligan, pemodelan homolog dari suatu protein, serta kalkulasi penggambaran QSAR molekuler. Program ini dilengkapi dengan fitur-fitur seperti tampilan grafis untuk pengguna, program untuk mengedit dan program untuk melakukan kalkulasi terhadap molekul.

Program ini tersedia gratis untuk diunduh namun membutuhkan kunci aktivasi untuk akses non-profit. Program ini dapat diunduh melalui situs <http://users.unimi.it/~ddl/vega/index2.htm/> (Pedretti, 2004). Pada penelitian ini, VegaZZ digunakan untuk mengoptimasikan makromolekul (enzim HIV) yang akan ditambatkan untuk input pada piranti lunak.

### 2.21 OpenBabel

Open Babel adalah piranti lunak yang didesain untuk memproses data kimia. Penggunaan Open Babel umumnya dalam pengubahan format atau representasi berkas senyawa kimia. Open Babel juga dapat digunakan untuk penambahan hidrogen, membuat struktur 3 dimensi, mengkalkulasi muatan parsial, serta pemisahan duplikasi senyawa dari suatu set data.

Open Babel mendukung 111 format berkas kimia, dapat membaca 82 format dan menulis 85 format. Format-format ini mencakup format yang umum digunakan dalam kimiainformatik (mol, mol2, InChI, SMILES), kristalografik (pdb), dan format berkas untuk penambatan serta dinamika molekuler (AutoDock, Amber). Beberapa format berkas hanya merepresentasikan daftar atom, sehingga Open Babel memiliki metode untuk mendeterminasi ikatan, persepsi orde ikatan, aromatisitas, dan tipe atom.

Open Babel diimplementasikan menggunakan bahasa C++, sehingga memungkinkan penggunaannya pada berbagai sistem operasi (Windows, Mac OS X, Linux) dan platform (32-bit, 64-bit) (O'Boyle, Banck, James, Morley, Vandermeersch, & Hutchinson, 2011). Program ini didistribusikan oleh GNU *general public license* dan terbuka untuk diunduh oleh umum dari <http://openbabel.org>.

### 2.22 PyRx

PyRx adalah piranti lunak tertambah (*addons*) penapisan virtual yang dapat digunakan untuk penapisan pustaka senyawa. PyRx memungkinkan pengguna untuk menjalankan penapisan virtual dalam berbagai platform dan membantu penggunanya dalam setiap tahap proses. Proses yang dapat dilakukan menggunakan piranti lunak ini mencakup preparasi data ligan dan makromolekul, melakukan kalkulasi serta analisis hasil. PyRx dikembangkan oleh *Molecular Graphics Laboratory, The Scripps Research Institute* (Dallakyan, 2009).

PyRx menyediakan cekatan yang memudahkan penggunanya melakukan pekerjaan penapisan virtual. Penapisan dapat dilakukan secara lokal (menggunakan GPU ataupun kluster) atau secara *remote* menggunakan servis web Opal toolkit. PyRx terdiri atas piranti lunak AutoDock4 dan AutoDock Vina yang

digunakan sebagai piranti lunak penambatan, AutoDockTools untuk membuat berkas masukan, Python sebagai bahasa pemrograman / *scripting*, wxPython sebagai antarmuka pengguna grafis (GUI / *graphical user interface*) lintas platform, alat visualisasi, serta Open Babel untuk pengubah format berkas sdf dan mol (Wolf, 2009).

### 2.23 PyMOL

PyMOL adalah suatu program yang dikembangkan untuk memvisualisasikan konformasi majemuk dari suatu struktur tunggal (*trajectories* atau gabungan ligan yang ditambat). PyMOL juga dapat digunakan sebagai perangkat lunak dalam melakukan antarmuka dengan program lainnya. PyMOL dapat dijalankan dalam program berbasis Window dan Unix untuk menyediakan visualisasi yang baik. Selain itu, PyMOL dapat digunakan dalam mempersiapkan publikasi hasil penambatan (Delano, 2004).

### 2.24 Symyx Draw

Symyx Draw adalah program penggambar struktur senyawa kimia untuk Windows yang dipublikasi oleh MDL Information Systems. Program ini adalah piranti tidak berbayar untuk penggunaan personal ataupun akademik. Program ini adalah program kelanjutan / revisi dari ISIS/Draw. Symyx Draw dapat digunakan juga untuk menghasilkan struktur model tiga dimensi, membuat struktur dari InChI dan SMILES ataupun membuat SMILES dan InChI dari gambar dua dimensi (Li, Wan, & Ouyang, 2004).

## BAB 3

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Komputer Departemen Farmasi FMIPA UI, Januari – Desember 2011.

#### 3.2 Peralatan

##### 3.2.1 Piranti Keras

Piranti kelas yang digunakan dalam penelitian ini adalah komputer dengan spesifikasi *Random Access Memory* 1 GB, prosesor Quad Core (Intel® Core™), *graphic card* NVIDIA Ge ForceGT 940. Piranti keras kelengkapan komputer: monitor, mouse, CPU, keyboard. Komputer terhubung ke UPS (*uninterrupted power supply*) dan *online* internet.

##### 3.2.2 Piranti lunak

Piranti lunak yang digunakan dalam penelitian ini adalah Symyx Draw 3.2, VegaZZ versi 2.4.0.25, PyRx 0.8, PyMOL, AutoDock, AutoDock Vina dan GOLD.

#### 3.3 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah basis data struktur kristal 3 dimensi dari enzim HIV-1 yakni enzim transkriptase balik, protease, dan integrase yang diunduh dari RSCB PDB (Berman, et al., 2000); senyawa yang ditambahkan berupa struktur tiga dimensi senyawa obat dari basis data tanaman obat Farmasi Universitas Indonesia; struktur tiga dimensi kontrol positif dan negatif.

#### 3.4 Cara Kerja

##### 3.4.1 Preparasi Struktur Protein Target

Struktur dipreparasi untuk persiapan penambatan. Proses preparasi yang dilakukan mencakup pencarian dan pengunduhan, optimasi dan pemisahan dari residu nonstandar.

#### 3.4.1.1 Pencarian dan Pengunduhan Struktur Protein

Struktur makromolekul target (protein HIV) yang akan digunakan dicari pada situs web PDB. Makromolekul yang dipilih berdasarkan kriteria inklusi: makromolekul *wild type* / nonmutan dan berkompleks dengan ligan. Kriteria eksklusi: resolusi  $> 2,5 \text{ \AA}$  dan rantai tidak lengkap. Makromolekul diunduh dalam format teks .pdb untuk diproses lebih lanjut.

#### 3.4.1.2 Optimasi Struktur Protein

Optimasi struktur tiga dimensi dilakukan dengan VegaZZ untuk penapisan dengan AutoDock dan dilakukan dengan GOLD untuk penapisan dengan GOLD. Optimasi yang dilakukan berupa penghapusan molekul pelarut dan kofaktor yang jauh dari sisi pengikatan ligan, penambahan muatan dengan muatan parsial *Gasteiger* dan penerapan medan gaya (*forcefield*) AutoDock serta melakukan minimisasi konformasi.

#### 3.4.1.3 Memisahkan Ligan dan Mendefinisikan Situs Ikatan

Ligan dapat dipisahkan dari struktur kristal menggunakan berbagai macam piranti lunak, seperti PyMOL, CCP4 ataupun UCSF Chimera. Kemudian ditentukan koordinat situs pengikatan mengacu pada ligan struktur kompleks menggunakan AutoDock Tools.

#### 3.4.2 Preparasi Basis Data Ligan

Ligan yang diperoleh dari basis data Tanaman Obat di Indonesia dioptimasi menggunakan VegaZZ. Optimasi berupa penambahan muatan parsial dan minimisasi energi. Ligan diubah menjadi bentuk .pdbqt untuk dilakukan penapisan virtual menggunakan AutoDock, sedangkan penapisan virtual dengan GOLD digunakan ligan asal, yakni dalam bentuk format .mol.



### 3.4.3 Validasi Metode Penapisan Virtual

Validasi metode penapisan virtual dilakukan dengan melakukan penambatan menggunakan kontrol positif dan kontrol negatif yang didapat dari struktur kristal data bank protein. Kontrol yang digunakan dalam penelitian ini adalah senyawa yang telah direkomendasikan oleh FDA dalam pengobatan HIV sebagai inhibitor transkriptase balik, protease, dan integrase. Validasi menggunakan senyawa kontrol dilakukan menggunakan tahap berikut:

1. Struktur dua dimensi senyawa kontrol dicari pada Pubchem

Struktur senyawa dijelajah dari situs web Pubchem (<http://pubchem.ncbi.nlm.gov>).

2. Struktur yang didapat dari tahap pertama digambar menggunakan SyMyx Draw
3. Bentuk dua dimensi dikonversi menjadi tiga dimensi

Gambar yang dihasilkan dari tahap kedua diproses menggunakan VegaZZ seperti pada proses konversi basis data. Proses yang dilakukan meliputi penjalanan skrip *2D to 3D*, penambahan muatan parsial *gasteiger*, dan minimisasi energi menggunakan *steepest decent* dan *conjugated gradient* 1000 langkah. Struktur tiga dimensi disimpan dalam format mol dan dikonversi menjadi format berkas yang sesuai untuk masukan.

4. Senyawa kontrol ditambahkan untuk tiap target penapisan virtual menggunakan ketiga metode.

Metode yang dilakukan merupakan untuk target transkriptase balik dan protease adalah penambatan molekuler bertarget (*targeted docking*) pada situs ikatan yang telah didefinisikan. Metode untuk integrase adalah penambatan buta (*blind docking*) untuk pendefinisian situs penambatan dan dilanjutkan dengan penambatan molekuler bertarget.

### 3.4.4 Penapisan Virtual

Pada penelitian ini dilakukan penapisan virtual menggunakan penambatan molekuler. Penapisan dilakukan pada ketiga enzim menggunakan tiga piranti lunak secara terpisah.

#### 3.4.4.1 Penapisan Virtual Menggunakan GOLD

Tahap yang dilakukan dalam penapisan virtual menggunakan GOLD adalah:

- a) Program GOLD dijalankan
- b) Opsi “Wizard” dipilih pada baris alat program
- c) Opsi “*Select protein*” dipilih dan makromolekul target yang sudah dioptimasi kemudian dimasukkan
- d) Penambahan hidrogen dilakukan pada makromolekul dengan pemilihan opsi “*add hydrogen*”
- e) Situs pengikatan didefinisikan dengan “*Define BindingSite*”; parameter ruang ikatan 15 Å disekeliling koordinat yang didefinisikan
- f) Struktur semua ligan dari basis data dimasukkan, jumlah penyelesaian dimasukkan dengan *number of solution* sebesar 10 posisi dan perhitungan *generic algorithm* sebanyak 10 kali
- g) Fungsi *fitness* ChemScore ataupun GoldScore dipilih
- h) Opsi pencarian GA yang sesuai dipilih yakni pencarian cepat, sedang, atau lambat
- i) Kalkulasi dilakukan menggunakan pilihan “*Run Gold*”. Didapatkan hasil penambatan dalam bentuk berkas .conf dan konformasi berupa .mol.

#### 3.4.4.2 Penapisan Virtual Menggunakan AutoDock dan Vina

Prosedur yang dilakukan untuk penapisan virtual menggunakan AutoDock dengan bantuan piranti lunak PyRx adalah sebagai berikut:

- a) Preparasi ligan

Pada antarmuka PyRx opsi *add ligand* dipilih, kemudian masukkan berkas semua ligan yang akan digunakan. Format berkas ligan akan otomatis diubah menjadi .pdbqt oleh Open Babel ditambah.

b) Preparasi makromolekul

Pada antarmuka PyRx, opsi *add macromolecule* dipilih, kemudian masukkan makromolekul yang akan ditarget. Format makromolekul akan diubah menjadi .pdbqt oleh Open Babel ditambah.

c) Penjalanan AutoGrid

Pemetaan grid dilakukan pada situs ikatan makromolekul yang didefinisikan sebelumnya untuk tiap makromolekul. Jejarang grid sebesar 50 x 50 x 50 unit untuk AutoDock. Opsi *forward / run AutoGrid* dipilih untuk menjalankan kalkulasi Grid.

d) Penjalanan AutoDock

Parameter penambatan diatur sebelum melakukan penapisan. Opsi *Lamarckian GA* dipilih dan *maximum number of energy evaluations* diubah menjadi 1.000.000. Parameter lain menggunakan pengaturan *default* penambatan AutoDock. Pilih “*Forward*” untuk memulai komputasi penambatan berseri.

Penapisan AutoDock Vina memiliki langkah yang sama dengan penapisan AutoDock untuk langkah a dan b. Tahapan c tidak dilakukan, kemudian dilanjutkan oleh pengaturan parameter *exhaustiveness* pada 8.

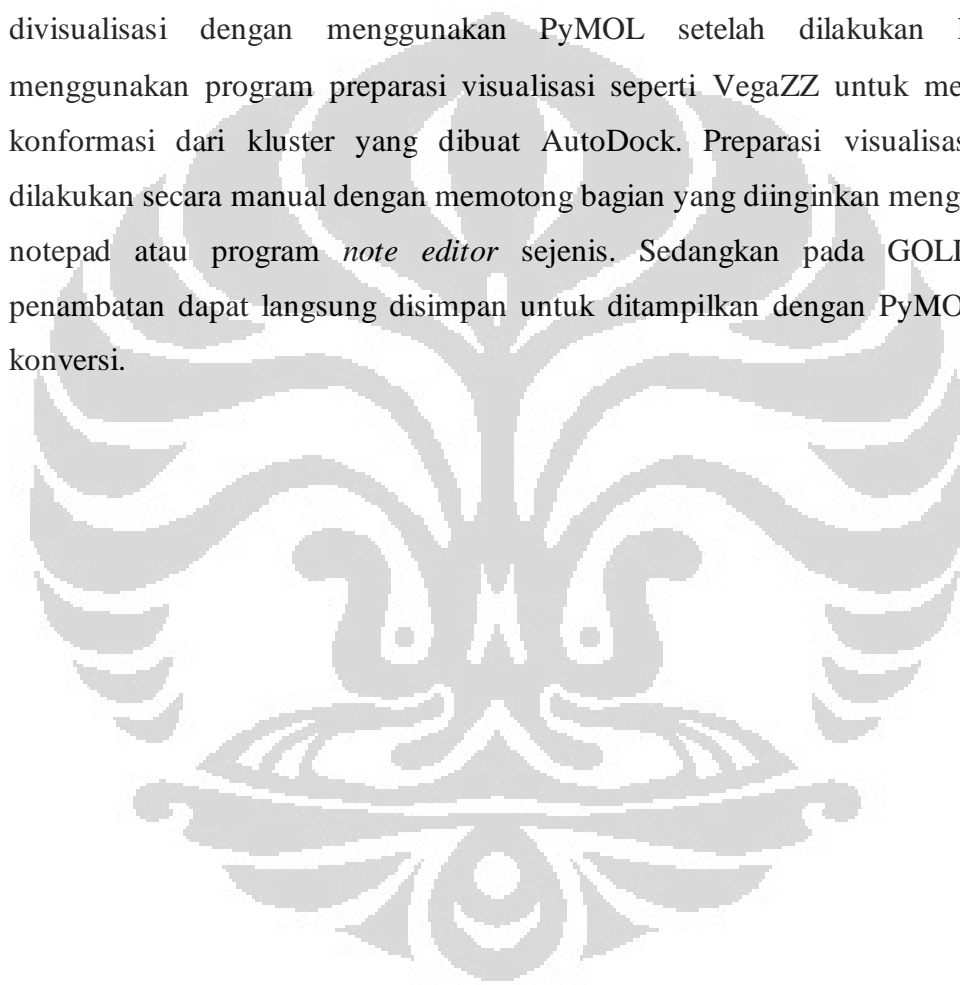
### 3.4.5 Analisis Hasil Penapisan Virtual

Berdasarkan hasil penambatan tiap pendekatan, dibuat pemeringkatan senyawa dengan konformasi 10 besar untuk tiap enzim. Hasil pemeringkatan penapisan virtual menggunakan GOLD akan disimpan dalam berkas .conf yang mencakup hasil penapisan setiap senyawa. Hasil pemeringkatan penapisan virtual menggunakan AutoDock akan disimpan dalam berkas .dlg dan berupa kluster /

kelompok posisi senyawa dalam rentang energi ikatan tertentu. Setiap senyawa yang muncul dalam peringkat 10 besar penapisan ditelusuri asal spesiesnya menggunakan basis data herbaldb.

#### 3.4.6 Visualisasi Hasil Penapisan Virtual

Hasil pemeringkatan penapisan virtual menggunakan AutoDock dapat divisualisasi dengan menggunakan PyMOL setelah dilakukan konversi menggunakan program preparasi visualisasi seperti VegaZZ untuk mengambil konformasi dari kluster yang dibuat AutoDock. Preparasi visualisasi dapat dilakukan secara manual dengan memotong bagian yang diinginkan menggunakan notepad atau program *note editor* sejenis. Sedangkan pada GOLD, hasil penambatan dapat langsung disimpan untuk ditampilkan dengan PyMOL tanpa konversi.



## BAB 4

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Preparasi Struktur Protein Target

Sebelum melakukan penambatan, makromolekul yang digunakan sebagai target perlu dicari dan diproses terlebih dahulu. Dalam penelitian ini, digunakan tiga jenis makromolekul target dari HIV-1, yakni transkriptase balik (RT), protease (PR), dan integrase (IN).

##### 4.1.1 Pencarian dan Pengunduhan Struktur Protein

Tahap pertama penelitian ini adalah pencarian makromolekul (RT, PR, IN HIV-1) yang sesuai dari laman bank data protein (PDB). Struktur makromolekul yang dipilih adalah yang berikatan dengan ligannya sehingga memiliki konformasi dalam bentuk aktif. Dari hasil pencarian berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi, makromolekul yang digunakan dalam penelitian ini berturut-turut adalah protein dengan identitas PDB 3LP1, 3OXC dan 3AO2.

Makromolekul 3LP1 adalah struktur dari transkriptase balik HIV-1 yang berikatan dengan nevirapine. Protein ini merupakan heterodimer yang terdiri atas 1.006 residu asam amino (AA). Terdapat dua subunit yang terdapat dalam struktur kristalnya, yakni rantai A (ribonuklease H) dengan panjang 563 residu AA dan rantai B (p51 RT) dengan panjang 443 residu AA. Kristal 3LP1 memiliki resolusi 2,23 Å dan menempati volume sebesar 11,9 x 15,5 x 15,5 nm<sup>3</sup> (Su, et al., 2010).

Makromolekul 3OXC adalah struktur dari protease HIV-1 yang berikatan dengan saquinavir. Protein homodimer ini tersusun atas 198 residu AA serta 2 subunit. Tiap subunit memiliki 99 residu AA. Kristal 3OXC memiliki resolusi 1,16 Å dan menempati volume sebesar 5,2 x 6,0 x 6,2 nm<sup>3</sup> (Tie, et al., 2007).

Makromolekul 3AO2 adalah struktur dari integrase HIV-1 dengan ligan eksperimental AVX ((3-(7-bromo-1,3-benzodioxol-5-yl)-1-methyl-1H-pyrazol-5-amine). Protein homodimer ini tersusun atas 326 residu AA. Tiap subunit

memiliki 163 residu AA. Kristal 3AO2 memiliki resolusi 1,80 Å dan menempati volume sebesar  $5 \times 5 \times 10,3 \text{ nm}^3$  (Wielens, et al., 2011).

#### 4.1.2 Optimasi Struktur Protein

Struktur yang telah diunduh dari bank data protein umumnya merupakan struktur protein yang masih terdapat residu pelarut (air) dan residu non-standar lainnya. Residu ini dapat mengganggu proses penapisan dan penambatan sehingga perlu dipisahkan dari struktur makromolekul. Pemisahan residu non-standar ini dilakukan menggunakan UCSF Chimera.

Ligan nevirapine dan pengidentifikasi LP8 dipisahkan dari kristal 3 LP1. Ligan saquinavir, ion sulfat dan asam format dipisahkan dari kristal 3OXC. Ligan AVX, ion klorida, ion sulfat dan pengidentifikasi DTT serta DTV dipisahkan dari kristal 3AO2. Molekul air juga dipisahkan kecuali molekul air pada 3AO2 yang berkaitan dengan ikatan ligan yakni HOH A 218.

Setelah semua residu non-standar dihilangkan, dilakukan penambahan hidrogen ke dalam struktur kristal. Atom-atom hidrogen umumnya tidak terdeteksi dalam pendefinisian struktur kristal sehingga perlu ditambahkan karena mempengaruhi proses ikatan hidrogen dengan ligan yang akan ditambatkan.

Kemudian dilakukan perbaikan muatan menggunakan medan gaya AutoDock serta penambahan muatan Gasteiger yang umum dipakai untuk penggunaan GOLD dan AutoDock. Kemudian dilakukan minimisasi energi untuk menemukan konformasi geometris dengan energi optimum terkecil sehingga struktur dapat dinyatakan stabil untuk target penambatan. Penambahan hidrogen, perbaikan muatan dan minimisasi energi dilakukan menggunakan VegaZZ.

Minimisasi dilakukan dengan metode *steepest descent* dan *conjugate gradient* sebanyak 1000 langkah. Kedua metode ini merupakan algoritma yang umum untuk minimisasi fungsi kuadratik. Minimisasi dilakukan dengan kedua metode yang merupakan standar minimisasi protein menggunakan VegaZZ agar struktur tidak *collapsing* namun tetap menyediakan konformasi yang relaks (Perola, Walters, & Charifson, 2005).

#### 4.1.3 Memisahkan Ligan dan Mendefinisikan Situs Ikatan

Berkas ligan dan makromolekul dalam format .pdb yang dipisahkan menggunakan UCSF Chimera dikonversi menjadi .pdbqt menggunakan AutoDock Tools. Koordinat tiap ligan dideterminasi sebagai koordinat situs ikatan yang akan digunakan dalam penambatan terarah pada penapisan virtual. Determinasi koordinat untuk transkriptase balik dan protease dilakukan menggunakan metode pencarian *grid box* ADT dengan memusatkan pada ligan kristal.

Untuk integrase, dilakukan metode penambatan buta (*blind docking*) dengan parameter koordinat  $x = 10,791$ ;  $Y = -11,353$ ;  $z = 0,1714$  dengan gridbox berukuran  $54 \times 50 \times 118$  unit (*spacing* 1 unit = 1 angstrom) sehingga mencakup seluruh protein. Penambatan ini dilakukan triplo sehingga menghasilkan 30 konfigurasi. Situs dengan konfigurasi paling banyak dan energi paling rendah digunakan sebagai situs ikatan.

Situs ikatan 3LP1 didefinisikan berpusat pada koordinat  $x = 10,350$ ;  $y = 14,076$  dan  $z = 18,252$ . Situs ikatan 3OXC didefinisikan berpusat pada koordinat  $x = 5,192$ ;  $y = -4,557$ ; dan  $z = 14,799$ . Sedangkan situs ikatan 3AO2 didefinisikan berpusat pada  $x = 10,055$ ;  $y = -22,165$ ; dan  $z = 7,077$ . Untuk AutoDock dan AutoDock Vina, target penambatan didefinisikan sebesar  $50 \times 50 \times 50$  unit dengan *spacing* per unit 0,375 angstrom. Sedangkan untuk GOLD, radius penambatan diatur pada 15 Å.

#### 4.2 Preparasi Basis Data Ligan

Berkas basis data ligan memiliki format .sdf dan .mol didapat dari basis data herbal tanaman Indonesia (Yanuar, Mun'im, Lagho, Syahdi, Rahmat, & Suhartanto, 2011). Kemudian struktur tiga dimensi ligan dioptimasi menggunakan VegaZZ untuk pemberian muatan dan minimisasi energi.

Penambahan hidrogen dilakukan karena fungsi penilaian piranti lunak yang digunakan membutuhkan hidrogen polar dan nonpolar dalam perhitungannya. Muatan dan medan gaya yang digunakan sama seperti

makromolekul yakni muatan parsial gasteiger dan medan gaya AutoDock yang umum digunakan sebagai *default* penambatan menggunakan AutoDock.

Berkas ligan diubah menjadi .pdbqt sehingga bisa diproses sebagai masukan pada penapisan virtual menggunakan AutoDock dan Vina. PyRx digunakan sebagai bantuan dalam memproses pengubahan berkas menjadi .pdbqt.

### 4.3 Validasi Metode Penapisan Virtual

Kontrol positif dan kontrol negatif penapisan virtual dibuat dari struktur dua dimensi menggunakan metode yang sama dengan preparasi basis data ligan. Kontrol dipilih berdasarkan acuan obat yang telah disetujui oleh FDA sebagai pengobatan anti HIV (Food and Drug Administration, 2010). Empat belas senyawa yang digunakan sebagai kontrol dapat dilihat pada tabel berikut:

**Tabel 4.1.** Senyawa kontrol yang digunakan untuk validasi

No	Senyawa	CID	IC <sub>50</sub> (μM)	Keterangan
1	Nevirapine	4463	$7 \times 10^{-6} - 8,5 \times 10^{-4}$	Inhibitor transkriptase balik HIV-1
2	Rilpivirine	6451164	$7 \times 10^{-5} - 2$	Inhibitor transkriptase balik HIV-1
3	Efavirenz	64139	$1,9 \times 10^{-7} - 9 \times 10^{-3}$	Inhibitor transkriptase balik HIV-1
4	Etravirine	193962	$1,7 \times 10^{-7} - 9 \times 10^{-3}$	Inhibitor transkriptase balik HIV-1
5	Delavirdine	5625	$1 - 8,46 \times 10^{-4}$	Inhibitor transkriptase balik HIV-1
6	Saquinavir	441243	$4 \times 10^{-5} - 2 \times 10^{-3}$	Inhibitor protease HIV-1
7	Amprenavir	65016	$3,6 - 5,7 \times 10^{-5}$	Inhibitor protease HIV-1
8	Ritonavir	3392622	$1,5 \times 10^{-5} - 9 \times 10^{-2}$	Inhibitor protease HIV-1
9	Lopinavir	92727	$1,3 \times 10^{-6} - 4 \times 10^{-6}$	Inhibitor protease HIV-1
10	Nelfinavir	64143	0,143 – 150	Inhibitor protease HIV-1
11	Atazanavir	148192	$9 \times 10^{-6} - 5,4 \times 10^{-5}$	Inhibitor protease HIV-1
12	Tipranavir	65027	$8 \times 10^{-6} - 2,9 \times 10^{-2}$	Inhibitor protease HIV-1
13	Darunavir	213039	$1,47 \times 10^{-7} - 5,3 \times 10^{-6}$	Inhibitor protease HIV-1
14	Raltegravir	11598201	$1,4 - 2,4 \times 10^{-3}$	Inhibitor integrase HIV-1



Struktur dua dimensi kontrol diubah menjadi tiga dimensi menggunakan VegaZZ untuk pemberian muatan, minimisasi energi, dan pencarian konformasi. Kemudian format berkas diubah dari .pdb menjadi berkas yang sesuai yakni .pdbqt untuk AutoDock dan Vina serta bentuk .mol untuk GOLD menggunakan openbabel. Senyawa kontrol ini kemudian ditambahkan untuk tiap-tiap enzim untuk melihat akurasi dan presisi dari tiap metode untuk tiap enzim. Berikut adalah hasil validasi dari tiap metode untuk transkriptase balik HIV-1.

**Tabel 4.2.** Hasil penambatan senyawa kontrol menggunakan AutoDock pada transkriptase balik HIV-1.

Nama	Kontrol	$\Delta G$ (kkal/mol) (N = 3)	SD	KV (%)
Etravirin	+	-8,82	0,030	0,340
Nevirapin	+	-7,85	0,010	0,127
Rilpivirin	+	-7,61	0,221	2,897
Efavirenz	+	-7,33	0,026	0,361
Delavirdine	+	-6,72	0,516	7,679
Raltegravir	-	-4,49	2,328	51,887
Amprenavir	-	-0,49	2,829	573,403
Tipranavir	-	5,37	8,278	154,146
Darunavir	-	6,55	7,410	113,135
Nelfinavir	-	15,82	14,480	91,528
Lopinavir	-	83,82	39,737	47,406
Saquinavir	-	160,33	69,265	43,202
Ritonavir	-	175,55	82,990	47,273
Atazanavir	-	294,38	69,715	23,682

Keterangan: (+) adalah kontrol positif aktual / *true positive*;  
 (-) adalah kontrol negatif aktual / *true negative*

**Tabel 4.3.** Hasil penambatan senyawa kontrol menggunakan AutoDock Vina pada transkriptase balik HIV-1

Nama	Kontrol	$\Delta G$ (kkal/mol) (N = 3)	SD	KV (%)
Saquinavir	-	-11,03	0,058	0,523
Nevirapine	+	-10,73	0,058	0,538
Rilpivirine	+	-10,30	0	0
Etravirine	+	-9,87	0,058	0,585
Efavirenz	+	-9,30	0	0
Raltegravir	-	-9,23	0,115	1,251
Tipranavir	-	-9,20	0,300	3,261
Darunavir	-	-9,20	0	0
Nelfinavir	-	-9,20	0	0
Amprenavir	-	-8,93	0,231	2,585
Lopinavir	-	-8,93	0,058	0,646
Ritonavir	-	-8,87	0,306	3,446
Atazanavir	-	-8,30	1,127	13,578
Delavirdine	+	-8,20	0	0

Keterangan: (+) adalah kontrol positif aktual / *true positive*;  
(-) adalah kontrol negatif aktual / *true negative*

**Tabel 4.4.** Hasil penambatan senyawa kontrol menggunakan GOLD pada transkriptase balik HIV-1

Nama	Kontrol	GoldScore (N = 3)	SD	KV (%)
Raltegravir	-	78,397	4,004	5,107
Rilpivirine	+	74,818	2,826	3,778
Darunavir	-	71,864	6,288	8,750
Etravirine	+	70,597	1,637	2,319
Delavirdine	+	63,428	1,493	2,354
Amprenavir	-	62,974	2,853	4,530
Nevirapine	+	62,454	0,149	0,239
Tipranavir	-	60,772	3,777	6,215
Ritonavir	-	51,340	22,663	44,143
Efavirenz	+	49,350	0,159	0,322
Nelfinavir	-	48,578	8,455	17,405
Lopinavir	-	37,937	5,911	15,582
Saquinavir	-	34,749	12,782	36,785
Atazanavir	-	25,114	17,914	71,331

Keterangan: (+) adalah kontrol positif aktual / *true positive*;  
(-) adalah kontrol negatif aktual / *true negative*

Dari tabel 4.2, 4.3, dan 4.4 dapat diamati pemeringkatan senyawa kontrol dari tiap metode untuk transkriptase balik HIV-1. Data-data ini digunakan untuk

menghitung parameter akurasi metode berdasarkan matriks *confusion*. TPR, FPR dan akurasi dihitung menggunakan rumus berikut (Fawcett, 2004):

$$TPR \text{ (True Positive Rate)} = \frac{TP}{P}$$

$$FPR \text{ (False Positive Rate)} = \frac{FP}{N}$$

$$\text{Akurasi} = \frac{TP + TN}{P + N}$$

**Tabel 4.5.** Hasil validasi ketiga metode pada transkriptase balik HIV-1

Parameter / Metode		AutoDock		Vina		Gold	
		Aktual					
		p	n	p	n	p	N
Prediktif	p'	5	0	4	1	3	2
	n'	0	9	1	8	2	7
TPR (Sensitivitas)		1		0.8		0.6	
FPR ( <i>fallout</i> )		0		0.2		0.4	
Akurasi		1		0.857		0.714	

Dari tabel 4.5 diatas didapatkan akurasi dan sensitivitas dari ketiga metode untuk enzim transkriptase balik berdasarkan kemampuan pemeringkatan senyawa aktual pada prediktif. Pada penggunaan AutoDock, lima senyawa kontrol positif berada pada lima perangkat teratas. Sedangkan pada penggunaan Vina, saquinavir yang merupakan kontrol negatif transkriptase balik HIV-1 namun berada pada peringkat teratas. Selain itu, pada penggunaan GOLD senyawa raltegravir dan darunavir merupakan kontrol negatif transkriptase balik HIV-1 mendominasi tiga peringkat teratas.

Kontrol positif Vina berada pada posisi 2 (nevirapine), 3 (rilpivirine), 4 (etravirine), 5 (efavirenz) dan 14 (delavirdine). Sensitivitas Vina dari hasil validasi adalah 0,8 dengan akurasi 0,857. Kontrol positif GOLD berada pada posisi 2 (rilpivirine), 4 (etravirine), 5 (delavirdine), 7 (nevirapine) dan 10 (efavirenz). Sensitivitas GOLD adalah 0.6 dengan akurasi 0,714.

Dari hasil ini, disimpulkan bahwa metode pendekatan paling optimum untuk penapisan virtual pada transkriptase balik HIV-1 adalah menggunakan piranti lunak AutoDock. Untuk protease, dilakukan kembali validasi metode menggunakan ke-14 senyawa kontrol tersebut.

**Tabel 4.6.** Hasil penambatan senyawa kontrol menggunakan AutoDock pada protease HIV-1

Nama	Kontrol	$\Delta G$ (kkal/mol) (N = 3)	SD	KV (%)
Tipranavir	+	-6.87	0,750	10,924
Delavirdine	-	-6.25	0,304	4,872
Raltegravir	-	-6.17	0,494	8,011
Nevirapine	-	-4.90	0,021	0,425
Amprenavir	+	-4.89	1,107	22,663
Atazanavir	+	-4.62	1,867	40,431
Efavirenz	-	-4.60	0,020	0,435
Darunavir	+	-4.38	0,577	13,171
Nelfinavir	+	-3.05	0,971	31,849
Etravirine	-	-2.09	0,150	7,210
Rilpivirine	-	-1.16	0,110	9,469
Lopinavir	+	-0.79	3,103	391,123
Saquinavir	+	0.06	1,401	2334,583
Ritonavir	+	4.21	5,211	123,787

Keterangan: (+) adalah kontrol positif aktual / *true positive*;  
(-) adalah kontrol negatif aktual / *true negative*

**Tabel 4.7.** Hasil penambatan senyawa kontrol menggunakan AutoDock Vina pada protease HIV-

Nama	Kontrol	$\Delta G$ (kkal/mol) (N = 3)	SD	KV (%)
Saquinavir	+	-11,50	0	0
Nelfinavir	+	-10,20	0	0
Lopinavir	+	-9,87	0,058	0,585
Tipranavir	+	-9,83	0,058	0,587
Ritonavir	+	-9,43	0,058	0,612
Darunavir	+	-9,33	0,058	0,619
Atazanavir	+	-9,03	0,115	1,278
Amprenavir	+	-8,60	0,173	2,014
Delavirdine	-	-8,50	0,100	1,176
Rilpivirin	-	-8,40	0,100	1,190
Raltegravir	-	-8,40	0,100	1,190
Etravirine	-	-7,93	0,058	0,728
Efavirenz	-	-7,27	0,058	0,795
Nevirapine	-	-7,20	0	0

Keterangan: (+) adalah kontrol positif aktual / *true positive*;  
(-) adalah kontrol negatif aktual / *true negative*

**Tabel 4.8.** Hasil penambatan senyawa kontrol menggunakan GOLD pada protease HIV-1

Nama	Kontrol	GoldScore (N = 3)	SD	KV (%)
Ritonavir	+	78,707	3,950	5,019
Lopinavir	+	76,490	4,772	6,239
Tipranavir	+	74,323	2,628	3,535
Darunavir	+	70,095	3,175	4,530
Nelfinavir	+	68,604	6,954	10,136
Amprenavir	+	67,306	1,760	2,615
Atazanavir	+	67,178	1,750	2,604
Saquinavir	+	66,717	7,970	11,947
Delavirdine	-	59,966	0,871	1,453
Rilpivirin	-	58,864	1,430	2,429
Raltegravir	-	51,544	3,485	6,762
Etravirine	-	50,015	3,217	6,433
Nevirapine	-	37,889	2,415	6,374
Efavirenz	-	36,345	0,058	0,159

Keterangan: (+) adalah kontrol positif aktual / *true positive*;  
(-) adalah kontrol negatif aktual / *true negative*

**Tabel 4.9.** Hasil validasi ketiga metode pada protease HIV-1

Parameter / Metode		AutoDock		Vina		Gold	
		Aktual					
		p	n	P	n	p	N
Prediktif	p'	4	4	8	0	8	0
	n'	4	2	0	6	0	6
TPR (Sensitivitas)		0.5		1		1	
FPR ( <i>fallout</i> )		0.5		0		0	
Akurasi		0.429		1		1	

Dari tabel 4.6, 4.7 dan 4.8 dapat diamati peringkat penambatan senyawa kontrol pada protease. Untuk AutoDock Vina dan GOLD, kedelapan kontrol positif berada pada 8 peringkat teratas berturut-turut sehingga tidak didapatkan negatif ataupun positif palsu. Koefisien variasi validasi menggunakan Vina relatif lebih kecil. Namun untuk GOLD memiliki perbedaan nilai kontrol positif terendah dengan kontrol negatif tertinggi lebih signifikan (~11,47%) dibandingkan AutoDock Vina (0,47%). Kedua metode memiliki nilai sensitivitas dan akurasi sama dengan 1.

Pada AutoDock kontrol positif terdapat pada peringkat 1 (tipranavir), 4 (nevirapine), 5 (amprenavir), 6 (atazanavir), 8 (darunavir), 9 (nelfinavir), 12 (lopinavir), 13 (saquinavir) dan 14 (ritonavir). Didapatkan 4 positif palsu menggunakan metode ini sehingga didapatkan sensitivitas 0,5 dengan akurasi sebesar 0,429. Sehingga dari data ini disimpulkan untuk protease, AutoDock relatif tidak akurat dibanding kedua metode lainnya.

Untuk integrase, validasi metode dilakukan menggunakan dua jenis kondisi makromolekul. Yang pertama adalah makromolekul dihilangkan semua residu nonstandar (termasuk seluruh molekul pelarut) yang ada pada kristal dan kondisi yang kedua adalah molekul air HOH A 218 serta logam  $Cd^{2+}$  dipertahankan. Hal ini merujuk pada referensi yang mengatakan bahwa ikatan inhibitor integrase dipengaruhi oleh kondisi pelarut (air) di situs ikatan (Ni, Sotrifer, & McCamon, 2001; Pommier, Johnson, & Marchand, 2005).

**Tabel 4.10.** Hasil penambatan senyawa kontrol menggunakan AutoDock pada integrase HIV-1

Nama	$\Delta G$ (kkal/mol)	
	Tanpa Residu Nonstandar	Dengan HOH 218 dan $Cd^{2+}$
Nelfinavir	-4,68	-6,71
Delavirdine	-5,27	-6,03
Raltegravir*	-4,52	-5,49
Tipranavir	-5,59	-5,35
Efavirenz	-2,26	-4,93
Saquinavir	-4,30	-5,09
Amprenavir	-3,40	-4,90
Nevirapine	-4,93	-4,82
Etravirine	-5,00	-4,81
Rilpivirine	-4,55	-4,38
Darunaviro	-3,98	-4,10
Lopinavir	4,76	-1,99
Ritonavir	10,58	0,11
Atazanavir	12,19	4,04

\* menandakan kontrol positif integrase

Dari tabel 4.10 didapatkan hasil penambatan senyawa kontrol pada integrase menggunakan AutoDock. raltegravir teramati sebagai negatif palsu. Saat ditambatkan dengan integrase yang dihilangkan molekul airnya, raltegravir sebagai kontrol positif berada pada posisi 7 dengan  $\Delta G$  sebesar -4,52 kkal/mol. Sedangkan bila dipertahankan molekul air dan  $Cd^{2+}$ , raltegravir berada pada posisi 2 dengan  $\Delta G$  sebesar -5,49 kkal/mol. Posisi pertama adalah nelfinavir dengan  $\Delta G$  -6.71 kkal/mol.

**Tabel 4.11.** Hasil penambatan senyawa kontrol menggunakan AutoDock Vina pada integrase HIV-1

Nama	$\Delta G$ (kkal/mol)	
	Tanpa Residu Nonstandar	Dengan HOH 218 dan $Cd^{2+}$
Raltegravir*	-7,50	-8,60
Tipranavir	-7,67	-8,07
Saquinavir	-7,43	-8,07
Nelfinavir	-7,23	-8,03
Lopinavir	-6,87	-7,90
Rilpivirin	-6,83	-7,83
Darunavir	-6,37	-7,83
Atazanavir	-7,03	-7,77
Delavirdine	-6,87	-7,70
Etravirine	-6,87	-7,67
Ritonavir	-7,20	-7,50
Amprenavir	-6,97	-7,23
Efavirenz	-5,43	-6,80
Nevirapine	-6,00	-6,67

\* menandakan kontrol positif integrase

Dari data hasil validasi Vina, tanpa adanya air, raltegravir teramati sebagai negatif palsu dan berada pada peringkat 2 dengan  $\Delta G$  -7,50 kkal/mol. Tipranavir teramati sebagai positif palsu dengan  $\Delta G$  -7,67 kkal/mol. Dengan mempertahankan molekul air pada sisi aktif dan  $Cd^{2+}$ , raltegravir menempati peringkat pertama dengan  $\Delta G$  -8.60 kkal/mol (naik ~15%). Sehingga didapatkan kesimpulan dari hasil ini, penggunaan Vina untuk penapisan virtual pada integrase memungkinkan.



**Tabel 4.12.** Hasil penambatan senyawa kontrol menggunakan GOLD pada integrase HIV-1

Nama	GoldScore	
	Tanpa Residu Nonstandar	Dengan HOH 218 dan Cd <sup>2+</sup>
Ritonavir	69,904	74,415
Lopinavir	54,452	73,824
Saquinavir	63,180	72,243
Atazanavir	66,988	71,817
Amprenavir	55,808	68,174
Darunavir	54,564	66,022
Tipranavir	59,359	65,671
Raltegravir*	46,361	63,921
Rilpivirin	52,941	61,470
Etravirine	53,267	60,840
Delavirdine	51,581	59,638
Nelfinavir	54,227	59,212
Nevirapine	40,215	48,628
Efavirenz	43,219	42,829

\* menandakan kontrol positif integrase

Dari tabel diatas, dapat disimpulkan raltegravir teramati sebagai negatif palsu pada penambatan integrase HIV-1 menggunakan GOLD. Tanpa adanya molekul air dan Cd<sup>2+</sup>, raltegravir berada pada peringkat 12 dengan GoldScore 46,361. Sedangkan pada peringkat paling tinggi terdapat positif palsu ritonavir (protease inhibitor) dengan GoldScore 69,90.

Dengan mempertahankan air pada sisi aktif dan logam Cd<sup>2+</sup>, raltegravir tetap teramati sebagai negatif palsu. Peringkat raltegravir naik menjadi peringkat 8 dengan GoldScore 63,9 (naik 38%). Peringkat teratas tetap ditempati oleh ritonavir dengan GoldScore 74,4 (naik 6%).

**Tabel 4.13.** Hasil Validasi Ketiga Metode pada Integrasi HIV-1

Parameter / Metode		AutoDock		Vina		Gold	
		Aktual					
		p	n	p	n	p	n
Prediktif	p'	0	1	1	0	0	1
	n'	1	12	0	13	1	12
TPR (Sensitivitas)		0		1		0	
FPR ( <i>fallout</i> )		1		0		1	
Akurasi		0.857		1		0.857	

Dari hasil validasi dapat disimpulkan bahwa AutoDock Vina memberikan hasil yang relatif lebih baik dengan raltegravir sebagai kontrol positif menempati peringkat 1 dibandingkan kedua metode lainnya. Kondisi optimum adalah mempertahankan molekul air HOH A 218 dan Cd<sup>2+</sup>.

#### 4.4 Penapisan Virtual

##### 4.4.1 Penapisan Virtual Menggunakan GOLD

Pada penelitian ini, dilakukan penapisan virtual terhadap 1453 ligan dengan metode penambatan terarah pada area berbentuk bola (sferik) dengan radius 15 Å yang berpusat pada situs ikatan yang telah didefinisikan sebelumnya. Jumlah perhitungan algoritma genetik yang dilakukan adalah 10 sedangkan untuk fungsi penilaian digunakan GoldScore berdasarkan hasil validasi untuk fungsi penilaian yang memberikan hasil relatif lebih baik.

Pencarian dilangsungkan dengan perhitungan medium (50.000 kalkulasi) berdasarkan hasil validasi yang menunjukkan perhitungan medium sudah cukup signifikan. Keluaran hasil penapisan akan disimpan dalam urutan peringkat nilai GoldScore dan konformasi ikatan ligan-makromolekul dalam berkas berformat .conf.

##### 4.4.2 Penapisan Virtual Menggunakan AutoDock dan Vina

Penapisan virtual menggunakan AutoDock memerlukan bantuan dari PyRx untuk mengolah berkas ligan menjadi .pdbqt dan melakukan penambatan

berseri untuk penapisan virtual. Kotak grid yang digunakan berdimensi 50 x 50 x 50 dengan tiap unit setara dengan 0,375 angstrom. Penapisan virtual yang optimum untuk digunakan adalah menggunakan AutoDock pada transkriptase balik sedangkan AutoDock Vina dan GOLD pada protease serta AutoDock Vina untuk integrase berdasarkan dari validasi metode yang dilakukan.

AutoDock dijalankan dengan parameter jumlah generasi algoritma adalah 27.000, kalkulasi sebesar 250.000 kali, populasi 150, laju mutasi 0,2, dan pertukaran silang 0,8. Pelaksanaan *running* GA sebanyak 10 kali untuk tiap senyawa. Untuk vina, *exhaustiveness* diatur pada 8. Berkas luaran yang dihasilkan AutoDock berada dalam berkas .dlg yang dapat dilihat menggunakan pemroses dokumen seperti wordpad ataupun alat bantu molekular seperti VegaZZ. Berkas luaran yang dihasilkan Vina berupa konformasi ligan yang paling optimum dalam format berkas .pdbqt.

Pada penelitian ini dilakukan penapisan virtual terhadap 1453 senyawa dari basis data tanaman obat Indonesia. Setiap penapisan virtual dilakukan sebanyak 5 kali keterulangan.

#### **4.5 Analisis Hasil Penapisan Virtual**

Hasil penapisan virtual untuk tiap enzim diperingkatkan berdasarkan kesesuaiannya, yakni semakin rendah nilai  $\Delta G$  untuk AutoDock dandan semakin tinggi nilai GoldScore, semakin besar peringkatnya. Setiap senyawa yang masuk 10 peringkat besar ditelusuri dari pustaka untuk aktivitas anti-HIV bila ada.

##### **4.5.1 Penapisan Virtual pada Transkriptase Balik**

Hasil penapisan virtual pada transkriptase balik menggunakan ketiga metode dapat diamati pada tabel. Pada tabel tersebut diberikan data mengenai peringkat 10 besar, standar deviasi dan koefisien variansi tiap senyawa dalam 5 keterulangan percobaan.

**Tabel 4.14.** Hasil penapisan virtual menggunakan AutoDock Vina pada transkriptase balik HIV-1

Peringkat	Nama	$\Delta G$ (kkal/mol)	N	SD	KV (%)
1	Cassiamin C	-12,46	5	0,261	2,093
2	Beta-carotene	-11,70	5	0	0
3	(3S,5R,8S)-5,8-Epoxy-5,8-dihydro-beta, beta-caroten-3-ol	-12,00	2	0	0
4	Mutatoxanthin	-11,60	3	0,346	2,986
5	Spermatheridine	-11,56	5	0,894	0,774
6	Cryptocapsin	-11,55	2	0,071	0,612
7	Anonaine	-11,52	5	0,045	0,388
8	Cryptochrome	-11,50	5	0	0
9	Antheraxanthin	-11,48	4	0,050	0,436
10	Alpha-cryptoxanthin	-11,42	5	0,084	0,733

Berdasarkan hasil penapisan dengan transkriptase balik, didapatkan 10 peringkat senyawa terbaik dari masing-masing metode. Penapisan virtual menggunakan vina menghasilkan *Cassiamin C* sebagai peringkat tertinggi dengan  $\Delta G$  sebesar -12,46 kkal/mol dengan peringkat paling bawah ditempati *alpha-cryptoxanthin* dengan  $\Delta G$  sebesar -11,42 kkal/mol.

*Cassiamin C* merupakan senyawa turunan anthraquinone dimerik (anthrone) yang terkandung dalam tumbuhan *Cassia siamea* (johar) famili Fabaceae. Dari penelusuran pustaka belum ada penelitian tentang aktivitas anti HIV tumbuhan Johar ataupun *Cassiamin C*.

Dari 9 senyawa peringkat teratas Vina lainnya, diperoleh 7 senyawa turunan tetraterpen atau karotenoid (*beta-carotene*; *(3S,5R,8S)-5,8-epoxy-5,8-dihydro-beta, beta-caroten-3-ol*; *mutatoxanthin*; *cryptocapsin*; *cryptochrome*; *anteraxanthin*; dan *alpha-cryptoxanthin*). Dari penelusuran pustaka, senyawa terpen memiliki aktivitas anti-HIV, termasuk proses transkripsi balik. Golongan terpen yang paling aktif menghambat perkembangan virus HIV adalah triterpen pentasiklik (Huang & Chen, 2005). Dua senyawa lainnya adalah turunan alkaloid isokuinolin (*spermatheridine* dan *anonaine*). Alkaloid isokuinolin liriodenine dikenal sebagai senyawa pertahanan dasar tumbuhan serta memiliki aktivitas

antimikroba dan antifungal. *Mutatoxanthin*, *cryptocapsin*, *antheraxanthin*, *alpha-cryptoxanthin* serta *beta-carotene* terdapat dalam tumbuhan *Capsicum annum*. Dari 10 senyawa peringkat Vina ini, belum ada penelitian yang menunjukkan kemampuan penghambatan transkriptase balik ataupun anti-HIV.

**Tabel 4.15.** Hasil penapisan virtual menggunakan AutoDock pada transkriptase balik HIV-1

Peringkat	Nama	$\Delta G$ (kcal/mol)	N	SD	KV (%)
1	Mulberrin	-11,28	2	0,3041	2,697
2	Plucheoside A	-10,82	4	0,3293	3,044
3	Vitexilactone	-10,74	5	0,0438	0,408
4	Brucine N-Oxide	-10,70	5	0,0614	0,574
5	Cyanidin 3-arabinoside	-10,66	4	0,1800	1,689
6	Mangostin	-10,51	4	0,2130	2,028
7	Guaijaverin	-10,49	3	0,1270	1,210
8	Erycristagallin	-10,43	3	0,3402	3,261
9	Morusin	-10,43	5	0,3290	3,155
10	Sanggenol N	-10,36	4	0,1668	1,611

Berdasarkan hasil penapisan virtual transkriptase balik menggunakan AutoDock, senyawa yang menempati peringkat tertinggi adalah *mulberrin* dengan  $\Delta G$  sebesar -11,28 kkal/mol dan peringkat paling bawah adalah Sanggenol N dengan  $\Delta G$  sebesar -10,36 kkal/mol. Senyawa ini dikenal juga sebagai Kuwanon C dan merupakan senyawa golongan flavonoid dari tanaman *Artocarpus fretessi*, *A. gomezianus Wallich ex Trecul*, *A. heterophyllus*, *Morus alba*, *M. australis Poir*, dan *M. lhou*. Semua tanaman tersebut dikasifikasikan sebagai anggota famili Moraceae. Selain *mulberrin*, *Morus australis* dan *M. alba* juga mengandung *morusin* dan *sanggenol N* yang berada dalam peringkat penambatan. Ketiga senyawa ini termasuk dalam golongan flavonoid.

Luo, Nemece, Ning dan Li (1994) telah meneliti flavonoid dari *Morus alba* yang memiliki aktivitas anti HIV. Penelitian ini menyimpulkan bahwa flavonoid *morusin*, *kuwanon H* dan *glikosida morusin* memiliki aktivitas poten. *Sanggenol N*

adalah flavonoid isopren dari *Morus australis* namun belum ada penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas anti-HIV.

Senyawa peringkat kedua, yakni *Plucheoside A* adalah senyawa golongan terpen glukosida dari tumbuhan *Pluchea indica*. Locher dan kawan-kawan (1996) melakukan penelitian tentang aktivitas antivirus HIV-1 dari tumbuhan Hawaii. Dari penelitian tersebut, tumbuhan *Pluchea indica* diketahui dapat menghambat aktivitas HIV-1. Namun tidak dijelaskan mekanisme penghambatan aktivitas HIV-1 tersebut dan tidak dilanjutkan dengan isolasi senyawa.

*Vitexilactone* adalah senyawa diterpen pada peringkat ketiga hasil penapisan dengan  $\Delta G$  sebesar  $-10,74$  kkal/mol. Senyawa ini berasal dari tumbuhan *Vitex spp.* Tumbuhan ini diketahui telah digunakan untuk merawat HIV-AIDS dan memiliki aktivitas transkriptase balik. Tetapi belum ada penelitian terkini yang langsung menghubungkan *Vitexilactone* dengan aktivitas inhibisi transkriptase balik (Woradulayapinij, Soonthornchareonnon, & Wiwat, 2005; Padmalatha, Jayaram, Raju, Prasad, & Arora, 2009).

*Brucine N-oxide* adalah persenyawaan dari tumbuhan *Strychnos atlantica*, *S. lucida* R.Br, *S. spinosa*, dan *S. wallichiana*. Senyawa ini termasuk golongan alkaloid indol. Alkaloid golongan ini telah banyak diteliti aktivitas antiviralnya, termasuk terhadap HIV. Terdapat senyawa dari golongan alkaloid indol yang positif memiliki aktivitas HIV-1, hal ini memungkinkan pengembangan senyawa alkaloid indol sebagai pemandu anti HIV-1 (Cutignano, Bifulco, Bruno, Casapullo, Gomez-Paloma, & Riccio, 2000).

*Cyanidin 3-arabinoside* adalah senyawa golongan flavonoid yang tersebar pada tumbuhan famili Ericaceae, *Theobroma cacao*, *Malus sylvestris*, *Mangifera indica*, *Empetrum nigrum* dan *Cinchona ledgeriana*. Aglikon senyawa ini yakni *cyanidin*, serta derivatnya diduga memiliki aktivitas antiretroviral (Shiro, Masanori, Mamoru, & Yosuke, 1991).

Mangostin (alfa-mangostin) merupakan senyawa xanthon yang didapatkan dari tumbuhan *Garcinia kowa*, *G. dulcis*, *G. echinocarpa*, *G. fusca*, *G. mangostana*, *G. terpnophylla* dan *Cratoxylum cochinchinese*. Penelitian Vlietinck,

Bruyne, Apers, dan Pieters (1998) menyimpulkan bahwa mangostin memiliki aktivitas anti-HIV dan menghambat proses replikasi HIV-AIDS.

*Guaijaverin* merupakan glikosida kuersetin dengan gula 3-arabinosida yang berasal tumbuhan *Psidium guajava*, *Theobroma cacao*, *Taxodium distichum* dan family Ericac5eae. *Guaijaverin* lebih dikenal aktivitasnya sebagai bakteriostatik dan antiplak. Aglikon dari *guajaverin*, kuersetin, dikenal sebagai inhibitor HIV-1 terutama transkriptase balik (Yu, Miyashiro, Nakamura, Hattori, & JC, 2007).

*Erycristagallin* merupakan persenyawaan pterocarpan dari tumbuhan genus erythrina. Diduga terdapat senyawa pterocarpan yang memiliki aktivitas anti HIV dari tumbuhan ini, namun belum ada yang menghubungkan dengan *Erycristagallin* (McKee, et al., 1997).

**Tabel 4.16.** Hasil penapisan virtual menggunakan GOLD pada transkriptase balik HIV-1

Peringkat	Nama	GoldScore	N	SD	KV (%)
1	Mirabijalone C	88,113	5	2,2138	2,512
2	Luteolin 7-apiosyl(1-2)-glucoside	84,430	4	4,6242	5,477
3	Mangostin	82,952	5	1,0499	1,266
4	Myricetin 3-(6"-galloyl)galactoside)	82,286	2	3,5424	4,305
5	Heteroartoin A	82,111	2	2,7381	3,335
6	Heteroflavanone C	82,054	2	0,7188	0,876
7	Myricetin 3-glucoside	81,061	5	1,1863	1,463
8	Torvanol A	81,029	5	2,3206	2,864
9	Proanthocyanidin A1	80,692	4	1,4893	1,846
10	Guaijaverin	79,935	4	2,8912	3,617

Penapisan virtual menggunakan GOLD pada transkriptase balik menghasilkan 10 senyawa dengan peringkat GoldScore tertinggi. Dari 10 senyawa tersebut, 2 senyawa (*mangostin* dan *guaijaverin*) diberikan oleh metode penambatan AutoDock.

*Mirabijalone C* menempati peringkat tertinggi dengan nilai GoldScore 88,113. *Mirabijalone C* merupakan senyawa glikosida dari *Mirabilis jalapa*. Penelitian tentang aktivitas anti HIV masih belum didapatkan dari penelusuran pustaka.

Peringkat kedua ditempati oleh senyawa flavonoid *Luteolin 7-apiosyl(1-2)-glucoside* dengan GoldScore 84,430. Senyawa ini terdapat pada tumbuhan *Apium graveolens*, *Petroselinum crispum*, dan *Capsicum annum*. Senyawa flavonoid merepresentasikan antiretroviral dari sumber alam yang penting karena aktivitas anti-HIV-1 dan toksisitasnya yang rendah. Luteolin memiliki kemampuan untuk menghambat transkripsi HIV-1 (Mehla, Mehla, & Chauhan, 2011).

*Myricetin 3-(6''galloyl)galactoside* dengan GoldScore 82,286 menempati peringkat 4. Senyawa ini terdapat pada tumbuhan *Euphorbia spp*, *Sedum kamstchaticum*, *Woodfordia fruticosa*, *Epilobium angustifolium*, *E. Dodona*; dan *Tellima grandiflora*. Senyawa *myricetin 3-glucoside* menempati peringkat 7 dengan GoldScore 81,061. *Myricetin 3-glucoside* terdapat pada tumbuhan anggota familia Fabaceae, Saxifragaceae, *Camelia sinensi*, *Nymphaea Caerulea* dan *Sparganium erectum*. Keduanya merupakan glukosida flavonoid. Aglikon kedua senyawa ini yakni flavonoid *myricetin* memiliki aktivitas anti-HIV (Veljkovic, Mouscadet, Veljkovic, Glisic, & Debyser, 2007).

Heteroartonin A menempati peringkat 5 dengan GoldScore 82,111. Pada peringkat keenam terdapat senyawa heteroflavanone C dengan GoldScore 82,054. Kedua senyawa ini merupakan anggota flavon dan terdapat pada tumbuhan *Artocarpus fretessi*, *A. chempeden* dan *A. heterophyllus*. Ekstrak heksan biji *A. heterophyllus* menunjukkan aktivitas poten terhadap transkriptase balik HIV-1. Namun isolasi senyawa lebih lanjut belum dilakukan untuk mengetahui senyawa aktif dari tumbuhan ini (Silprasit, Seetaha, Pongsanarakul, Hannongbua, & Choowongkamon, 2011).

*Torvanol A* menempati peringkat 8 dengan GoldScore 81,029. *Torvanol A* merupakan persenyawaan isoflavon yang terdapat pada *Solanom torvum*. Dari



penelusuran pustaka belum ditemukan penelitian tentang aktivitas anti HIV, namun ekstrak *torvanol A* memiliki aktivitas antiviral (Woradulayapinij, Soonthornchareonnon, & Wiwat, 2005).

*Proanthocyanidin A1* menempati peringkat 9 dengan GoldScore 80,692. Senyawa ini merupakan dimer epigallocatechin-(2 $\beta$ →7,4 $\beta$ →8)-epicatechin yang terdapat pada *Theobroma cacao*, *Areca catechu*, *Cola acuminata*, *Lupinus angustifolius*; *Cinnamomum spp* dan anggota familia Fabaceae. Dari penelusuran pustaka, diketahui senyawa proanthocyanidin memiliki aktivitas anti-HIV *in vitro* (Shahat, et al., 1998).

#### 4.5.2 Penapisan Virtual pada Protease

Hasil penapisan virtual pada protease menggunakan ketiga metode dapat diamati pada tabel 4.17. Pada tabel tersebut diberikan data mengenai peringkat 10 besar, standar deviasi dan koefisien variansi tiap senyawa dalam 5 keterulangan percobaan.

**Tabel 4.17.** Hasil penapisan virtual menggunakan AutoDock Vina pada protease HIV-1

Peringkat	Nama	$\Delta G$ (kcal/mol)	N	SD	KV (%)
1	Mangostenone A	-10,80	5	0	0
2	Yuehchukene	-10,62	5	0,0447	0,421
3	Leucadenone B	-10,60	4	0	0
4	Myricetine 3-robinobioside	-10,36	5	0,0548	0,529
5	Roxburghine B	-10,30	4	0	0
6	Cyclomorusin	-10,20	5	0	0
7	Cassiamin C	-10,20	4	0	0
8	Cinchonain Ib	-10,26	5	0,0577	0,563
9	Sanggenol N	-10,20	5	0	0
10	Daucosterin	-10,12	5	0,0500	0,494

Pada peringkat penapisan, senyawa mangostenone A posisi pertama dengan  $\Delta G = -10,80$ . Mangostenone merupakan senyawa flavon yang terdapat

pada *Garcinia mangostana*. *Garcinia mangostana* diketahui memiliki aktivitas protease inhibitor yang berkaitan dengan mangostin (Chen, Wan, & Loh, 1996).

*Yuehchukene* dengan  $\Delta G = -10,62$  menempati peringkat kedua penambatan. Senyawa ini adalah alkaloid dimerik indol yang terdapat pada akar tumbuhan *Murraya paniculata*. Posisi ketiga penapisan ditempati oleh *leucadenone B* dengan  $\Delta G = 10,60$ . *Leucadanone B* adalah senyawa flavanon yang umum terdapat pada daun *Melaleuca leucadendron* dari family Myrtaceae. Belum ada penelitian terkait aktivitas anti-HIV senyawa ini.

Posisi keempat penapisan ditempati oleh *myricetin 3-robinobioside* dengan  $\Delta G = -10,36$ . Senyawa flavonoid ini terdapat pada *Syzygium cumini* dan *Nymphaea marliaceae*. Aglikon *myricetin* memiliki aktivitas antiviral walaupun lemah. Pada posisi kelima penapisan terdapat *Roxburghine B* dengan  $\Delta G = -10,30$ . Senyawa alkaloid diastereomer indol ini terdapat pada daun dan batang *Uncaria gambir*. Senyawa alkaloid turunan Indol banyak diteliti karena efektivitasnya sebagai anti HIV (Cutignano, Bifulco, Bruno, Casapullo, Gomez-Paloma, & Riccio, 2000).

Posisi keenam penapisan ditempati oleh *Cyclomorusin* dengan  $\Delta G = -10,20$  kkal/mol. *Cyclomorusin* merupakan flavonoid golongan flavon yang terdapat dalam tumbuhan *Artocarpus communis*, *A. elasticus*; *Morus alba*; *M. australis*. Du, He, Jiang, Ye, Xu, & But (2003) telah menemukan bahwa *cyclomorusin* memiliki aktivitas antiviral dengan  $IC_{50}$  1,6  $\mu\text{g/mL}$ .

Posisi ketujuh penapisan ditempati oleh *Cassiamin C*. *Cassiamin C* terdapat juga pada penapisan virtual menggunakan AutoDock Vina di kedua enzim lainnya. *Cinchonain lb* adalah senyawa turunan flavonolignan yang menempati posisi 8 dengan nilai  $\Delta G = -10,26$  kkal/mol. Senyawa ini terdapat pada batang tumbuhan *Trichillia catigua*, *Phyllocladus trichomanoides*, *Kandelia candel*, *Cinchona succirubra*. Untuk senyawa ini belum ada aktivitas farmakologis yang dilaporkan namun diketahui batang *Cinchona* memiliki khasiat anti-HIV.

Posisi kesembilan ditempati oleh Sanggenol N. Sanggenol N juga ditemukan saat dilakukan penapisan virtual menggunakan AutoDock pada transkriptase balik. Posisi sepuluh ditempati *daucosterin*. *Daucosterin* adalah senyawa turunan glukopiranosida yang terdapat sangat menyebar di tumbuhan family Asteracea, Capparacaceae, Euphorbiaceae. Belum ditemukan adanya penelitian tentang senyawa ini terkait aktivitas anti HIV.

**Tabel 4.18.** Hasil penapisan virtual menggunakan AutoDock pada protease HIV-1

Peringkat	Nama	$\Delta G$ (kkal/mol)	N	SD	KV (%)
1	8-Hydroxyapigenin 8-(2'',4''-disulfatoglucuronide)	-18,74	5	2,8869	15,408
2	Isoscutellarein 4'-methyl ether	-17,83	5	1,1985	6,722
3	Amaranthin	-17,72	5	1,5779	8,905
4	Torvanol A	-14,58	5	0,5895	4,042
5	Ursonic acid	-12,46	5	0,0342	0,275
6	5-Carboxypyranocyanidin 3-O-(6''-O-malonyl-beta-glucopyranoside)	-12,39	4	0,3498	2,823
7	Oleoside	-12,04	5	0,4567	3,793
8	Jacoumaric acid	-11,95	4	0,0562	0,470
9	Platanic acid	-11,91	5	0,1853	1,555
10	5-Carboxypyranocyanidin 3-O-beta-glucopyranoside	-11,79	3	0,5456	4,628

Dari penambatan ini didapatkan *8-Hydroxyapigenin 8-(2'',4''-disulfatoglucuronide)* dengan  $\Delta G$  sebesar -18,74 kkal/mol dan *Isoscutellarein 4-methylether* dengan  $\Delta G$  sebesar -17,83. Keduanya adalah glikosida flavon yang terdapat dalam buah *Helicteres isora*. Otake dan kawan-kawan (1995) melakukan penelitian dari 30 ekstrak tumbuhan sebagai aktivitas anti HIV-1. Mereka menyimpulkan ekstrak air buah *Heliocteres isora* (Jelumpang) memiliki aktivitas anti HIV-1.

Pada peringkat ketiga terdapat amaranthin dengan  $\Delta G$  sebesar -17,72 kkal/mol. Amaranthin adalah zat pigmen ungu golongan lektin yang terdapat

dalam biji *Amaranthus caudatus*, *A. tricolor*, *Celosia argentea*, dan *C. cristata*. Bijitumbuhan ini dapat diolah menjadi bahan pangan. Lektin sendiri merupakan senyawa tumbuhan yang berfungsi sebagai alat defensif terhadap mikroba, bahkan lektin dari *Phaseolus vulgaris* memiliki aktivitas RT (Fang, Lin, Wong, Tsao, & Ng, 2010).

*Torvanol A* yang terdapat pada peringkat keempat dengan  $\Delta G$  sebesar -14,48 kkal/mol. *Torvanol A* juga terdapat pada peringkat penapisan virtual transkriptase balik menggunakan GOLD. *Ursonic acid* terdapat pada peringkat kelima dengan  $\Delta G$  sebesar -12,46 kkal/mol. Senyawa triterpen pentasiklik ini terdapat pada tumbuhan *Angelica ursina Maxim*, *Ficus microcarpa*, *Myrica rubra*, dan *Lantana camara* Linn. Dari penelusuran pustaka, belum ditemukan penelitian tentang aktivitas HIV dari *Ursonic acid*.

*5-Carboxypyranocyanidin 3-O-(6"-O-malonyl-beta-glucopyranoside)* dengan  $\Delta G$  sebesar -12,39 menempati peringkat 6 dan *5-Carboxypyranocyanidin 3-O-beta-glucopyranoside* dengan  $\Delta G$  sebesar -11,79 kkal/mol menempati peringkat 10. Keduanya merupakan glukosida flavonoid dari *Allium cepa*. *Allium cepa* telah dipatenkan untuk dipakai dalam pengobatan HIV/AIDS oleh Goren, dan kawan-kawan (2002).

*Oleoside* menempati peringkat 7 dengan  $\Delta G$  sebesar -12,04 kkal/mol. *Oleoside* merupakan senyawa glukosida sekoiridoid dari tumbuhan familia Oleaceae. Ekstrak daun dari tumbuhan familia ini banyak digunakan untuk mensupresi infeksi akut dan transmisi sel ke sel HIV-1 (Lee-Huang, Zhang, Huang, Chang, & Huang, 2003).

Posisi kedelapan ditempati *jacoumaric acid* dengan  $\Delta G = -11,95$ . Senyawa triterpen ini terdapat pada tumbuhan *Jacaranda caucana* dan *Psidium guajava*. Belum ada penelitian tentang aktivitas anti-HIV senyawa ini. Posisi kesembilan ditempati oleh *platanic acid* dengan  $\Delta G = -11,91$ . Senyawa ini juga merupakan triterpen seperti *jacoumaric acid*. *Platanic acid* terdapat pada *Syzigium claviflorum*, *Platanus occidentalis*, *Melaleuca ericifolia*, *Melaleuca leucadendron*. Fujioka dan Kashiwada (1994) telah meneliti tentang *betulinic acid*

dan *platanic acid* sebagai agen anti-HIV dari tumbuhan *Syzigium claviflorum* serta triterpenoid terkait lainnya. *Platanic acid* menunjukkan efek penghambatan HIV dengan  $EC_{50}$  6,5  $\mu$ M.

**Tabel 4.19.** Hasil penapisan virtual menggunakan GOLD pada protease HIV-1

Peringkat	Nama	GoldScore	N	SD	KV (%)
1	Multifloroside	91,383	5	5,3676	5,874
2	Ternatin D	90,345	3	6,4083	7,093
3	Cyanidin 3,5-di-(6-malonylglucoside)	89,862	5	5,4561	6,072
4	Cyanidin 3-(6"-malonylglucoside)-5-glucoside	83,795	2	4,3653	5,271
5	Cyanidin 7-(3-glucosyl-6-malonylglucoside)-4'-glucoside	82,811	3	5,7152	7,104
6	Isoscutellarein 4'-methyl ether 8-(2",4"-disulfatoglucoronide)	80,400	2	3,9137	4,868
7	Myristin	79,652	5	4,4704	5,612
8	Amaranthine	79,572	4	4,0748	5,121
9	Kaempferol 3-(6"-acetylglucosyl)-(1-3)-galactoside	78,225	3	1,9927	2,547
10	Multiroside	77,597	4	1,2623	1,627

Berdasarkan hasil penapisan virtual menggunakan GOLD pada protease HIV-1, senyawa dengan nilai GoldScore terbesar adalah *Multifloroside* yakni 91,383. Senyawa ini merupakan glikosida dari tumbuhan *Jasminum multiflorum* yang belum banyak diteliti. Pada peringkat 10 terdapat *Multiroside* yang juga merupakan glikosida dari tumbuhan *Jasminum multiflorum* seperti *multifloroside*. Glikosida memiliki potensi sebagai anti HIV terutama bila aglikonnya merupakan flavon (Veljkovic, Mouscadet, Veljkovic, Glisic, & Debyser, 2007).

Senyawa yang menempati peringkat teratas lainnya juga merupakan persenyawaan glikosida. *Cyanidin 3,5-di-(6-malonylglucoside)* adalah glikosida

yang banyak terdapat pada tumbuhan dari familia Labiateae seperti *Thymus doerfleri*, *Thymus pannonicus*, *Thymus praecox* dan *Thymus serpyllum*. Aglikon cyanidin diduga memiliki aktivitas anti retroviral (Shiro, Masanori, Mamoru, & Yosuke, 1991). Amaranthine merupakan pigmen pewarna ungu dari tumbuhan famili Amaranthaceae yang juga turunan glikosida. Dari pustaka belum ditemukan penelitian terkait aktivitas HIV-1.

Terdapat beberapa penelitian tentang glikosida yang memiliki aktivitas anti HIV, beberapa diantaranya memiliki hambatan yang tinggi seperti glikosida jantung dari *Elaeagnus argentea* (Prinsloo, Meyer, Hussein, Munoz, & Sanchez, 2010), glikosida turunan fenilpropanoid (Kim, Woo, Shin, Hwang, Park, & Lee, 2001), dan turunan ester galat (Kim, Woo, Shin, & Park, 1998). Hasil ini memberikan rekomendasi glikosida baru yang dapat menjadi inhibitor poten untuk HIV-1.

#### 4.5.3 Penapisan Virtual pada Integrase

Hasil penapisan virtual pada integrase menggunakan ketiga metode dapat diamati pada tabel 4.20, 4.21, dan 4.22. Pada tabel tersebut diberikan data mengenai peringkat 10 besar, standar deviasi dan koefisien variansi tiap senyawa dalam 5 keterulangan percobaan.

**Tabel 4.20.** Hasil penapisan virtual menggunakan AutoDock Vina pada integrase HIV-1

Peringkat	Nama	$\Delta G$ (kcal/mol)	N	SD	KV (%)
1	Cassiamin C	-10,12	5	0,0447	0,442
2	Epicatechin 3,5-di-O-gallate	-9,90	4	0	0
3	Myricetin 3-(2G-rhamnosylrutinoside)	-9,86	5	0,0894	0,907
4	Arecatannin A1	-9,80	4	0	0
5	Epigallocatechin 3,5,-di-O-gallate	-9,80	5	0	0
6	Shermilamine E	-9,80	5	0	0
7	Epigallocatechin-(4beta->8)-epicatechin-3-O-gallate	-9,78	4	0,0447	0,457
8	Sangganol N	-9,70	5	0,0	0
9	Procyanidin B3	-9,68	5	0,0447	0,462
10	Sojagol	-9,66	5	0,0548	0,567

Pada posisi pertama penambahan terdapat *cassiamin C*. Senyawa derivat anthraquinon ini terdapat dalam peringkat 10 besar penapisan menggunakan AutoDock Vina pada transkriptase balik dan protease. Sejauh ini penelitian tentang *Cassia siamea* ataupun *cassiamin C* sebagai anti-HIV belum didapatkan dari pustaka.

*Epicatechin 3,5-di-O-gallate*, *epigallocatechin 3,5-di-O-gallate* dan *epigallocatechin-(4 $\beta$ ->8)-epicatechin-3-O-gallate* yang terdapat pada posisi 2, 3, 5 dan 7 merupakan persenyawaan polifenol yang banyak terdapat dalam *Camellia sinensis*. Telah banyak penelitian dilakukan untuk persenyawaan *catechin* dalam teh terutama *epigallocatechin gallate*. Senyawa ini menarik untuk diteliti karena diduga memiliki kemampuan pengurangan *viral load* dan merusak virus. Penelitian yang dilakukan untuk mengetahui mekanisme kerjanya menduga bahwa aktivitas antiviral HIV dihasilkan dari berbagai tahap dalam siklus hidup virus (Yamaguchi, Honda, Ikigai, Hara, & Shimamura, 2002).

*Myricetin 3-(2G-rhamnosylrutinoside)* adalah persenyawaan glikosida flavonoid yang terdapat dalam tumbuhan *Clitoria ternatea*. Tumbuhan ini diduga memiliki aktivitas anti HIV, mekanisme yang disimpulkan adalah kemampuan inhibisi protease (Tewtrakul, Subhadhirasakul, & Rattanasuwan, 2003).

*Procyanidin B3* adalah persenyawaan dimer *catechin-(4 $\alpha$ ->8)-catechin* dan merupakan anggota flavonoid proantosianidin. Dari literatur, *procyanidin* memiliki aktivitas penghambatan HIV-1 namun mekanisme yang diusulkan adalah melalui penghambatan protease inhibitor (Park, Ito, & Yoshida, 2003).

*Sanggenol N* yang terdapat pada peringkat 8 ada pada 10 peringkat besar protease menggunakan Vina dan transkriptase balik menggunakan AutoDock. Aktivitas anti-HIV *sanggenol N* belum didapatkan dari pustaka. *Sojagol* adalah senyawa isoflavonoid yang terdapat pada tumbuhan *Glycine max* dan *Phaseolus aureus*. Dari penelusuran pustaka belum didapatkan adanya penelitian mengenai aktivitas anti HIV-1 senyawa ini.

**Tabel 4.21.** Hasil penapisan virtual menggunakan AutoDock pada integrase HIV-1

Peringkat	Nama	$\Delta G$ (kkal/mol)	N	SD	KV (%)
1	Cassiamin C	-10,59	5	0,6937	6,553
2	5,7,2',4'- Tetrahydroxyisoflavone- 8-C-glucoside	-9,58	5	0,4739	4,949
3	Cyanidin 3-arabinoside	-9,56	4	0,3869	4,046
4	Cyanidin 3-(6''-caffeyl-6'''- ferulylsophoroside)-5- glucoside	-9,34	5	0,133	1,423
5	Yuehchukene	-9,34	4	0,1804	1,932
6	Artonin X	-9,30	5	0,0937	1,008
7	Sanggenol N	-9,11	5	0,1333	1,464
8	Myricetin 3-alpha-L- arabinopyranoside	-9,08	5	0,2492	2,743
9	Quercetin 3-O-alpha-D- arabinopyranoside	-9,10	3	0,3748	4,121
10	Kuwanon T	-9,06	3	0,2108	2,326

Dari 10 peringkat penapisan pada integrase HIV-1 menggunakan AutoDock, terdapat dua senyawa yang juga terdapat pada peringkat penapisan menggunakan AutoDock Vina, yaitu *cassiamin C* dan *sanggenol N*. Kedua senyawa ini juga pernah muncul pada penapisan virtual pada transkriptase balik dan pada protease.

Pada posisi kedua penambatan dengan  $\Delta G = -9,58$  kkal/mol didapatkan *5,7,2',4'-Tetrahydroxyisoflavone-8-C-glucoside*, suatu glikosida yang terkandung dalam *Cassia siamea* seperti *Cassiamin*. Dari hasil penelusuran pustaka tumbuhan ini belum diteliti aktivitas HIV-integrasinya.

*Cyanidin 3-arabinoside* dan *quercetin 3-O-alpha-D-arabinopyranoside* adalah persenyawaan glikosida flavonoid, aglikonnya diduga memiliki aktivitas antiretroviral. Senyawa ini juga berada pada peringkat penambatan transkriptase balik menggunakan AutoDock. *Myricetin 3-alpha-L-arabypiranoside* adalah glikosida flavonoid. Dari penelusuran pustaka senyawa ini belum dipublikasikan mengenai penelitian aktivitasnya terhadap integrase.



*Yuehchukene* adalah senyawa dari golongan alkaloid indol. Golongan ini berpotensi untuk memiliki aktivitas anti HIV. *Yuehchukene* terdapat juga pada peringkat penambatan protease menggunakan AutoDock Vina.

*Kuwanon T* adalah senyawa turunan *flavon* dari tanaman *Artocarpus heterophyllus* dan *Morus lhou*. Tanaman dari genus ini memiliki senyawa yang aktif anti HIV (Luo, Nemeç, Ning, & Li, 1994). Data mengenai aktivitas *Kuwanon T* sebagai anti-HIV belum didapatkan.

**Tabel 4.22** Hasil Penapisan Virtual Menggunakan GOLD pada integrase HIV-1

Peringkat	Nama	GoldScore	N	SD	KV (%)
1	Myricetin 3-galactoside	76,190	5	3,9470	5,181
2	Epigallocatechin 3,5-di-O-gallate	75,885	5	6,0084	7,918
3	Precarthamin	74,661	2	2,5144	3,368
4	Glucobrassicin	73,750	5	4,3031	5,835
5	3-O-Galloylepicatechin-(4beta-8)-epicatechin-3-O-gallate	73,138	3	1,9757	2,701
6	Miraxanthin-I	72,185	4	2,3194	3,213
7	Kaempferol 3-(4"-acetylramnoside)	71,626	5	1,1679	1,631
8	Myricetin 3-(2G-rhamnosylrutinoside)	71,277	5	3,0723	4,310
9	5,7,2',4'-Tetrahydroxyisoflavone 8-C-glucoside	70,779	3	2,1786	3,078
10	Cyanidin 3-(6"-malonylglucoside)	69,769	3	2,9147	4,178

*3-O-Galloylepicatechin-(4beta-8)-epicatechin-3-O-gallat* dan *Epigallocatechin 3,5-di-O-gallate* adalah senyawa polifenol dari *Camelia sinensis*. Pengujian senyawa golongan ini menunjukkan bahwa tahap yang dihambat berupa tahapan multiproses. Senyawa ini juga muncul pada peringkat penapisan integrase menggunakan Vina.

*Kaempferol 3-(4"-acetylramnoside)*, *cyanidin 3-(6"-malonylglucoside)* dan *myricetin 3-(2G-rhamnosylrutinoside)* adalah senyawa glukosida flavon. Dari hasil penelitian sebelumnya, bentuk aglikon flavonnya yang memiliki aktivitas anti HIV-1 namun tidak dijelaskan mekanisme aktivitasnya.

*Miraxanthin I* adalah senyawa turunan xanthin yang terdapat pada tumbuhan *Mirabilis jalapa*. Peringkat ketiga adalah *Precarthamin* yang merupakan prekursor diketahui dari *Carthamin* yang merupakan glikosida turunan sikloheksanon dari tumbuhan *Carthamus tinctorius*. Senyawa ini dikenal luas sebagai pigmen alamiah pada tumbuhan. Keduanya belum diketahui adanya penelitian tentang aktivitas anti HIV.

*Glucobrassicin* adalah senyawa indol glukosinolat yang banyak terdapat dalam tumbuhan Cruciferae, Capparacae, dan Cleomaceae. Ekstrak air tumbuhan *Isatis tinctoria* yang mengandung *glucobrassicin* dicampur dengan ekstrak *Lonicera japonica*, dan *polygonium bistorta* menunjukkan aktivitas penghambatan replikasi dan infeksi HIV secara *in vitro* (Tsai, Hwang, & Kung, 1997).

Pada peringkat 9 dan 10 terdapat *5,7,2',4'-Tetrahydroxyisoflavone 8-C-glucoside* dan *Cyanidin 3-(6"-malonylglucoside)* yang merupakan glikosida flavonoid. Glikosida flavonoid merupakan senyawa yang diteliti terkait khasiatnya sebagai anti-HIV (Prinsloo, Meyer, Hussein, Munoz, & Sanchez, 2010).

#### 4.6 Visualisasi Hasil Penapisan

Dari hasil validasi dan penapisan virtual, selain didapatkan peringkat, didapatkan juga posisi hasil penambatan. Untuk penelitian ini, visualisasi dilakukan menggunakan PyMOL dan dibatasi untuk dilakukan hanya pada metode yang menghasilkan akurasi relatif lebih baik.

Pada validasi, dilakukan visualisasi untuk nevirapine pada transkriptase balik dan saquinavir pada protease. Gambar hasil visualisasi dan situs ikatan dapat dilihat pada gambar 4.1 – 4.4. Menggunakan bantuan PyMOL, RMSD dapat dihitung menggunakan metode *pair fitting atoms* ligan. *Mobile atoms* yang digunakan adalah atom dari ligan hasil penambatan dan *fixed atoms* adalah atom dari struktur kristal. Untuk integrase, perhitungan tidak bisa dilakukan karena struktur raltegravir dengan kristal belum dipublikasi di PDB.

**Tabel 4.41** RMSD (dalam Angstrom) dari posisi hasil penambatan menggunakan PyMOL

Senyawa	AutoDock	AutoDock Vina	GOLD
Nevirapine	0,165	0,146	0,134
Saquinavir	4,0167	0,757	1,678

Pada transkriptase balik, ketiga metode memiliki RMSD yang relatif baik ( $\text{RMSD} < 2,0 \text{ \AA}$ ), sedangkan pada protease AutoDock menunjukkan RMSD yang kurang baik. RMSD ini karena posisi saquinavir hasil penambatan dengan AutoDock bergeser dari sisi ikatan. Untuk hasil penapisan virtual, visualisasi dapat dilihat pada lampiran gambar.



## BAB 5

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Kesimpulan

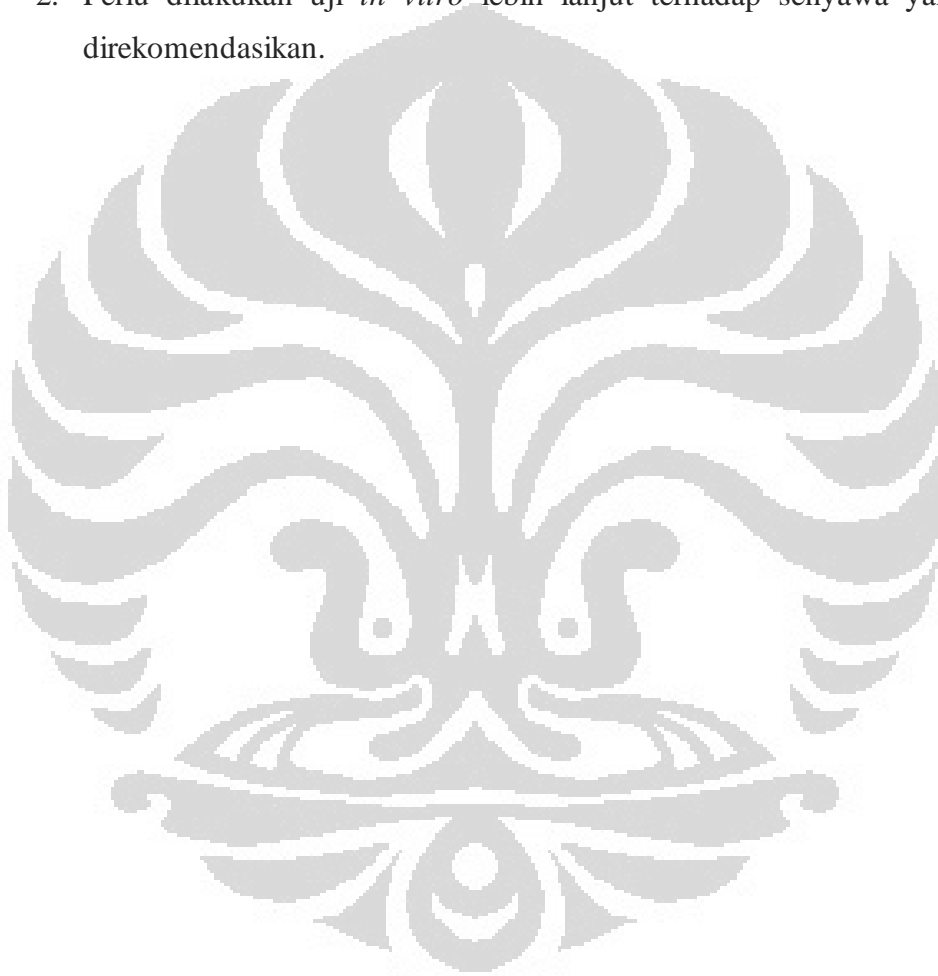
Dari hasil validasi dan hasil penapisan didapatkan bahwa

1. Berdasarkan akurasi dan keberhasilan pemeringkatan senyawa kontrol, metode yang relatif unggul untuk digunakan dalam penapisan virtual untuk transkriptase balik adalah menggunakan piranti lunak AutoDock, sedangkan pada penapisan virtual untuk protease, metode yang relatif unggul adalah menggunakan GOLD dan atau Vina, sedangkan untuk integrase, AutoDock Vina menunjukkan performa lebih baik dari kedua metode lainnya.
2. Penapisan virtual pada transkriptase balik menggunakan AutoDock didapatkan 10 peringkat tertinggi: 1) *mulberrin*, 2) *plucheoside A*, 3) *vitexilactone*, 4) *brucine-N-oxide*, 5) *cyanidin 3-arabinoside*, 6) *mangostin*, 7) *guaijaverin*, 8) *erycristagallin*, 9) *morusin*, 10) *sanggenol N*.
3. Penapisan virtual pada protease menggunakan GOLD didapatkan 10 peringkat tertinggi: 1) *multifloroside*, 2) *ternatin D*, 3) *cyanidin 3,5-di-(6-malonylglucoside)*, 4) *cyanidin 3-(6"-malonylglucoside)-5-glucoside*, 5) *cyanidin 7-(3-glucosyl-6-malonyl-glucoside)-4'-glucoside*, 6) *isoscuteallarein 4'-methyl ether 8-(2",4"-disulfatoglucoronide)*, 7) *myristin*, 8) *amaranthine*, 9) *kaempferol 3-(6"-acetylglucosyl)-(1-3)-galactoside*, 10) *multiroside*. Penapisan virtual menggunakan Vina didapatkan: 1) *mangostenone A*, 2) *yuehchukene*, 3) *leucadenone B*, 4) *myricetine 3-robinobioside*, 5) *roxburghine B*, 6) *cyclomorusin*, 7) *cassiamin C*, 8) *cinchonain Ib*, 9) *sanggenol N*, dan 10) *Daucoserin*.
4. Penapisan virtual pada integrase menggunakan AutoDock Vina didapatkan 10 peringkat tertinggi 1) *cassiamin C*, 2) *Epicatechin 3,5-di-O-gallate*, 3) *Myricetin 3-(2G-rhamnosylrutinoside)*, 4) *Arecatannin A1*, 5) *Epigallocatechin 3,5,-di-O-gallate*, 6) *Shermilamine E*, 7)

*Epigallocatechin-(4beta->8)-epicatechin-3-O-gallate*, 8) *Sanggenol N*, 9)  
*Procyanidin B3*, 10) *Sojagol*.

## 5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian dinamika molekuler untuk melihat stabilitas kekuatan ikatan tiap senyawa rekomendasi.
2. Perlu dilakukan uji *in vitro* lebih lanjut terhadap senyawa yang telah direkomendasikan.



## DAFTAR REFERENSI

- Ashford, L. S. (2006, July). *How HIV and AIDS Affect Populations*. Diambil 12 Desember, 2010, dari Population Reference Bureau: <http://www.prb.org/pdf06/howhivaidsaffectpopulations.pdf>
- Basavapathruni, A., & Anderson, K. S. (2007). Reverse Transcription of The HIV-1 Pandemic. *The FASEB Journal* , 3795-3808.
- Beale, K. K., & Robinson, W. E. (2000). Combinations of Reverse Transcriptase, Protease, and Integrase Inhibitor can Be Synergistic in vitro Against Drug-sensitive and RT Inhibitor-resistant Molecular Clones of HIV-1. *Antiviral Research* , 46 (3), 223-232.
- Berman, H.M.; Westbrook, J.; Feng, Z.; Gilliland, G.; Bhat, T.N.; Weissig, H.; Shindyalov, I.N.; Bourne, P.E. (2000). The Protein Data Bank . *Nucleic Acids Research Vol 28* , 235-242.
- Bolton E, Wang Y, Thiessen PA, Bryant SH. PubChem: Integrated Platform of Small Molecules and Biological Activities. Chapter 12 IN *Annual Reports in Computational Chemistry*, Volume 4, American Chemical Society, Washington, DC, 2008 Apr.
- Braz, V. A. (2010). *Binding of The Nonnucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor Efavirenz to HIV-1 Reverse Transcriptase Monomers and Dimers*. Case Western Reserve University.
- Brik, A., & Wong, C.-H. (2003). HIV-1 Protease: Mechanism and Drug Discovery. *Organic & Biomolecular Chemistry* , 5-14.
- Chen, S., Wan, M., & Loh, B. (1996). Active constituents against HIV-1 protease from *Garcinia mangostana*. *Planta Medicina* , 381-2.
- Cole, J. C., Nissink, J. W., & Taylor, R. (2005). Protein-Ligand Docking and Virtual Screening with GOLD. In J. C. Alvarez, & B. Shoichet (Ed.), *Virtual Screening in Drug Discovery* (pp. 379-415). Boca Raton: Taylor & Francis Group.
- Cotelle, P. (2006). Patented HIV-1 Integrase Inhibitors (1998-2005). *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery* , 1-15.
- Cutignano, A., Bifulco, G., Bruno, I., Casapullo, A., Gomez-Paloma, L., & Riccio, R. (2000). Dragmacidin F: A New Antiviral Bromoindole Alkaloid from the Mediterranean Sponge *Halicortex sp.* *Tetrahedron* , 3743-3748.
- Dallakyan, S. (2009, September). *MGLTools*. Diambil 12 Januari, 2011, dari PyRx - Virtual Screening Tool: <http://mgltools.scripps.edu/documentation/links/pyrx-virtual-screening-tool>

- Delano, W. L. (2004). *PyMOL User Guide*. Diambil 12 Januari, 2011, dari <http://pymol.sourceforge.net/newman/userman.pdf>
- Devita, V. J., Broder, S., Fauci, A., Kovacs, J., & Chabner, B. (1987). Developmental Therapeutics and the Acquired Immunodeficiency Syndrome. *Annals of Internal Medicine* , 106 (4), 568-81.
- Ditjen Penanggulangan Penyakit dan Kesehatan Lingkungan. (2011). *Perkembangan HIV/AIDS sampai dengan Triwulan II tahun 2011*. Diambil 12 Agustus, 2011, dari [http://www.pppl.depkes.go.id/\\_asset/\\_download/SITUASI\\_AIDS\\_TERKINI.pdf](http://www.pppl.depkes.go.id/_asset/_download/SITUASI_AIDS_TERKINI.pdf)
- Du, J., He, Z.-D., Jiang, R.-W., Ye, W.-C., Xu, H.-X., & But, P. P.-H. (2003). Antiviral flavonoids from the root bark of *Morus alba* L. *Phytochemistry* , 1235-1238.
- Ehrman, T. M., Barlow, D. J., & Hylands, P. J. (2007). Virtual Screening of Chinese Herbs with Random Forest. *Journal of Chemical Information and Modelling* , 264-278.
- Engelman, A., Hickman, A. B., & Craigie, R. (1994). The Core and Carboxyl-Terminal Domains of the Integrase Protein of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Each Contribute to Nonspecific DNA Binding. *Journal of Virology* , 68, 5911-5917.
- Evering, T. H., & Markowitz, M. (2008). HIV-1 Integrase Inhibitors. *The Physicians' Research Network Notebook* , 1-9.
- Fang, E. F., Lin, P., Wong, J. H., Tsao, S. W., & Ng, T. B. (2010). A Lectin with Anti-HIV-1 Reverse Transcriptase, Antitumor, and Nitric Oxide Inducing Activities from Seeds of *Phaseolus vulgaris* cv. Extralong Autumn Purple Bean. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* , 2221-2229.
- Fawcett, T. (2004). ROC Graphs: Notes and Practical Considerations for Researchers. 1-35.
- Fong, P., & Lei, H. (2010). A Systematic Review on Computer-Aided Drug Design: Docking and Scoring. *Journal of Macao Polytechnic Institute* , 47-51.
- Food and Drug Administration. (2010). *Antiretroviral Drugs Used in the Treatment of HIV Infection*. Diambil Mei 2011, dari FDA: <http://www.fda.gov/ForConsumers/byAudience/ForPatientAdvocates/HIVandAIDSAactivities/ucm118915.htm>
- Fujioka, T., & Kashiwada, Y. (1994). Anti-AIDS Agent, 11. Betulinic Acid and Platonic Acid as Anti-HIV Principles from *Syzygium Claviflorum* and the Anti-HIV Activity of Structurally Related Triterpenoids. *Journal of Natural Products* , 243-247.
- Gane, P. J., & Dean, P. M. (2000). Recent advances in structure-based rational drug design. *Current opinion in Structural Biology* , 401-404.

- Ghosh, A. K., Dawson, Z. L., & Mitsuya, H. (2007). Darunavir, a Conceptually New HIV-1 Protease Inhibitor for the Treatment of Drug-resistant HIV. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 15 (24), 7576-7580.
- Giraldo, J., Serra, J., Roche, D., & Rovira, X. (2007). Assessing Receptor Affinity for Inverse Agonist: Schild and Cheng-Prusoff Method. *Current Drug Targets*, 197-202.
- Goren, A., Goldman, W. F., Trainin, Z., & Goldman, S. R. (2002). *Patent No. US 6,340,483*. United States of America.
- Hajuda, D. J.; Felock, P., Witmer, M., Wolfe, A., Stillmock, K., Grobler, J. A., Espeseth, A., Gabryelski, L., Schleif, W., Blau, C., Miller, M. D. (2000). Inhibitor of Strands Transfer that Prevent Integration and Inhibit HIV-1 Replication in Cells. *Science*, 646-650.
- Heapy, S. (1999, Pebruari 16). *Viral Classification and Replication: an Overview*. Diambil Desember 12, 2010, dari <http://www.tulane.edu/~dmsander/WWW/224/Classification224.html>
- Hong, H., Neamati, N., Wang, S., Nicklaus, M. C., Mazumder, A., Zhao, H., et al. (1997). Discovery of HIV-1 Integrase Inhibitors by Pharmacophore Searching. *Journal of Medicinal Chemistry*, 40 (6), 930-936.
- Huang, L., & Chen, C. H. (2005). Molecular Targets of Anti HIV-1 Triterpenes, An Update. *Medicinal Chemistry Reviews*, 423-427.
- Huerta, M., Haseltine, F., Liu, Y., Gregory, D., & Seto, B. (2000, July 17). *NIH Working Definition of Bioinformatics and Computational Biology*. Diambil 17 Desember, 2010, from <http://www.bisti.nih.gov/docs/compubiodef.pdf>
- Joint United Nations Programme on HIV/AIDS. (2010). *UNAIDS Repot on The Globals AIDS Epidemic*. Geneva.
- Jones, G., Willett, P., Glen, R. C., Leach, A. R., & Taylor, R. (1997). Development and Validation of a Genetic Algorithm for Flexible Docking. *Journal of Molecular Biology*, 267 (3), 727-748.
- Kaapro, A., & Ojanen, J. (2002, November 27). *Protein Docking*. Diambil 15 Januari, 2011, dari CoE Homepage: <http://www.lce.hut.fi/teaching/S-114.500/k2002/Protdock.pdf>
- Ke-Zhu, W., Ai-Xiu, L., & Ma, S.-K. (2011). Virtual Screening for Natural Product Inhibitors of HIV-1 Integrase. *Interdisciplinary Sciences*, 17-21.
- Kim, H. J., Woo, E.-R., Shin, C.-G., & Park, H. (1998). A New Flavonol Glycoside Gallate Ester from *Acer okamotoanum* and Its Inhibitory Activity against Human Immunodeficiency Virus-1 (HIV-1) Integrase. *Journal of Natural Product*, 145-148.



- Kim, H. J., Woo, E.-R., Shin, C.-G., Hwang, D. J., Park, H., & Lee, Y. S. (2001). HIV-1 integrase inhibitory phenylpropanoid glycosides from *Clerodendron trichotomum*. *Archives of Pharmacal Research* , 286-291.
- Klebe, G. (2005). Virtual Screening: Scope and Limitations. In J. Alvarez, & B. Shoichet (Ed.), *Virtual Screening in Drug Discovery* (p. 5). Boca Raton: Taylor & Francis Group.
- Klein, R. (2007, Oktober 12). *FDA Approval of Isentress (raltegravir)*. Diambil 14 Desember, 2010, dari Food and Drug Administration: <http://www.fda.gov/ForConsumers/ByAudience/ForPatientAdvocates/HIVandAIDSActivities/ucm124040.htm>
- Kohl, N. E., Emini, E. A., Schleif, W. A., Davis, L. J., Heimbach, J. C., Dixon, R. A., et al. (1988). Active Human Immunodeficiency Virus Protease is Required for Viral Infectivity. *Proceedings of the National Academy of Sciences* , 4686-90.
- Kouranov, A., Xie, L., Cruz, J. d., Chen, L., Westbrook, J., et al. (2006). The RSCB PDB Information Portal for Structural Genomic. *Nucleic Acid Research* , 34, D302-305.
- Lee-Huang, S., Zhang, L., Huang, P. L., Chang, Y.-T., & Huang, P. L. (2003). Anti-HIV activity of olive leaf extract (OLE) and modulation of host cell gene expression by HIV-1 infection and OLE treatment. *Biochemical and Biophysical Research Communications* , 1029-1037.
- Levy, J. A., & Coffin, J. M. (1992). Structure and Classification of Retrovirus. *The Retroviridae* , 26-34.
- Li, Z., Wan, H., & Ouyang, P. (2004). Personal Experience with Four Kinds of Chemical Structure Drawing Software: Review on ChemDraw, ChemWindow, ISIS/Draw, and ChemSketch. *Journal of Chemistry Informatics Sciences* , 1886-1890.
- Liao, C., Karki, R., Marchand, C., Pommier, Y., & Nicklaus, M. (2007). Virtual Screening Application of a Model of Full Length HIV-1 Integrase Complexed with Viral DNA. *Bioorganic Medicinal Chemistry Letter* , 5361-5.
- Lindstrom, W., Morris, G. M., Weber, C., & Huey, R. (2008). *Using AutoDock 4 for Virtual Screening*. La Jolla.
- Locher C. P., Witvrouw, M., de Bethune, MP., Burch, M. T., Mower, H. F., Davis H., Lasure A., Pauwels, R., De Clercq, E., Vlietinck, A. J. (1996). Antiviral activity of Hawaiian medicinal plants against human immunodeficiency Virus Type-1 (HIV-1). *Phytomedicine* , 256-264.
- Luo, S., Nemeč, J., Ning, B., & Li, Q. (1994). Anti-HIV flavonoids from *Morus alba* L. *International Conference AIDS*, (p. 203). Kunming.

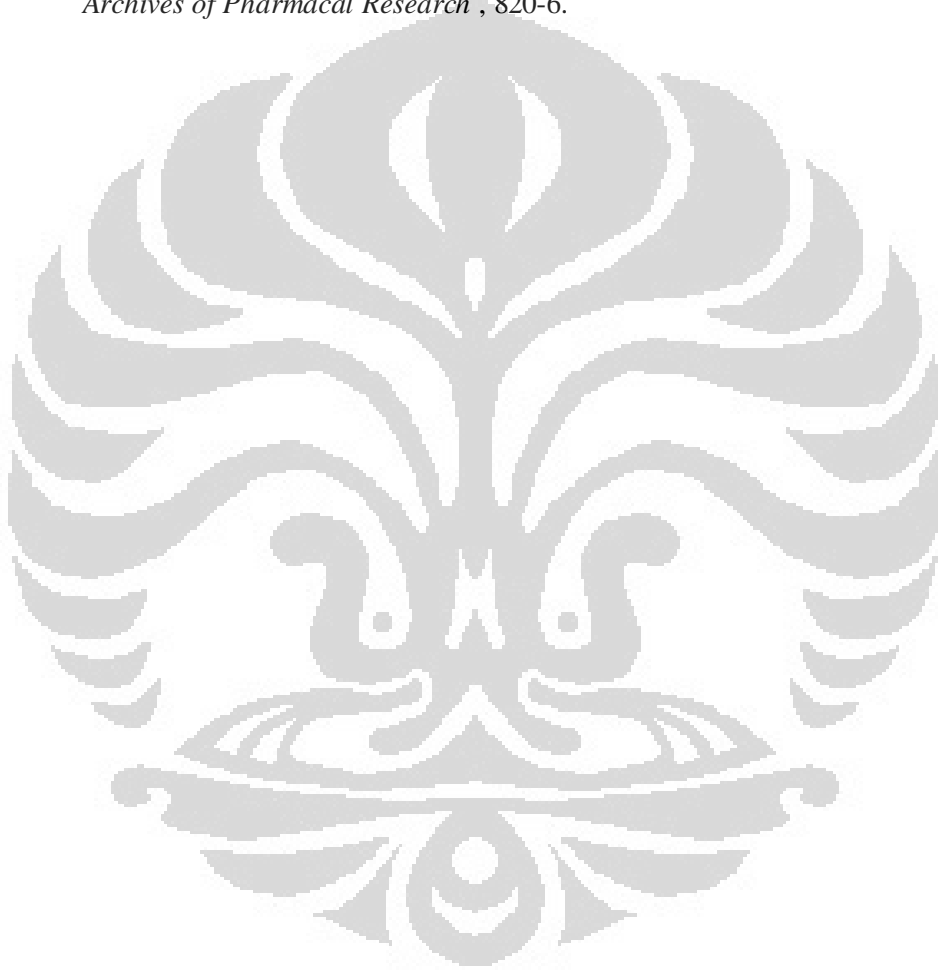
- Lyne, P. D. (2002). Structure-based Virtual Screening: an Overview. *Drug Design & Targeting* , 7, 1047-1055.
- Lyons, T., Fisher, L., Varma, S., & Chen, D. (2005). *Creating a Smart Virtual Screening Protocol, Part 1: Preparing the Target Protein*. Diambil 24 Agustus, 2010, dari [http:// www.accelrys.com/cases](http://www.accelrys.com/cases)
- Mahalingam, B., Louis, John M., Reed, C. C., Adomat, J. M., Krouse, J., Wang, Y-F., Harrison, R. W., Weber, I. T. (1999). Structural and Kinetic Analysis of Drug Resistant Mutants of HIV-1 Protease. *European Journal of Biochemistry* , 263 (1), 238-245.
- McKee, T., Bokesch, H., McCormick, J., Rashid, M., Spielvogel, D., Gustafson, K., et al. (1997). Isolation and characterization of new anti-HIV and cytotoxic leads from plants, marine, and microbial organisms. *Journal of Natural Products* , 431-8.
- Mehla, R., Mehla, S. B., & Chauhan, A. (2011). A Flavonoid, Luteolin, Cripples HIV-1 by Abrogation of Tat Function. *PLoS One* .
- Molteni, V., Greenwald, J., Rhodes, D., Hwang, Y., Kwiatkowski, W., Bushman, F. D., et al. (2001). Identification of a Small-molecule Binding Site at the Dimer Interface of the HIV Integrase Catalytic Domain. *Acta Crystallography* , 536-544.
- Morris, G. M., Goodsell, D. S., Halliday, R. S., Huey, R., Hart, W. E., Belew, R. K., et al. (1998). Automated Docking Using Lamarckian Genetic Algorithm and an Empirical Binding Free Energy Function. *Journal of Computational Chemistry* , 1639-1662).
- Morris, G. M., Goodsell, D. S., Huey, R., Lindstrom, W., Hart, W. E., Kurowski, S., et al. (2009, Oktober 08). *AutoDock*. Diambil 10 Desember, 2010, dari <http://autodock.scripps.edu/>
- Muegge, I., & Enyedy, I. (2003). Virtual Screening. In A. Burger, *Burger's Medicinal Chemistry* (pp. 243-280). Virginia: John Willey and Sons Inc.
- Ni, H., Sotrifer, C. A., & McCamom, J. A. (2001). Ordered Water and Ligand Mobility in the HIV-1 Integrase-5CITEP Complex: A Molecular Dynamics Study. *Journal of Medicinal Chemistry* , 3043-3047.
- O'Boyle, N. M., Banck, M., James, C. A., Morley, C., Vandermeersch, T., & Hutchinson, G. R. (2011). OpenBabel: An Open Chemical Toolbox. *Journal of Cheminformatics* , 33-47.
- Okimoto, N., Futatsugi, N., Fuji, H., Suenaga, Atsushi, Morimoto, G., et al. (2009). High-Performance Drug Discovery: Computational Screening by Combining Docking and Molecular Dynamics Simulation. *PLoS Computational Biology* , V (10), 1-13.
- Oprea, T. I. (2000). *Journal Computational Aided Molecular Design* .

- Otake, T., Mori, H., Morimoto, M., Ueba, N., Sutardjo, S., Kusumoto, I. T., et al. (1995). Screening of Indonesian Plant Extracts for Anti-Human Immunodeficiency Virus-Type 1 (HIV-1) Activity. *Phytotherapy Research* , 6-10.
- Padmalatha, K., Jayaram, K., Raju, N., Prasad, M., & Arora, R. (2009). Ethnological and Biotechnological Significance of Vitex. *Bioremediation, Biodiversity, and Bioavailability* , 6-14.
- Park, J. C., Ito, H., & Yoshida, T. (2003). <sup>1</sup>H-NMR Assignment of HIV-1 Protease Inhibitor, Procyanidin B3 Isolated from Rosa rugosa. *Natural Product Sciences* , 49-51.
- Patel, P. H.; Jacobo-Molina, A., Ding, J., Tantillo, C., Clark, A. D., Raag, R., Nanni, R. G., Hughes, S. H.; Arnold, E. (1995). Insights into DNA polymerization mechanisms from structure and function analysis of HIV-1 reverse transcriptase. *Biochemistry* , 34 (16), 5351-5363.
- Perola, E., Walters, W. P., & Charifson, P. S. (2005). An Analysis of Critical Factors Affecting Docking and Scoring. In J. C. Alvarez, & B. Shoichet (Ed.), *Virtual Screening in Drug Discovery* (pp. 47-81). Boca Raton: Taylor & Francis Group.
- Pollock, S., & Safer, H. M. (2001). Bioinformatics in The Drug Discovery Process. *Annual Reports in Medicinal Chemistry* , 1-10.
- Pommier, Y., Johnson, A. A., & Marchand, C. (2005). Integrase Inhibitors to Treat HIV/AIDS. *Drug Discovery* , 236-247.
- Prinsloo, G., Meyer, J., Hussein, A., Munoz, E., & Sanchez, R. (2010). A cardiac glucoside with in vitro anti-HIV activity isolated from *Elaeodendron croceum*. *Natural Product Research* , 1743-6.
- Ratner, L. (1993). HIV Life Cycle and Genetic Approaches. *Perspectives in Drug Discovery and Design* , 3-22.
- Reddy, A. S., Pati, S. P., Kumar, P. P., Pradeep, H. N., & Sastry, G. N. (2007). Virtual Screening in Drug Discovery - A Computational Perspective. *Current Protein and Peptide Science* (8), 329-351.
- Ren, J., Milton, J., Weaver, K. L., Short, S. A., Stuart, D. I., & Stammers, D. K. (2000). Structural Basis for The Resilience of Efavirenz (DMP-266) to Drug Resistance Mutations in HIV-1 Reverse Transcriptase. *Structure* , 8, 1089–1094.
- Santo, R. D., Costi, R., Artico, M., Tramontano, E., Colla, P. L., & Pani, A. (2003). HIV-1 Integrase Inhibitor that Block HIV-1 Replication in Infected Cells: Planning Synthetic Derivatives from Natural Product. *Pure Applied Chemistry* , 195-206.
- Semenova, E., Marchand, C., & Pommier, Y. (2006). *HIV-1 Integrase Inhibitors: Update and Perspectives*. Bethesda: National Cancer Institute.

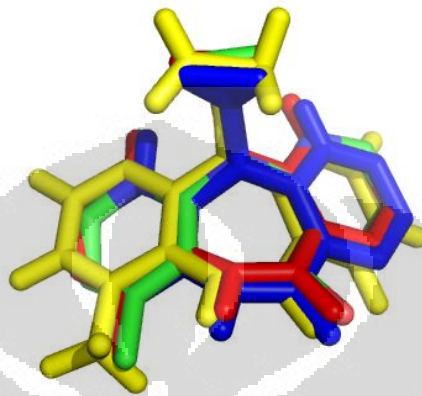
- Sentra Informasi Iptek. (2005). *Tanaman Obat Indonesia*. Diambil 19 Desember, 2010, dari [http://www.iptek.net.id/ind/pd\\_tanobat/view.php?mnu=2&id=106](http://www.iptek.net.id/ind/pd_tanobat/view.php?mnu=2&id=106)
- Shahat, A. A., Ismail, S., Hammouda, F., Azzam, S., Lemièrre, G., Bruyne, T. D., Swaef, S. D., Pieters, L., Vlietinck, A. (1998). Anti-HIV activity of flavonoids and proanthocyanidins from *Crataegus sinaica*. *Phytomedicine* , 133-136.
- Sharp, K. A. (2005). Potential Function for Virtual Screening and Ligand Binding Calculation: Some Theoretical Considerations. In J. C. Alvarez, & B. Shoichet (Eds.), *Virtual Screening in Drug Discovery* (pp. 227-246). Boca Raton: Taylor & Francis Group.
- Shiro, S., Masanori, B., Mamoru, N., & Yosuke, K. (1991). *Patent No. JP 03-209320*. Japan.
- Silprasit, K., Seetaha, S., Pongsanakul, P., Hannongbua, S., & Choowongkamon, K. (2011). Anti-HIV-1 Reverse Transcriptase Activities of Hexane Extracts from some Asian Medicinal Plants. *Journal of Medicinal Plants Research* , 4194-4201.
- Stouten, P. F., & Kroemer, R. T. (2007). Docking and Scoring. In J. B. Taylor, & D. J. Triggle, *Comprehensive Medicinal Chemistry Volume 4: Computer Aided Drug Design* (pp. 225-251). Elsevier.
- Su, H.-P., Yan, Y., Prasad, G. S., Smith, R. F., Daniels, C. L., Abeywickrema, P. D., Reid, J. C., Loughran, H. M., Kornienko, M., Sharma, S., Grobler, J. A., Xu, B., Sardana, V., Allison, T. J., Williams, P. D. (2010). Structural Basis for the Inhibition of RNase H Activity of HIV-1 Reverse Transcriptase by RNase H Active Site-Directed Inhibitors. *Journal of Virology* , 7625-7633.
- Tewtrakul, S., Subhadhirasakul, S., & Rattanasuwan, P. (2003). HIV-1 protease inhibitory effects of some selected plants in Caesalpiniaceae and Papilionaceae families. *Songklanakarinn Journal of Sciences and Technology* , 510-514.
- The Cambridge Crystallographic Data Centre. (2009). *GOLD - Protein-Ligand Docking*. Diambil 10 Desember, 2010, from GOLD: [http://www.ccdc.cam.ac.uk/products/life\\_sciences/GOLD](http://www.ccdc.cam.ac.uk/products/life_sciences/GOLD)
- The Cambridge Crystallographic Data Centre. (2011). *Scientific FAQs*. Diambil pada 21 Juli, 2011, dari Cambridge Crystallographic Data Centre: [http://www.ccdc.cam.ac.uk/products/life\\_sciences/gold/faqs/scientific\\_faq.php](http://www.ccdc.cam.ac.uk/products/life_sciences/gold/faqs/scientific_faq.php)
- Tie, Y., Kovalevsky, A. Y., Boross, P., Wang, Y.-F., Ghosh, A. K., Tozser, J., Harrison, R. W., Weber, I. T. (2007). Atomic resolution crystal structures of HIV-1 protease and mutants V82A and I84V with Saquinavir. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics* , 232-242.
- Trott, O., & Olson, A. J. (2010). AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. *Journal of Computational Chemistry* , 455-461.

- Tsai, C. H., Lee, P. Y., Stollar, V., & Li, M. L. (2006). Antiviral Therapy Targeting Viral Polymerase. *Current Pharmaceutical Design* , 1339–1355.
- Tsai, H.-H., Hwang, S.-M., & Kung, P.-C. (1997). *Patent No. 5,837,257*. United States of America.
- Utami, C. A. (2009). Screening Aktivitas Antiinflamasi Senyawa Aktif yang Terkandung pada Beberapa Tanaman Obat Indonesia Melalui Penghambatan Enzim 12-Lipoksigenase secara In Silico. Depok: FMIPA UI.
- Veljkovic, V., Mouscadet, J.-F., Veljkovic, N., Glisic, S., & Debyser, Z. (2007). Simple Criterion for Selection of Flavonoid Compounds with Anti-HIV Activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* , 1226-1232.
- Vink, C., & Plasterk, R. H. (1993). The Human Immunodeficiency Virus Integrase Protein. *Trends Genetic* , 433-438.
- Vlietinck, A., Bruyne, T. D., Apers, S., & Pieters, L. A. (1998). Plant-Derived Leading Compounds for Chemotherapy of Human Immunodeficiency Virus (HIV) Infection. *Planta Medica* , 97-109.
- Wang, J., Smerdon, S. J., Jager, J., Kohlstaedt, L. A., Rice, P. A., Friedman, J. M., Steitz T. A. (1994). Structural Basis of Asymmetry in the Human Immunodeficiency Virus Type 1 Reverse Transcriptase Heterodimer. *Proceedings of the National Academy of Sciences. USA* , 91, 7242-6.
- Waszkowycz, B., Perkins, T. D., Sykes, R. A., & Li, J. (2001). Large-scale Virtual Screening for Discovering Leads in the Postgenomic Era. *IBM Systems Journal* , 40 (2).
- Wielens, J., Headey, S. J., Deadman, J. J., Rhodes, D. I., Parker, M. W., Chalmers, D. K., Scanlon, M. J. (2011). Fragment-Based Design of Ligands Targeting a Novel Site on the Integrase Enzyme of Human Immunodeficiency Virus 1. *ChemMedChem* , 258-261.
- Wlodawer, A. (2002). Structure-Based Design of AIDS Drug and The Development of Resistance. *Vox Sanguinis* , 23-26.
- Wlodawer, A., & Vondrasek, J. (1998). Inhibitor of HIV-1 Protease: A Major Success of Structure-Assisted Drug Design. *Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure* . , 249-284.
- Wolf, L. K. (2009). New Software and Websites for the Chemical Enterprise. *Chemical and Engineering News Archives* , 48.
- Woradulayapinij, W., Soonthornchareonnon, N., & Wiwat, C. (2005). In vitro HIV type 1 reverse transcriptase inhibitory activities of Thai medicinal plants and *Canna indica* L. rhizomes. *Journal of Ethnopharmacology* , 84-89.
- Xu, J., & Hagler, A. (2002). Cheminformatics and Drug Discovery. *Molecules* , 566-600.

- Yamaguchi, K., Honda, M., Ikigai, H., Hara, Y., & Shimamura, T. (2002). Inhibitory Effects of (-)-Epigallocatechin Gallate on the Life Cycle of Human Immunodeficiency Virus type 1 (HIV-1). *Antiviral Research* , 19-34.
- Yanuar, A., Mun'im, A., Lagho, A. B., Syahdi, R. R., Rahmat, M., & Suhartanto, H. (2011). Medicinal Plants Database and Three Dimensional Structure of the Chemical Compounds from Medicinal Plants in Indonesia. *International Journal of Computer Science Issues* , 180-183.
- Yu, Y., Miyashiro, H., Nakamura, N., Hattori, M., & JC, P. (2007). Effects of triterpenoids and flavonoids isolated from *Alnus firma* on HIV-1 viral enzymes. *Archives of Pharmacal Research* , 820-6.



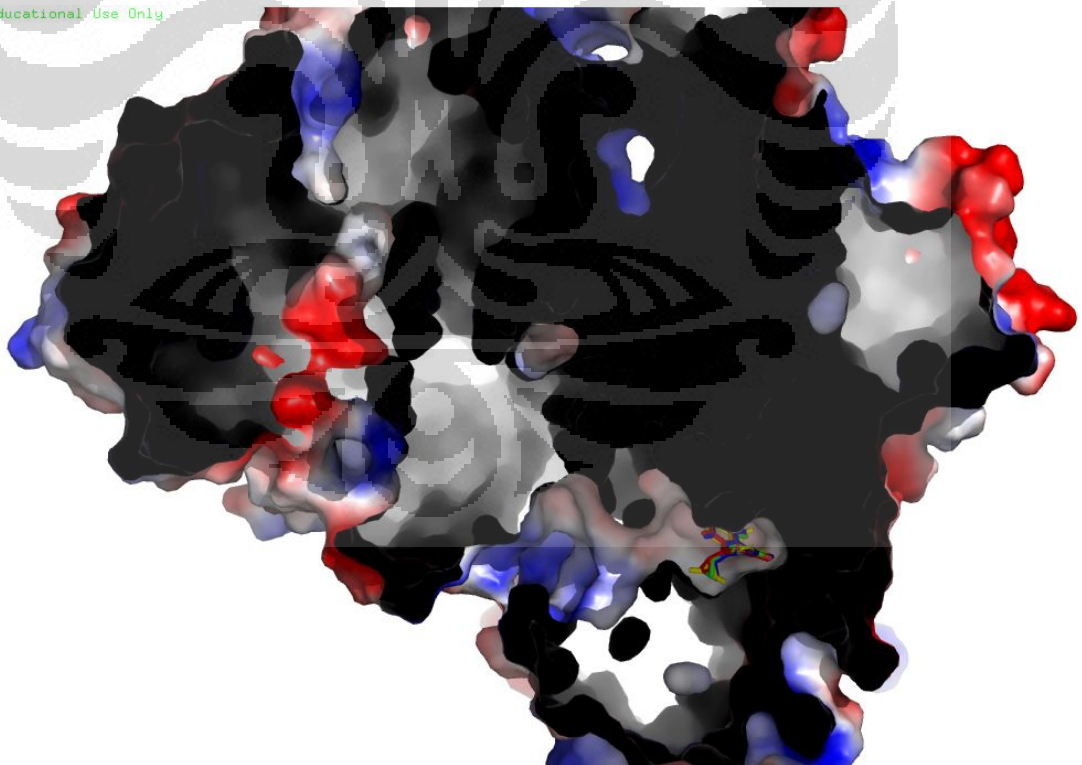
**Lampiran 1.** Gambar visualisasi hasil penambatan nevirapine pada transkriptase balik. AutoDock Vina (merah), GOLD (kuning), AutoDock (biru), nevirapine kristal 3LP1 (hijau).



[Sumber: Olahan penulis dengan PyMOL]

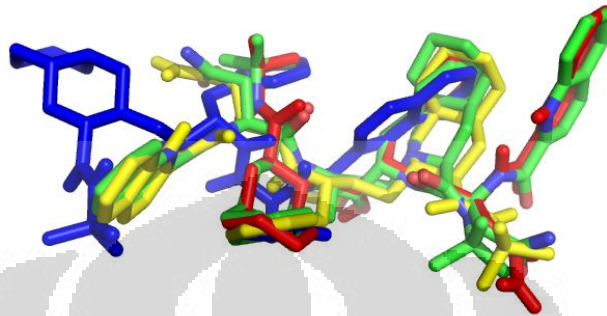
**Lampiran 2.** Transkriptase Balik dan Nevirapine.

For Educational Use Only

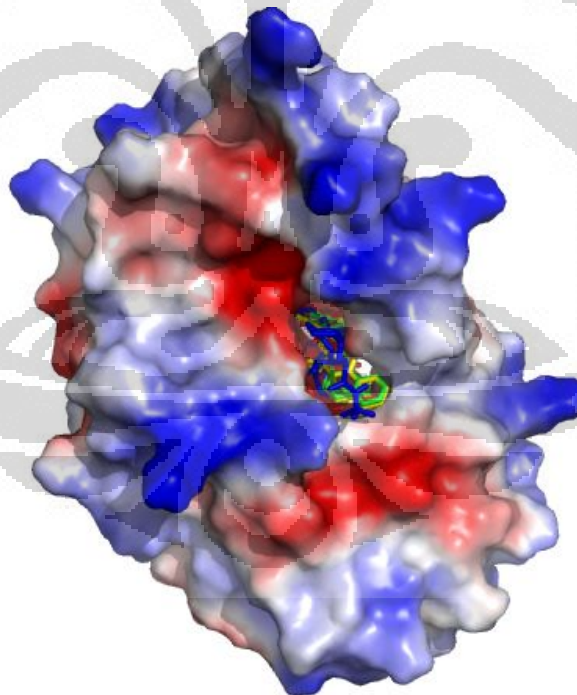


[Sumber: Olahan penulis dengan PyMOL]

**Lampiran 3.** Gambar visualisasi hasil penambatan saquinavir pada protease. AutoDock Vina (merah), GOLD (kuning), AutoDock (biru), nevirapine kristal 3OXC (hijau).



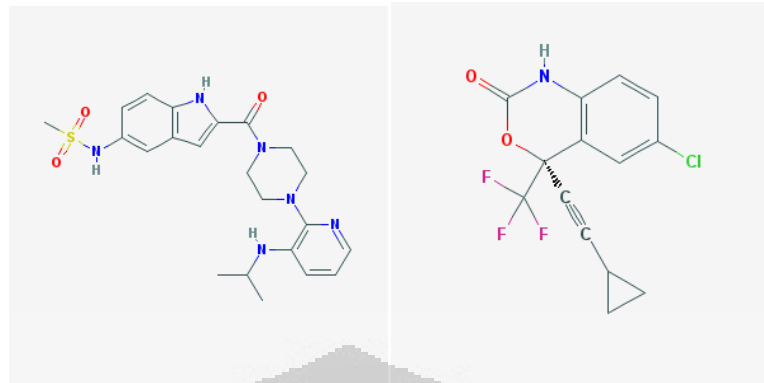
**Lampiran 4.** Protease dan Saquinavir.



[Sumber: Olahan penulis dengan PyMOL]

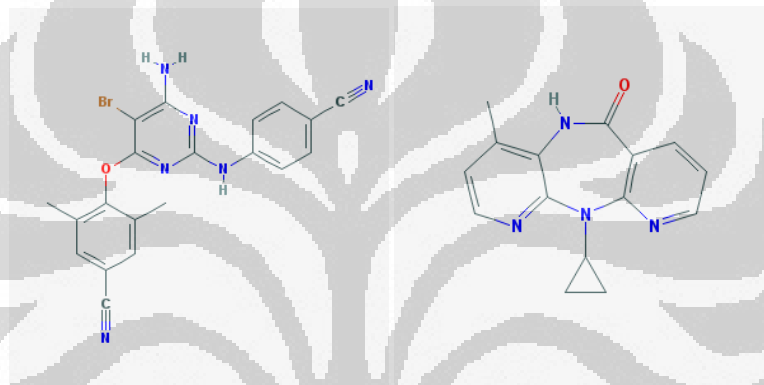


**Lampiran 5.** Gambar struktur 2 dimensi senyawa kontrol transkriptase balik



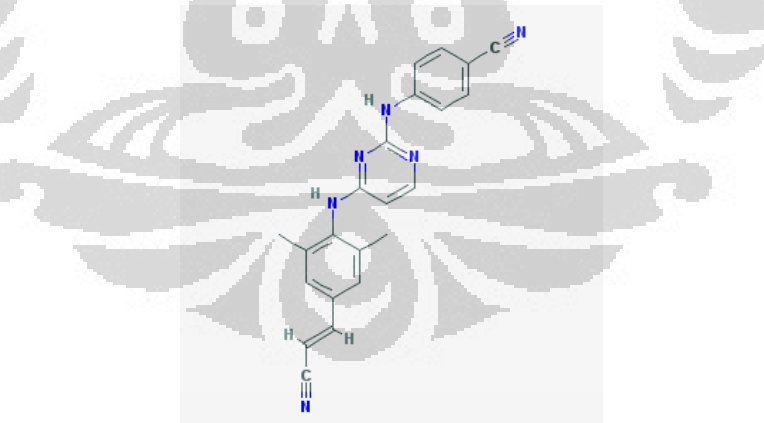
Delavirdine

Efavirenz



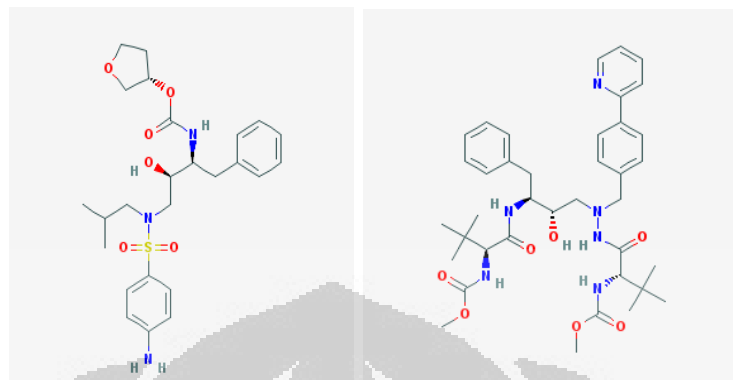
Etravirine

Nevirapine



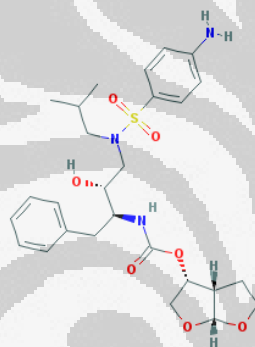
Rilpivirine

[Sumber: PubChem]

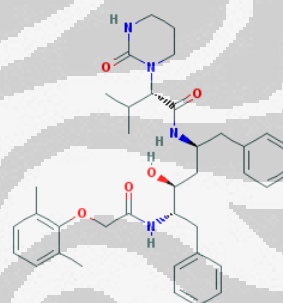
**Lampiran 6.** Gambar struktur 2 dimensi senyawa kontrol protease

Amprenavir

Atazanavir



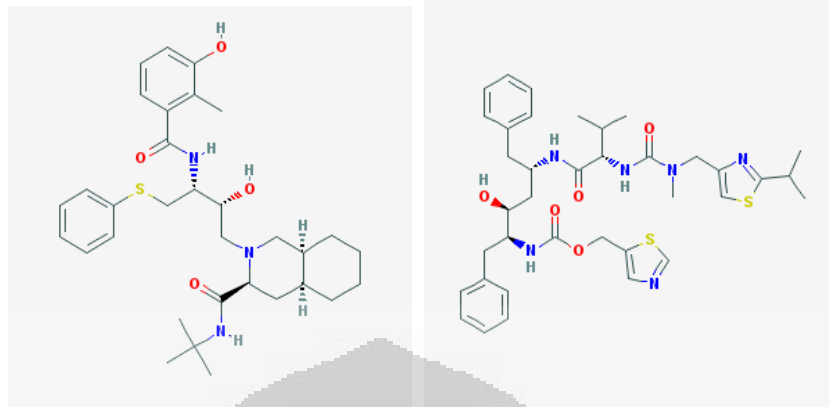
Darunavir



Lopinavir

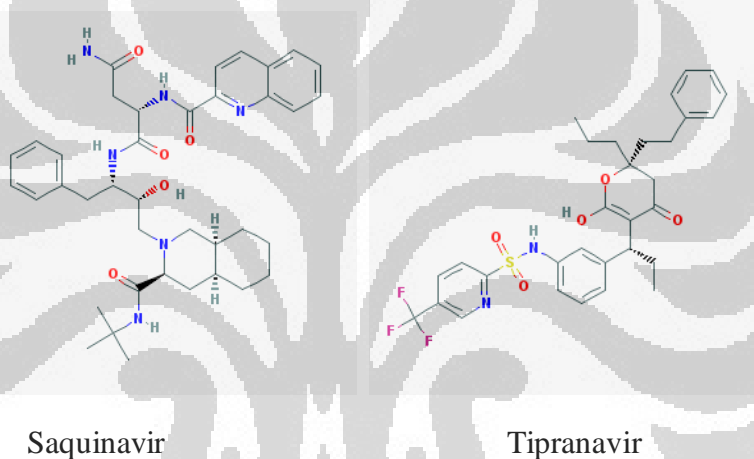
[Sumber: PubChem]

**Lampiran 6.** Gambar struktur 2 dimensi senyawa kontrol protease (lanjutan)



Nelfinavir

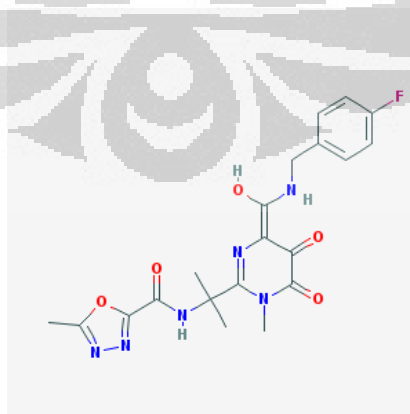
Ritonavir



Saquinavir

Tipranavir

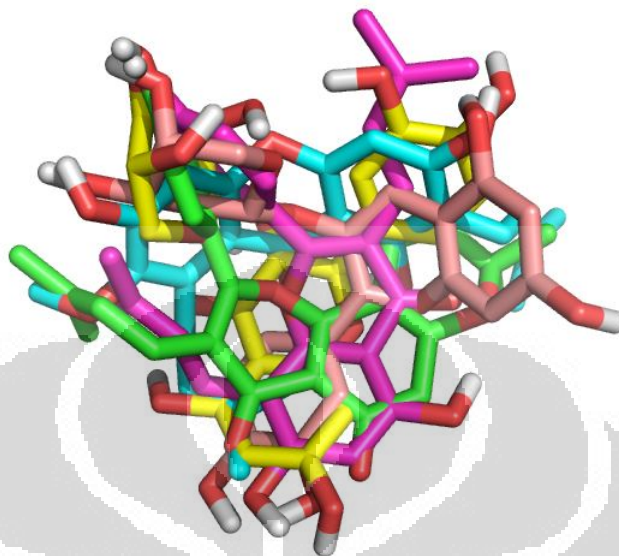
**Lampiran 7.** Gambar struktur 2 dimensi senyawa kontrol integrase.



Raltegravir

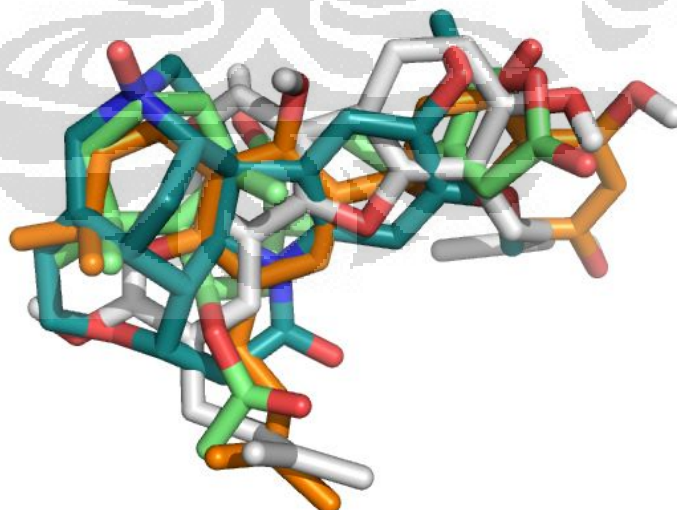
[Sumber: PubChem]

**Lampiran 8.** Gambar visualisasi penapisan virtual transkriptase balik dengan AutoDock. *Morusin* (hijau); *mangostin* (biru); *mulberrin* (magenta); *guaijaverin* (kuning); *cyanidin 3-arabinoside* (pink).



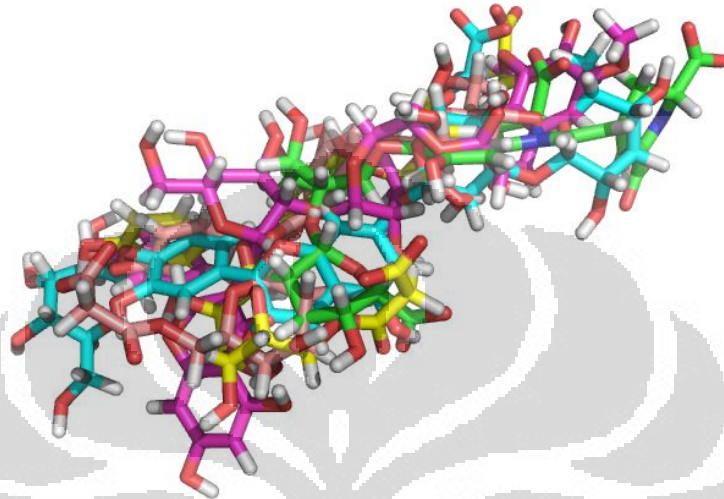
[Sumber: Olahan penulis dengan PyMOL]

**Lampiran 8.** Gambar visualisasi penapisan virtual transkriptase balik dengan AutoDock (lanjutan). *Erycristagallin* (putih); *plucheoside A* (hijau lumut); *sanggenol N* (jingga); *vitexilactone* (hijau).



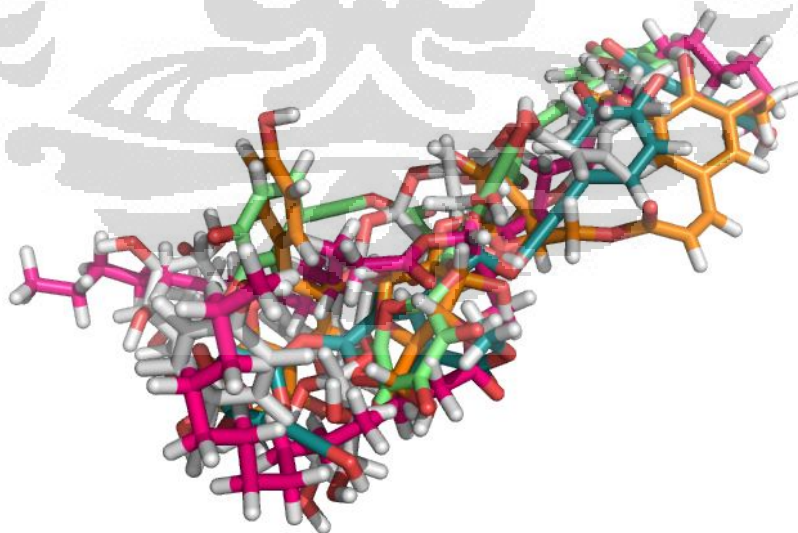
[Sumber: Olahan penulis dengan PyMOL]

**Lampiran 9.** Gambar visualisasi penapisan virtual protease dengan GOLD. *Amaranthin* (hijau); *cyanidin 7-(3-glucosyl-6-malonyl-glucoside)-4'-glucoside* (biru); *quercetin 3-(6''-sinapylglucosyl)-(1-2)galactoside* (magenta); *cyanidin 3,5-di-(6-malonylglucoside)* (kuning); *Cyanidin 3-(6''-malonylglucoside)-5-glucoside* (pink).



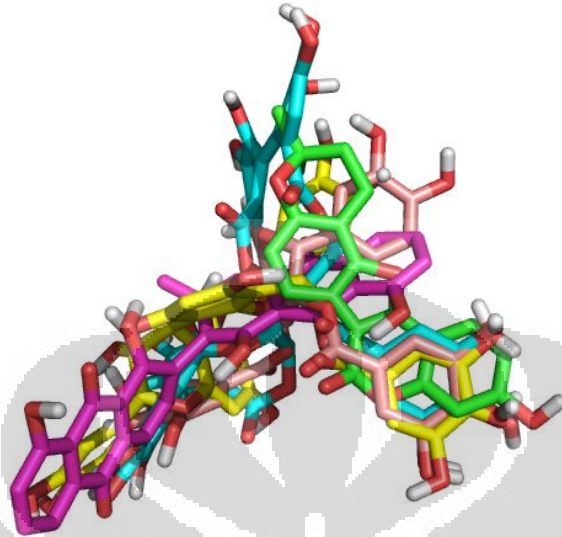
[Sumber: Olahan penulis dengan PyMOL]

**Lampiran 9.** Gambar visualisasi penapisan virtual protease dengan GOLD (lanjutan). *Ternatin D* (putih); *kaempferol 3-(6''-acetylglucosyl)-(1-3)-galactoside* (jingga); *multifloroside* (hijau); *multiroside* (biru); *myristin* (magenta).



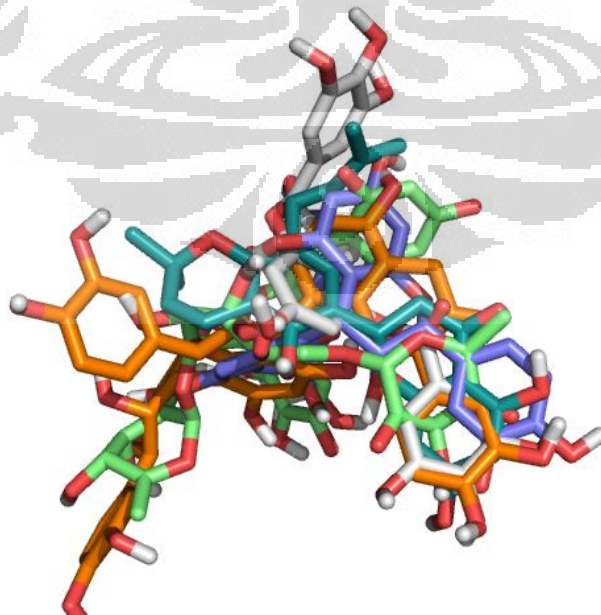
[Sumber: Olahan penulis dengan PyMOL]

**Lampiran 10.** Gambar visualisasi penapisan virtual integrase dengan AutoDock Vina. *Sojagol* (hijau); *shermillamine E* (biru langit), *cassiamin C* (magenta); *Epigallocatechin-(4beta->8)-epicatechin-3-O-gallate* (kuning); *Epicatechin 3,5-di-O-gallate* (pink).



[Sumber: Olahan penulis dengan PyMOL]

**Lampiran 10.** Gambar visualisasi penapisan virtual integrase dengan AutoDock Vina (lanjutan). *Epigallocatechin 3,5-di-O-gallate* (abu-abu); *Procyanidin B3* (ungu); *Arecatannin A1* (jingga); *Myricetin 3-(2G-rhamnosylrutinoside)* (hijau muda); Sanggenol N (hijau lumut).



[Sumber: Olahan penulis dengan PyMOL]

**Lampiran 11.** Tabel validasi penambatan pada RT menggunakan AutoDock

Nama	1	2	3	Mean $\Delta G$ (kkal/mol)	SD	KV (%)
Etravirin	-8,82	-8,79	-8,85	-8,82	0,030	0,340
Nevirapin	-7,85	-7,86	-7,84	-7,85	0,010	0,127
Rilpivirin	-7,37	-7,8	-7,67	-7,61	0,221	2,897
Efavirenz	-7,31	-7,32	-7,36	-7,33	0,026	0,361
Delavirdine	-6,97	-6,13	-7,07	-6,72	0,516	7,679
Raltegravir	-4,35	-2,23	-6,88	-4,49	2,328	51,887
Amprenavir	2,67	-2,78	-1,37	-0,49	2,829	573,403
Tipranavir	7,62	12,29	-3,8	5,37	8,278	154,146
Darunavir	14,91	0,79	3,95	6,55	7,410	113,135
Nelfinavir	28,83	18,41	0,22	15,82	14,480	91,528
Lopinavir	112,53	100,47	38,47	83,82	39,737	47,406
Saquinavir	173,04	222,36	85,59	160,33	69,265	43,202
Ritonavir	128,94	271,37	126,35	175,55	82,990	47,273
Atazanavir	290,52	365,95	226,68	294,38	69,715	23,682

**Lampiran 12.** Tabel validasi penambatan pada RT menggunakan AutoDock Vina

Nama	1	2	3	Mean $\Delta G$ (kkal/mol)	SD	KV (%)
Saquinavir	-11	-11,1	-11	-11,03	0,058	0,523
Nevirapine	-10,8	-10,7	-10,7	-10,73	0,058	0,538
Rilpivirine	-10,3	-10,3	-10,3	-10,30	0	0
Etravirine	-9,8	-9,9	-9,9	-9,87	0,058	0,585
Efavirenz	-9,3	-9,3	-9,3	-9,30	0	0
Raltegravir	-9,3	-9,1	-9,3	-9,23	0,115	1,251
Tipranavir	-9,2	-8,9	-9,5	-9,20	0,300	3,261
Darunavir	-9,2	-9,2	-9,2	-9,20	0	0
Nelfinavir	-9,2	-9,2	-9,2	-9,20	0	0
Amprenavir	-9,2	-8,8	-8,8	-8,93	0,231	2,585
Lopinavir	-8,9	-8,9	-9	-8,93	0,058	0,646
Ritonavir	-8,6	-9,2	-8,8	-8,87	0,306	3,446
Atazanavir	-9	-8,9	-7	-8,30	1,127	13,578
Delavirdine	-8,2	-8,2	-8,2	-8,20	0	0

**Lampiran 13.** Tabel validasi penambatan pada RT menggunakan GOLD

Nama	1	2	3	GoldScore	SD	KV (%)
Raltegravir	75,7693	76,4168	83,0057	78,397	4,004	5,107
Rilpivirine	76,8723	71,5948	75,9872	74,818	2,826	3,778
Darunavir	78,3777	65,8283	71,385	71,864	6,288	8,750
Etravirine	72,4526	69,9858	69,354	70,597	1,637	2,319
Delavirdine	63,5037	64,8816	61,8984	63,428	1,493	2,354
Amprenavir	60,9896	66,2434	61,6897	62,974	2,853	4,530
Nevirapine	62,5408	62,5405	62,2821	62,454	0,149	0,239
Tipranavir	57,2104	64,7324	60,3717	60,772	3,777	6,215
Ritonavir	58,8884	69,2649	25,8655	51,340	22,663	44,143
Efavirenz	49,3825	49,177	49,4896	49,350	0,159	0,322
Nelfinavir	42,0976	58,1417	45,4946	48,578	8,455	17,405
Lopinavir	31,5043	39,1778	43,13	37,937	5,911	15,582
Saquinavir	23,3589	48,5734	32,3135	34,749	12,782	36,785
Atazanavir	42,0269	26,9711	6,3438	25,114	17,914	71,331

**Lampiran 14.** Tabel penapisan virtual pada RT Menggunakan AutoDock

No	Nama	1	2	3	4	5	Mean $\Delta G$ (kcal/mol)
1	Mulberrin	-11,06	-	-	-	-11,49	-11,28
2	Plucheoside A	-10,95	-10,44	-11,2	-	-10,68	-10,82
3	Vitexilactone	-10,77	-10,69	-10,69	-10,77	-10,77	-10,74
4	Brucine N-Oxide	-10,61	-10,75	-10,75	-10,66	-10,72	-10,70
5	Cyanidin 3-arabinoside	-10,89	-10,65	-10,65	-10,45	-	-10,66
6	Mangostin	-10,36	-10,29	-10,64	-10,73	-	-10,51
7	Guajaverin	-10,64	-10,42	-10,42	-	-	-10,49
8	Erycristagallin	-10,3	-	-	-10,82	-10,18	-10,43
9	Morusin	-10,67	-10,16	-10,88	-10,25	-10,17	-10,43
10	Sanggenol N	-10,2	-	-10,42	-10,24	-10,56	-10,36



**Lampiran 15.** Tabel penapisan virtual pada RT Menggunakan AutoDock Vina

No	Nama Molekul	1	2	3	4	5	Mean $\Delta G$ (kkal/mol)
1	Cassiamin C	-12	-12,6	-12,6	-12,5	-12,6	-12,46
2	Beta-carotene	-11,7	-11,7	-11,7	-11,7	-11,7	-11,7
3	(3S,5R,8S)-5,8-Epoxy-5,8-dihydro-beta,beta-caroten-3-ol	-12	-	-12	-	-	-12
4	Mutatoxanthin (3S,3'R,5R)-5,8-Epoxy-5,8-dihydro-beta,beta-carotene-3,3'-diol	-12	-11,4	-	-11,4	-	-11,6
5	Spermatheridine	-11,6	-11,6	-11,6	-11,4	-11,6	-11,56
6	Cryptocapsin (3'S,5'R)-3'-Hydroxy-beta,kappa-caroten-6'-one	-11,6	-11,5	-	-	-	-11,55
7	Anonaine	-11,5	-11,5	-11,6	-11,5	-11,5	-11,52
8	Cryptochrome (5,8:5',8'-diepoxy-5,5',8,8'-tetrahydro-beta,beta-caroten-3-ol)	-11,5	-11,5	-11,5	-11,5	-11,5	-11,5
9	Antheraxanthin ((3R,5R,6S,3'R)-zeaxanthin 5,6-epoxide)	-11,5	-11,5	-11,4	-	-11,5	-11,475
10	Alpha-cryptoxanthine	-11,3	-11,5	-11,4	-11,4	-11,5	-11,42

**Lampiran 16.** Tabel penapisan virtual pada RT menggunakan GOLD

No	Nama	1	2	3	4	5	GoldScore
1	Mirabijalone C	87,8768	90,044	90,066	84,6533	87,9271	88,113
2	Luteolin 7-apiosyl(1-2)-glucoside	82,9469	82,766	-	91,2103	80,7956	84,430
3	Mangostin	82,3693	82,876	81,611	84,3134	83,5933	82,952
4	Myricetin 3-(6"-galloyl)galactoside)	-	83,912	-	84,7245	-	84,318
5	Heteroartonin A	84,0472	-	80,175	-	-	82,111
6	Heteroflavanone C	-	-	82,563	-	81,5459	82,054
7	Myricetin 3-glucoside	80,4579	81,957	79,288	82,135	81,4669	81,061
8	Torvanol A	84,4581	82,096	79,317	78,6789	80,5935	81,029
9	Proantocyanidin A1	-	80,379	82,2	78,7588	81,4302	80,692
10	Guaijaverin	79,2723	-	81,151	82,9778	80,9463	81,087

**Lampiran 17.** Tabel validasi penambatan pada PR menggunakan AutoDock

Nama	1	2	3	Mean $\Delta G$ (kcal/mol)	SD	KV (%)
Tipranavir	-7,61	-6,88	-6,11	-6,87	0,750	10,924
Delavirdine	-6,59	-6,01	-6,14	-6,25	0,304	4,872
Raltegravir	-6,48	-5,6	-6,43	-6,17	0,494	8,011
Nevirapine	-4,91	-4,88	-4,92	-4,90	0,021	0,425
Amprenavir	-6,14	-4,48	-4,04	-4,89	1,107	22,663
Atazanavir	-6,69	-3,07	-4,09	-4,62	1,867	40,431
Efavirenz	-4,58	-4,62	-4,6	-4,60	0,020	0,435
Darunavir	-4,05	-4,05	-5,05	-4,38	0,577	13,171
Nelfinavir	-3,79	-3,41	-1,95	-3,05	0,971	31,849
Etravirine	-1,99	-2,01	-2,26	-2,09	0,150	7,210
Rilpivirine	-1,29	-1,11	-1,09	-1,16	0,110	9,469
Lopinavir	-3,32	-1,73	2,67	-0,79	3,103	391,123
Saquinavir	0,26	-1,43	1,35	0,06	1,401	2334,583
Ritonavir	-0,29	3	9,92	4,21	5,211	123,787

**Lampiran 18.** Tabel validasi penambatan pada PR menggunakan AutoDock Vina

Nama	1	2	3	Mean $\Delta G$ (kcal/mol)	SD	KV (%)
Saquinavir	-11,5	-11,5	-11,5	-11,50	0	0
Nelfinavir	-10,2	-10,2	-10,2	-10,20	0	0
Lopinavir	-9,9	-9,9	-9,8	-9,87	0,058	0,585
Tipranavir	-9,8	-9,8	-9,9	-9,83	0,058	0,587
Ritonavir	-9,4	-9,4	-9,5	-9,43	0,058	0,612
Darunavir	-9,3	-9,3	-9,4	-9,33	0,058	0,619
Atazanavir	-9,1	-9,1	-8,9	-9,03	0,115	1,278
Amprenavir	-8,5	-8,8	-8,5	-8,60	0,173	2,014
Delavirdine	-8,6	-8,5	-8,4	-8,50	0,100	1,176
Rilpivirin	-8,4	-8,5	-8,3	-8,40	0,100	1,190
Raltegravir	-8,5	-8,4	-8,3	-8,40	0,100	1,190
Etravirine	-8	-7,9	-7,9	-7,93	0,058	0,728
Efavirenz	-7,2	-7,3	-7,3	-7,27	0,058	0,795
Nevirapine	-7,2	-7,2	-7,2	-7,20	0	0

**Lampiran 19.** Tabel validasi penambatan pada PR menggunakan GOLD

Nama	1	2	3	GoldScore	SD	KV (%)
Ritonavir	77,0633	83,2142	75,8444	78,707	3,950	5,019
Lopinavir	72,8899	81,903	74,6764	76,490	4,772	6,239
Tipranavir	71,57	76,8043	74,594	74,323	2,628	3,535
Darunavir	66,5118	72,5577	71,2165	70,095	3,175	4,530
Nelfinavir	61,8418	75,7349	68,2357	68,604	6,954	10,136
Amprenavir	67,7259	68,8173	65,3738	67,306	1,760	2,615
Atazanavir	69,0991	65,6758	66,7602	67,178	1,750	2,604
Saquinavir	61,3469	75,8746	62,9284	66,717	7,970	11,947
Delavirdine	59,284	59,6672	60,9475	59,966	0,871	1,453
Rilpivirin	57,5835	60,4071	58,6024	58,864	1,430	2,429
Raltegravir	55,4763	50,3207	48,8355	51,544	3,485	6,762
Etravirine	51,4504	46,3296	52,2644	50,015	3,217	6,433
Nevirapine	35,1936	38,6192	39,8552	37,889	2,415	6,374
Efavirenz	36,4097	36,3269	36,2988	36,345	0,058	0,159

**Lampiran 20.** Tabel penapisan virtual pada PR menggunakan AutoDock

No	Nama	1	2	3	4	5	Mean $\Delta G$ (kkal/mol)
1	8-Hydroxyapigenin 8-(2'',4''-disulfatoglucuronide)	-13,58	-19,82	-19,91	-20,17	-20,2	-18,74
2	Isoscutellarein 4'-methyl ether	-16,64	-17,04	-19,07	-17,22	-19,17	-17,83
3	Amaranthine	-15,68	-18,29	-19,99	-17,32	-17,32	-17,72
4	Torvanol A	-13,83	-14,38	-14,47	-14,81	-15,43	-14,58
5	Ursonic acid	-12,5	-12,48	-12,41	-12,45	-12,45	-12,46
6	5-Carboxypyranocyanidin 3-O-(6''-O-malonyl-beta-glucopyranoside)		-12,5	-12,23	-12,01	-12,82	-12,39
7	Oleoside	-11,37	-12,28	-12,28	-11,78	-12,49	-12,04
8	Jacoumaric acid		-11,98	-12,01	-11,9	-11,9	-11,95
9	Platanic acid	-12,15	-11,78	-11,92	-11,69	-12,03	-11,91
10	5-Carboxypyranocyanidin 3-O-beta-glucopyranoside			-11,76	-11,26	-12,35	-11,79

**Lampiran 21.** Tabel penapisan Virtual Pada PR Menggunakan AutoDock Vina

No	Nama	1	2	3	4	5	Mean $\Delta G$ (kkal/mol)
1	Mangostenone A	-10,8	-10,8	-10,8	-10,8	-10,8	-10,8
2	Yuehchukene	-10,6	-10,6	-10,7	-10,6	-10,6	-10,62
3	Leucadenone B	-10,6		-10,6	-10,6	-10,6	-10,6
4	Myricetine 3- robinobioside	-10,4	-10,4	-10,3	-10,3	-10,4	-10,36
5	Roxburghine B	-10,3	-10,3	-10,3	-	-10,3	-10,3
6	Cassiamin C	-10,2	-	-10,2	-10,2	-10,2	-10,2
7	Cyclomorusine	-10,2	-10,2	-10,2	-10,2	-10,2	-10,2
8	Chinchonain lb	-10,2	-10,3	-10,3	-10,2	-10,3	-10,26
9	Sanggenol N	-10,2	-10,2	-10,2	-10,2	-10,2	-10,2
10	Daucosterin	-10,2	-10,1	-10,1	-10,1	-10,1	-10,12

**Lampiran 22.** Tabel penapisan virtual pada PR menggunakan GOLD

No	Nama	1	2	3	4	5	6	GoldScore
1	Multifloroside	94,5138	94,514	89,423	84,3373	98,5526	86,96	91,383
2	Ternatin D	83,896			98,6099	91,8499	87,02	90,345
3	Cyanidin 3,5-di-(6- malonylglucoside)	92,9089	80,847	91,965	86,5729	96,3932	90,48	89,862
4	Cyanidin 3-(6"- malonylglucoside)-5-glucoside	80,6148	-	-	85,7484	-	85,02	83,795
5	Cyanidin 7-(3-glucosyl-6- malonyl-glucoside)-4'- glucoside	-	-	-	-	85,898	79,72	82,811
6	Isoscutellarein 4'-methyl ether 8-(2",4"- disulfatoglucoronide)	-	83,168	77,633	-	-	-	80,400
7	Myristin	79,6387	77,427	72,357	84,1726	84,2503	80,07	79,652
8	Amaranthine	81,6494	83,445	74,068	79,1238			79,572
9	Kaempferol 3-(6"- acetylglucosyl)-(1-3)- galactoside	-	-	-	76,1493	80,1227	78,40	78,225
10	Multiroside	77,0917	77,168	-	79,4612	-	76,67	77,597

**Lampiran 23.** Tabel validasi penambatan pada IN menggunakan AutoDock

Nama	1	2	3	Mean $\Delta G$ (kcal/mol)	SD	KV (%)
Nelfinaviro	-6,81	-6,49	-6,82	-6,71	0,188	2,799
Delavirdineo	-6,03	-6,09	-5,96	-6,03	0,065	1,080
Raltegraviro	-5,43	-5,41	-5,63	-5,49	0,122	2,216
Tipranaviro	-5,44	-5,1	-5,52	-5,35	0,223	4,166
Efavirezo	-5,05	-5,21	-5,02	-5,09	0,102	2,005
Saquinaviro	-4,26	-6,77	-3,76	-4,93	1,613	32,718
Amprenaviro	-4,56	-5,59	-4,54	-4,90	0,601	12,264
Etravirineo	-5,07	-4,65	-4,74	-4,82	0,221	4,588
Nevirapineo	-4,9	-4,63	-4,91	-4,81	0,159	3,300
Rilpivirineo	-4,12	-4,64	-4,38	-4,38	0,260	5,936
Darunaviro	-3,75	-4,69	-3,87	-4,10	0,512	12,468
Lopinavir	-1,54	-2,72	-1,72	-1,99	0,636	31,892
Ritonavir	-0,45	-1,57	2,36	0,11	2,025	1786,461
Atazanavir	6,47	5,54	0,1	4,04	3,441	85,239

**Lampiran 24.** Tabel validasi penambatan pada IN menggunakan AutoDock Vina

Nama	1	2	3	Mean $\Delta G$ (kcal/mol)	SD	KV (%)
Raltegravir	-8,6	-8,6	-8,6	-8,60	0	0
Tipranavir	-7,7	-8,4	-8,1	-8,07	0,351	4,354
Saquinavir	-8,5	-7,8	-7,9	-8,07	0,379	4,693
Nelfinavir	-7,6	-8,3	-8,2	-8,03	0,379	4,713
Lopinavir	-7,9	-7,9	-7,9	-7,90	0	0
Darunavir	-7,5	-8	-8	-7,83	0,289	3,685
Rilpivirine	-7,8	-7,7	-8	-7,83	0,153	1,950
Atazanavir	-7,6	-7,8	-7,9	-7,77	0,153	1,967
Delavirdine	-7,7	-7,7	-7,7	-7,70	0	0
Etravirine	-7,7	-7,7	-7,6	-7,67	0,058	0,753
Ritonavir	-7,9	-7,3	-7,3	-7,50	0,346	4,619
Amprenavir	-7,1	-7,3	-7,3	-7,23	0,115	1,596
Efavirenz	-6,8	-6,8	-6,8	-6,80	0	0
Nevirapine	-6,6	-6,7	-6,7	-6,67	0,058	0,866

**Lampiran 25.** Tabel validasi penambatan pada IN menggunakan AutoDock Vina

Nama	1	2	3	GoldScore	SD	KV (%)
Ritonavir	73,8279	75,3893	74,0281	74,415	0,849599	1,141703
Lopinavir	63,5514	78,1954	79,7257	73,824	8,92932	12,09539
Saquinavir	68,5319	75,8559	72,3406	72,243	3,662979	5,070373
Atazanavir	71,9663	73,354	70,13	71,817	1,617193	2,251833
Amprenavir	66,682	68,2186	69,6219	68,174	1,470454	2,156907
Darunavir	69,0308	64,2546	64,7793	66,022	2,619244	3,967256
Tipranavir	67,03	64,5496	65,432	65,671	1,257287	1,914537
Raltegravir	63,9638	62,4202	65,38	63,921	1,480357	2,315904
Rilpivirine	60,5823	63,0075	60,8187	61,470	1,337181	2,175358
Etravirine	60,2871	58,9234	63,3083	60,840	2,244054	3,688476
Delavirdine	58,886	59,4866	60,5403	59,638	0,837428	1,404194
Nelfinavir	75,3987	54,2672	47,9709	59,212	14,36702	24,26359
Nevirapine	48,5877	48,6939	48,6009	48,628	0,057882	0,119031
Efavirenz	43,3476	42,926	42,2144	42,829	0,572751	1,337287

**Lampiran 26.** Tabel penapisan virtual pada IN menggunakan AutoDock

No	Nama	1	2	3	4	5	Rata-rata
1	Cassiamin C	-10,24	-11,68	-10,84	-10,23	-9,94	-10,59
2	5,7,2',4'- Tetrahydroxyisoflavone 8-C-glucoside	-9	-9,47	-10,29	-9,41	-9,71	-9,58
3	Cyanidin 3-arabinoside	-9,45	-9,49	-	-9,2	-10,11	-9,56
4	Cyanidin 3-(6''-caffeyl- 6'''- ferulylsophoroside)-5- glucoside	-9,51	-9,25	-9,35	-9,43	-9,18	-9,34
5	Yuehchukene	-9,51	-9,35	-	-9,15	-	-9,34
6	Artonin X	-9,43	-9,36	-9,23	-9,23	-9,23	-9,30
7	Sanggenol N	-9,14	-8,93	-9,1	-9,3	-9,07	-9,11
8	Quercetin 3-O-alpha-D- arabinopyranoside	-8,83	-9,17	-	-9,36	-	-9,10
9	Myricetin 3-alpha-L- arabinopyranoside	-8,84	-8,96	-9,48	-9,16	-8,98	-9,08
10	Kuwanon T	-8,82	-	-9,18	-	-9,19	-9,06

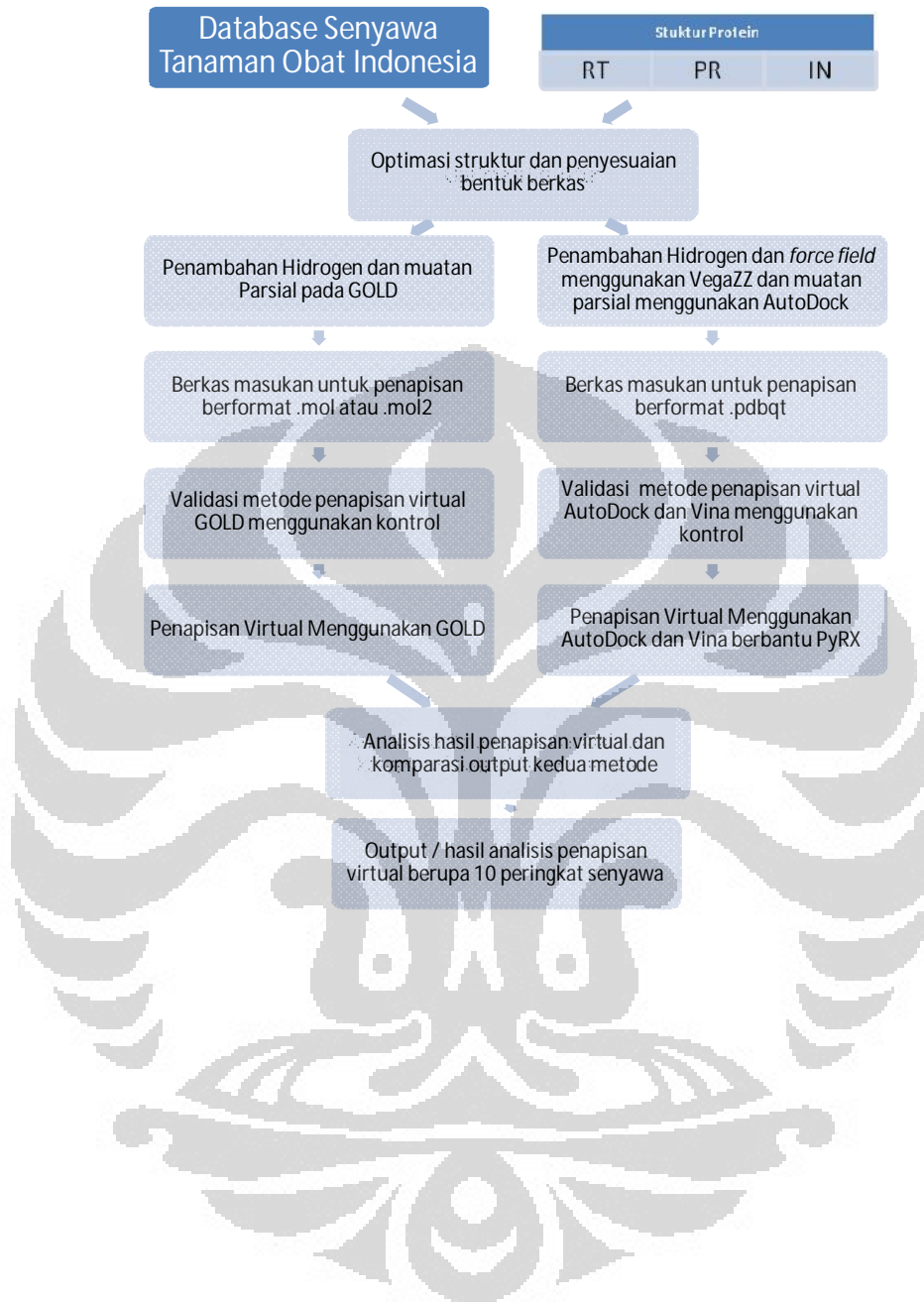
**Lampiran 27.** Tabel penapisan virtual pada IN menggunakan AutoDock Vina

No	Nama	1	2	3	4	5	Rata-rata
1	Cassiamin C	-10,2	-10,1	-10,1	-10,1	-10,1	-10,12
2	Epicatechin 3,5-di-O-gallate	-9,9	-	-9,9	-9,9	-9,9	-9,9
3	Myricetin 3-(2G-rhamnosylrutinoside)	-9,9	-9,8	-9,8	-9,8	-10	-9,86
4	Arecatannin A1	-9,8	-9,8	-	-9,8	-9,8	-9,8
5	Epigallocatechin 3,5-di-O-gallate	-9,8	-9,8	-9,8	-9,8	-9,8	-9,8
6	Shermilamine E	-9,8	-9,8	-9,8	-9,8	-9,8	-9,8
7	Epigallocatechin-(4beta->8)-epicatechin-3-O-gallate	-9,8	-9,7	-9,8	-9,8	-9,8	-9,78
8	Sanggenol N	-9,7	-9,7	-9,7	-	-9,7	-9,7
9	Procyanidin B3	-9,7	-9,6	-9,7	-9,7	-9,7	-9,68
10	Sojagol	-9,7	-9,7	-9,7	-9,6	-9,6	-9,66

**Lampiran 28.** Tabel penapisan virtual pada IN menggunakan GOLD

No	Nama	1	2	3	4	5	Rata-rata
1	Myricetin 3-galactoside	74,4312	80,146	72,424	73,2214	80,7265	76,190
2	Epigallocatechin 3,5-di-O-gallate	80,8788	82,466	68,816	70,801	76,4654	75,885
3	Precarthamin	-	-	-	76,4388	72,8829	74,661
4	Glucobrassicin	80,5891	73,315	71,345	69,1694	74,3323	73,750
5	3-O-Galloylepicatechin-(4beta-8)-epicatechin-3-O-gallate	72,6784	75,302	-	71,4318	-	73,138
6	Miraxanthin-I	71,5169	73,97	74,065	-	69,1894	72,185
7	Kaempferol 3-(4"-acetylramnoside)	70,3729	73,016	70,518	71,7516	72,4699	71,626
8	Myricetin 3-(2G-rhamnosylrutinoside)	68,6090	74,991	68,481	70,2166	74,088	71,277
9	5,7,2',4'-Tetrahydroxyisoflavone 8-C-glucoside	70,1777	73,195	-	68,9639	-	70,779
10	Cyanidin 3-(6"-malonylglucoside)	72,2967	-	70,43	66,5808	-	69,769

## Lampiran 29. Skema Kerja





## Lampiran 30. Penyejajaran sekuens subunit p55 dan p61

```

3LP1_A|PDB ID|CHAIN|SEQUENCE      MNSP ISF IETVPVLEKLP GMDGPKVKQWFLTEEK IKALVE ICTEMEKEGKI 50
3LP1_B|PDB ID|CHAIN|SEQUENCE      MNSP ISF IETVPVLEKLP GMDGPKVKQWFLTEEK IKALVE ICTEMEKEGKI 50
*****

3LP1_A|PDB ID|CHAIN|SEQUENCE      SKIGPENPYMTPVFA IKKKDSTKWRKLVDFRELMKRTQDFWEUQLGIPHP 100
3LP1_B|PDB ID|CHAIN|SEQUENCE      SKIGPENPYMTPVFA IKKKDSTKWRKLVDFRELMKRTQDFWEUQLGIPHP 100
*****

3LP1_A|PDB ID|CHAIN|SEQUENCE      AGLKKNKSUTVLDVGDAYFSVPLDEDFRKTYTAPTIPS INNETPGIRYQYM 150
3LP1_B|PDB ID|CHAIN|SEQUENCE      AGLKKNKSUTVLDVGDAYFSVPLDEDFRKTYTAPTIPS INNETPGIRYQYM 150
*****

3LP1_A|PDB ID|CHAIN|SEQUENCE      VLPQGKGGSPAIFQSSMTKILEPFRKQMPDIVIYQVMDDLYVGSDEIGQ 200
3LP1_B|PDB ID|CHAIN|SEQUENCE      VLPQGKGGSPAIFQSSMTKILEPFRKQMPDIVIYQVMDDLYVGSDEIGQ 200
*****

3LP1_A|PDB ID|CHAIN|SEQUENCE      HRTKIEELRQHLLRWGLTTPDKKHQKEPFLWVGVELHPDKWTVQPIVLP 250
3LP1_B|PDB ID|CHAIN|SEQUENCE      HRTKIEELRQHLLRWGLTTPDKKHQKEPFLWVGVELHPDKWTVQPIVLP 250
*****

3LP1_A|PDB ID|CHAIN|SEQUENCE      EKDSWTVNDIQKLVGKLNWASQIYFGIKVRQLCKLLRGTKALTEVIPLE 300
3LP1_B|PDB ID|CHAIN|SEQUENCE      EKDSWTVNDIQKLVGKLNWASQIYFGIKVRQLCKLLRGTKALTEVIPLE 300
*****

3LP1_A|PDB ID|CHAIN|SEQUENCE      EAELELAEMREILKEPVHGVYDPSKDLIAEIQKQGQGWTYQIYQEPFK 350
3LP1_B|PDB ID|CHAIN|SEQUENCE      EAELELAEMREILKEPVHGVYDPSKDLIAEIQKQGQGWTYQIYQEPFK 350
*****

3LP1_A|PDB ID|CHAIN|SEQUENCE      MLKTGKYARMRGANTMDVKQLTEAVQKITTESIVIGKTPKFKLP IQKET 400
3LP1_B|PDB ID|CHAIN|SEQUENCE      MLKTGKYARMRGANTMDVKQLTEAVQKITTESIVIGKTPKFKLP IQKET 400
*****

3LP1_A|PDB ID|CHAIN|SEQUENCE      WETWTEYVQATWIPWEFVNTPLVUKLWYQLEKEPIVGAETFYVDGAAN 450
3LP1_B|PDB ID|CHAIN|SEQUENCE      WETWTEYVQATWIPWEFVNTPLVUKLWYQLEKEPIVGAETFYVDGAAN 443
*****

3LP1_A|PDB ID|CHAIN|SEQUENCE      RETKLKAGVYVNRGRQKVUTLTDTTNQTTELQAVYLAQDSGLEVNIYT 500
3LP1_B|PDB ID|CHAIN|SEQUENCE      -----

3LP1_A|PDB ID|CHAIN|SEQUENCE      DSQYALGIIQAQPDQSESELVWQIIIEQLIKKERVYLAWVPAHKGIGNEQ 550
3LP1_B|PDB ID|CHAIN|SEQUENCE      -----

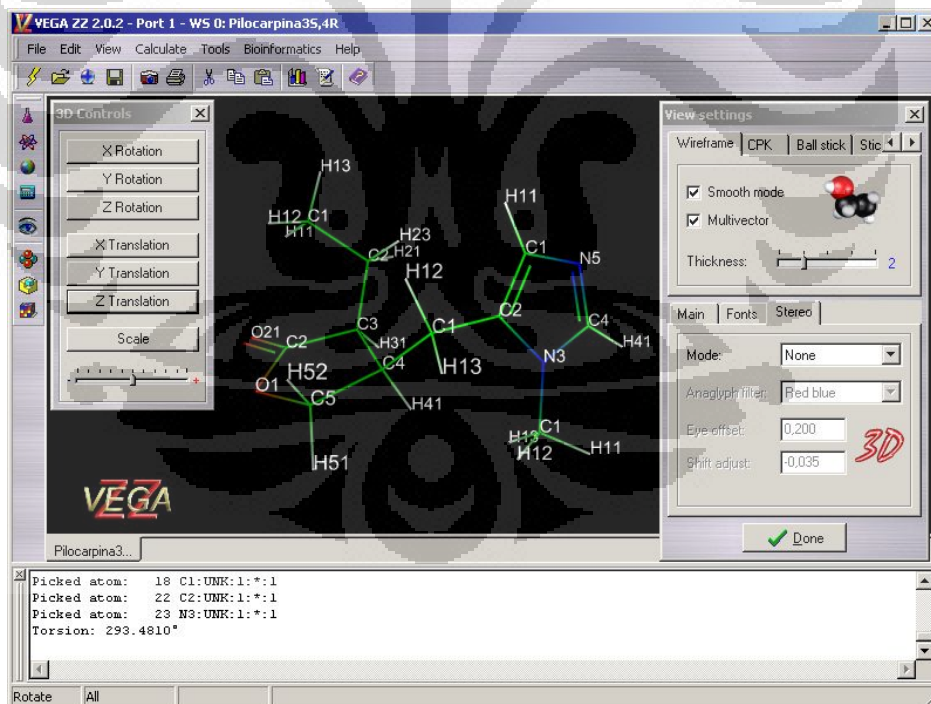
3LP1_A|PDB ID|CHAIN|SEQUENCE      VDKLVSAGIRKVL 563
3LP1_B|PDB ID|CHAIN|SEQUENCE      -----

```

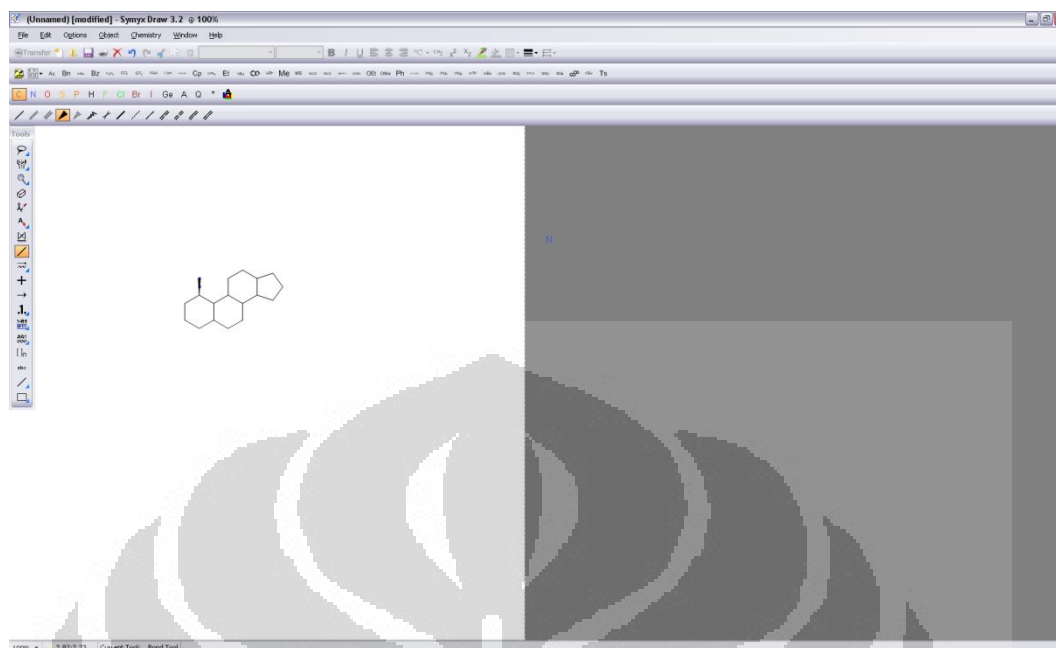
### Lampiran 31. Tampilan situs *Protein Data Bank*

The screenshot shows the PDB website interface. At the top, it says "RCSB PDB - 3LP1 Structure Summary - Mozilla Firefox". The main header includes the PDB logo and "An Information Portal to Biological Macromolecular Structures". The search bar contains "3lp1". The entry title is "HIV-1 reverse transcriptase with inhibitor" with the ID "3LP1". The DOI is "10.2210/pdb3lp1/pdb". The primary citation is: "Structural basis for the inhibition of RNase H activity of HIV-1 reverse transcriptase by RNase H active site-directed inhibitors." by Su, H.P., Yan, Y.P., Prasad, G.S., Smith, R.F., Daniels, C.L., Abeywickrema, P.D., Reid, J.C., Loughran, H.M., Kornienko, M., Sharma, S., Grobler, J.A., Xu, B., Sardana, V., Allison, T.J., Williams, P.D., Darke, P.L., Hazuda, D.J., Munshi, S. (2010) *J. Virol.* 84: 7625-7633. The PubMed ID is 20484498. The abstract snippet reads: "HIV/AIDS continues to be a menace to public health. Several drugs currently on the market have successfully". On the right, there is a 3D ribbon diagram of the protein structure.

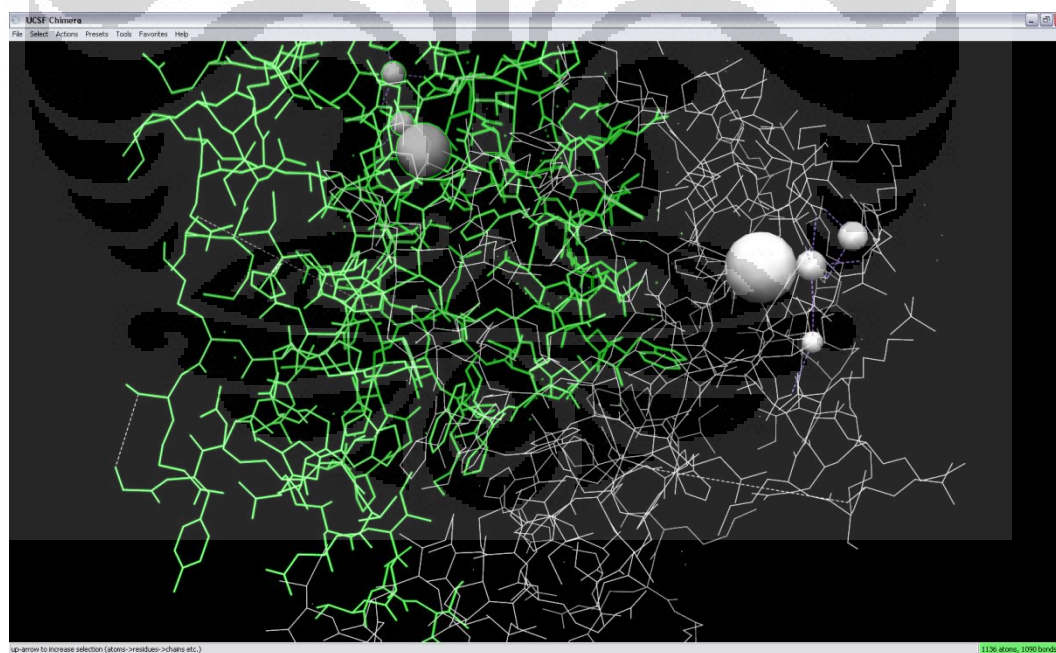
### Lampiran 32. Tampilan Piranti Lunak VegaZZ



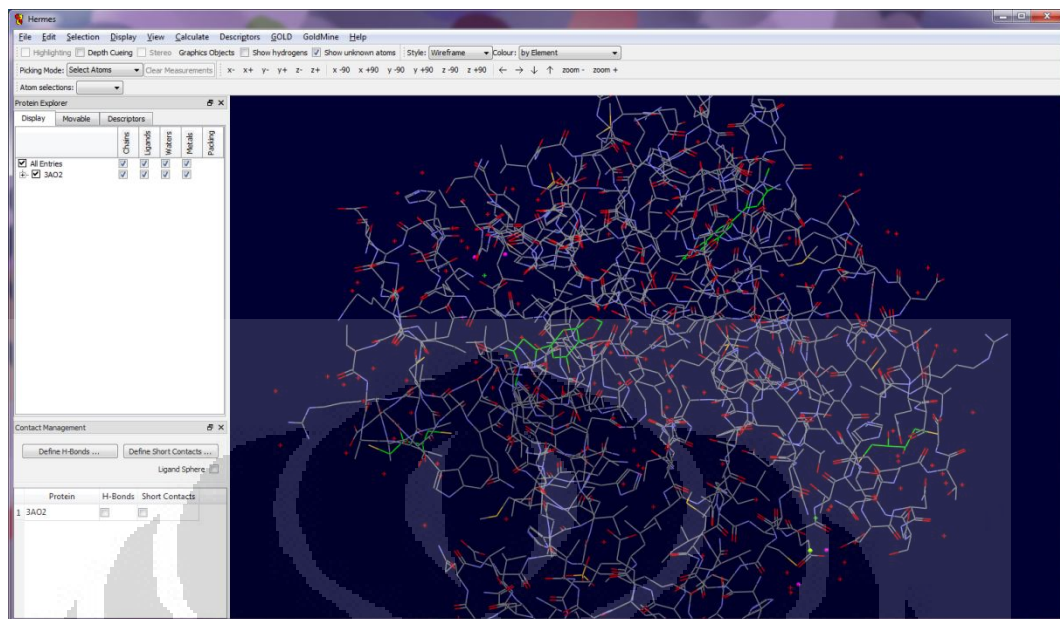
### Lampiran 33. Tampilan Piranti Lunak Symyx Draw



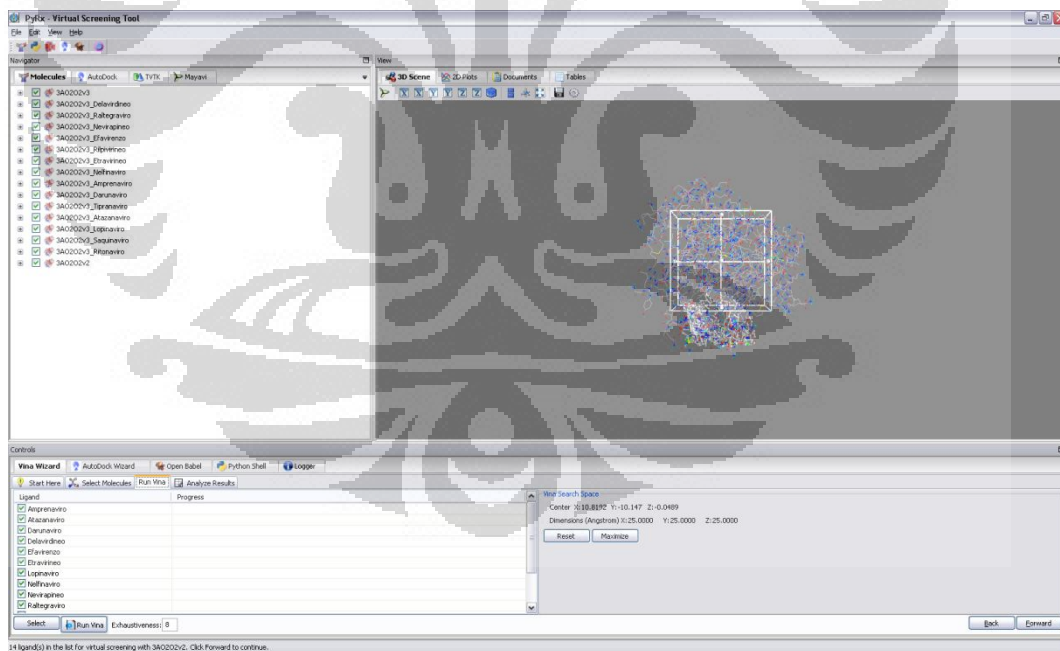
### Lampiran 34. Tampilan Piranti Lunak UCSF Chimera



### Lampiran 35. Tampilan Piranti Lunak GOLD



### Lampiran 36. Tampilan Piranti Lunak PyRX



**Lampiran 37. Tampilan Piranti Lunak PyMOL**