



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**ANALISIS DINAMIKA MOLEKULER HASIL PENAMBATAN  
MOLEKUL KOMPLEKS SIKLOOKSIGENASE-2 DENGAN  
BEBERAPA SENYAWA 3-FENIL-2-STIRIL-4(3H)-  
KUIAZOLINON TERSUBSTITUSI SULFONAMIDA ATAU  
SULFASETAMIDA**

**SKRIPSI**

**MUHAMMAD ADITYA SETIAJID**

**0806398455**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**

**PROGRAM STUDI FARMASI**

**DEPOK**

**JULI 2012**



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**ANALISIS DINAMIKA MOLEKULER HASIL PENAMBATAN  
MOLEKUL KOMPLEKS SIKLOOKSIGENASE-2 DENGAN  
BEBERAPA SENYAWA 3-FENIL-2-STIRIL-4(3H)-  
KUIAZOLINON TERSUBSTITUSI SULFONAMIDA ATAU  
SULFASETAMIDA**

**SKRIPSI**

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

**Sarjana Farmasi**

**MUHAMMAD ADITYA SETIAJID**

**0806398455**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**

**PROGRAM STUDI FARMASI**

**DEPOK**

**JULI 2012**

## SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME

Saya yang bertanda tangan di bawah ini dengan sebenarnya menyatakan bahwa skripsi ini saya susun tanpa tindakan plagiarisme sesuai dengan peraturan yang berlaku di Universitas Indonesia.

Jika di kemudian hari ternyata saya melakukan plagiarisme, saya akan bertanggung jawab sepenuhnya dan menerima sanksi yang dijatuhkan oleh Universitas Indonesia kepada saya.

Depok, 6 Juli 2012



Muhammad Aditya Setiajid

## HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : Muhammad Aditya Setiajid

NPM : 0806398455

Tanda Tangan : 





Tanggal : 6 Juli 2012

## HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :  
Nama : Muhammad Aditya Setiajid  
NPM : 0806398455  
Program Studi : Farmasi  
Judul Skripsi : Analisis Dinamika Molekuler Hasil Penambatan Molekul Kompleks Siklooksigenase-2 dengan Beberapa Senyawa 3-Fenil-2-stiril-4(3H)-kuinazolinon Tersubstitusi Sulfonamida atau Sulfasetamida

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada program studi Farmasi S1 Paralel, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia

### DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dr. Arry Yanuar, M.Si. (  )  
Pembimbing II : Drs. Hayun, M.Si., Apt. (  )  
Penguji I : Dr. Nelly Dhevita Leswara, M.Sc., Apt. (  )  
Penguji II : Prof. Dr. Yahdiana Harahap M.S. (  )

Ditetapkan di. : Depok

Tanggal : 6 Juli 2012

## KATA PENGANTAR

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

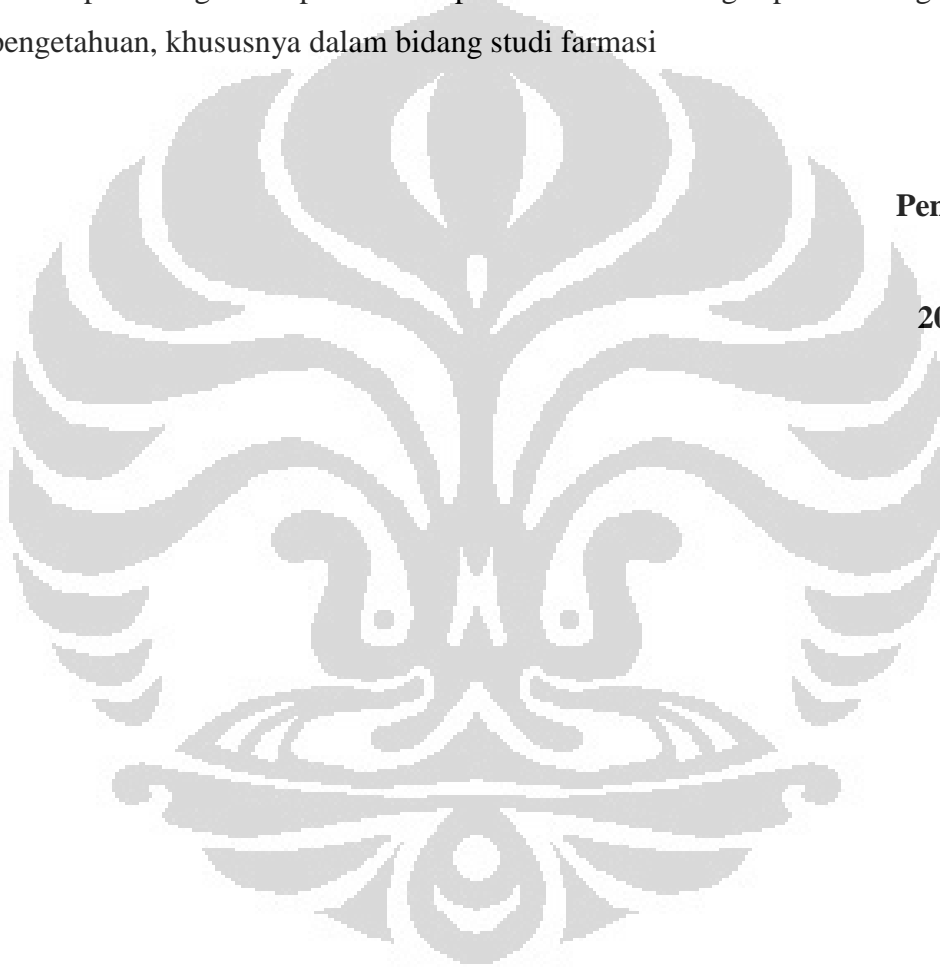
Skripsi ini disusun sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Departemen Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.

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

1. Prof. Dr. Yahdiana Harahap M.S., selaku Ketua Departemen Farmasi atas kesempatan yang telah diberikan untuk melakukan penelitian dan penyusunan skripsi ini
2. Prof. Dr. Endang Hanani Apt., MS selaku pembimbing akademis yang telah membimbing penulis dari awal perkuliahan hingga penelitian ini.
3. Dr. Arry Yanuar, M.Si. selaku pembimbing I yang telah memberikan semangat, bimbingan, saran, bantuan, serta dukungan selama penelitian dan penyusunan skripsi
4. Drs. Hayun, M.Si., Apt selaku pembimbing II yang telah memberikan semangat, bimbingan, saran, bantuan, dukungan selama penelitian dan penyusunan skripsi
5. Seluruh staf pengajar Program Sarjana Farmasi Universitas Indonesia yang telah dengan tulus membekali ilmu kepada penulis
6. Ibunda Ratna Dewi dan Ayahanda Taufik Hidayat, serta keluarga yang selalu memberikan dukungan tak terbilang untuk penulis. Tanpa kalian, ananda bukanlah apa-apa
7. Yang Disa Karina yang selalu mendukung, menyemangati dan memberikan yang terbaik untuk penulis

8. Rekan-rekan di ruang penelitian: Kak Rezi, Kak Aulia, Mbak Eva dan Pak Andri yang telah menemani penulis selama penyusunan dan penelitian
9. Sahabat serta semua teman selama perkuliahan di S1 Farmasi
10. Seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah memberikan pengarahan, dorongan semangat dan membantu dalam proses penelitian dan penyusunan skripsi ini.

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



**Penulis,**

**2012**

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

---

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

Nama : Muhammad Aditya Setiajid  
NPM : 0806398455  
Program Studi : S1 Farmasi Paralel  
Departemen : Farmasi  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Jenis karya : Skripsi

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

**ANALISIS DINAMIKA MOLEKULER HASIL PENAMBATAN  
MOLEKUL KOMPLEKS SIKLOOKSIGENASE-2 DENGAN BEBERAPA  
SENYAWA 3 – FENIL – 2 – STIRIL – 4 (3H) - KUINAZOLINON  
TERSUBSTITUSI SULFONAMIDA ATAU SULFASETAMIDA**

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: 6 Juli 2012

Yang menyatakan



(Muhammad Aditya Setiajid)



## ABSTRAK

Nama : Muhammad Aditya Setiajid  
Program Studi : Farmasi  
Judul : Analisis Dinamika Molekuler Hasil Penambatan Molekul Kompleks Siklooksigenase-2 dengan Beberapa Senyawa 3-Fenil-2-stiril-4(3H)-kuinazolinon Tersubstitusi Sulfonamida atau Sulfasetamida

Obat antiinflamasi non-steroid (AINS) bekerja dengan cara menghambat produksi prostaglandin melalui penghambatan enzim siklooksigenase, sehingga banyak digunakan dalam pengobatan inflamasi secara luas. Senyawa kimia 3-Fenil-2-stiril-4(3H)-kuinazolinon tersubstitusi sulfonamida atau sulfasetamida merupakan senyawa baru hasil sintesis. Beberapa senyawa diaril-4(3H)-kuinazolinon tersubstitusi gugus  $\text{SO}_2\text{NH}_2$  pada salah satu cincin arilnya diprediksi akan mempunyai aktivitas penghambatan COX-2 yang baik. Penelitian ini bertujuan mengamati dinamika interaksi inhibisi ikatan beberapa senyawa 3-Fenil-2-stiril-4(3H)-kuinazolinon tersubstitusi sulfonamida atau sulfasetamida dengan COX-2. Pengujian dinamika interaksi dilakukan secara *in silico* melalui penambatan molekul menggunakan AutoDock 4.0 dan simulasi dinamika molekul selama dua nanodetik menggunakan Amber 11. Berdasarkan nilai  $\Delta G$  hasil penambatan molekul, dapat dibagi menjadi 3 kelompok: kelompok sangat selektif yaitu senyawa 2i, 2e dan 2d (-10,92; -10,93 dan -11,33 kkal/mol) dibandingkan dengan SC-558 (-10,90 kkal/mol); kelompok selektif yaitu senyawa 2f, 2b, 2c dan 2a (-10,68; -9,79; -9,57 dan -9,22 kkal/mol) dibandingkan dengan selekoksib (-10,63 kkal/mol); kelompok non-selektif yaitu senyawa 2aa, 2ba dan 2ca (-6,98; -6,87 dan -6,48 kkal/mol) dibandingkan dengan aspirin (-4,82 kkal/mol). Simulasi dinamika molekul pada kompleks 6COX dengan senyawa 2a menunjukkan jumlah ikatan hidrogen yang cenderung tidak stabil, sedangkan kompleks dengan senyawa 2aa, 2i dan SC-558 menunjukkan jumlah ikatan hidrogen yang cenderung stabil.

Kata kunci:

COX-2, antiinflamasi, penambatan molekul, dinamika molekul.

xx+ 88 halaman: 20 gambar; 3 tabel; 53 lampiran

Bibliografi: 38 (1994 - 2011)

## ABSTRACT

Name : Muhammad Aditya Setiajid  
Major : Pharmacy  
Title : Molecular Dynamics Analysis of Docking Product of Cyclooxygenase-2 Complex with Sulfonamides or Sulfacetamides Substituted of 3-Phenyl-2-styryl-4(3H)-quinazolinones

The Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs) inhibit the production of prostaglandins by inhibiting cyclooxygenase (COX) activity, so that it is used in the treatment of a wide variety of inflammation conditions. Sulfonamides or sulfacetamides substituted of 3-Phenyl-2-styryl-4(3H)-quinazolinones are the novel compound produced by synthesis. SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> substituted in one of the aryl ring of diaryl-4(3H)-quinazolones are predicted as a good COX-2 inhibitor. The aims of this research is to observe the inhibition activity of sulfonamides or sulfacetamides substituted of 3-Phenyl-2-styryl-4(3H)-quinazolinones with COX-2. The study of COX-2, binding inhibition and dynamics interaction was done with *in silico* method by molecular docking with AutoDock 4.0 and molecular dynamics in 2 nanoseconds with Amber 11. Those compound could be divided into 3 groups, based on  $\Delta G$  scores of docking result: very selective group, compound 2i, 2e and 2d (-10.92; -10.93 and -11.33 kcal/mol) compared to SC-558 (-10.90 kcal/mol); selective group compound 2f, 2b, 2c and 2a (-10.68; -9.79; -9.57 and -9.22 kcal/mol) compared to celecoxib (-10.63 kcal/mol); non-selective group, compound 2aa, 2ba and 2ca (-6.98; -6.87 and -6.48 kcal/mol) compared to aspirin (-4.82 kcal/mol). Molecular dynamics simulation of complex 6COX with compound 2a showed unstable hydrogen bond number, whereas complex with compound 2aa, 2i and SC-558 showed stable hydrogen bond number.

Keywords:

COX-2, anti-inflammatory, molecular docking, molecular dynamics

xx + 88 pages :20 figures; 3 tables; 53 appendixes

Bibliography: 38 (1994 - 2011)

## DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL .....	i
HALAMAN JUDUL.....	ii
SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iv
HALAMAN PENGESAHAN.....	v
KATA PENGANTAR .....	vi
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH .....	viii
ABSTRAK.....	ix
ABSTRACT.....	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR GAMBAR .....	xv
DAFTAR TABEL.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan Penelitian .....	3
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>4</b>
2.1 3-Fenil-2stiril-4(3H)-kuinazolinon Tersubstitusi Sulfonamida atau Sulfasetamida .....	4
2.2 Protein.....	6
2.3 Struktur Protein.....	7
2.3.1 Struktur Primer .....	7
2.3.1 Struktur Sekunder.....	7
2.3.1 Struktur Tersier.....	8
2.3.1 Struktur Kuartener.....	9

2.4	Reseptor .....	10
2.5	Siklooksigenase-2 .....	10
2.6	Inhibitor Siklooksigenase-2 .....	11
2.7	Bioinformatika .....	12
2.8	Penambatan Molekuler .....	12
2.9	Dinamika Molekuler .....	13
2.10	AutoDock .....	14
2.11	Bank Data Protein ( <i>Protein Data Bank</i> ) .....	15
2.12	MarvinSketch .....	15
2.13	OpenBabel .....	16
2.14	VegaZZ .....	16
2.15	PyMOL .....	16
2.16	UCSF Chimera ( <i>University of California at San Fransisco Chimera</i> ) .....	17
2.17	Cygwin .....	17
2.18	PuTTY .....	18
2.19	VMD .....	18
2.20	Amber .....	18
<b>BAB 3.</b>	<b>METODE PENELITIAN .....</b>	<b>19</b>
3.1	Lokasi dan Waktu Penelitian .....	19
3.2	Peralatan .....	19
3.2.1	Piranti Keras .....	19
3.2.2	Piranti Lunak .....	19
3.3	Bahan .....	20
3.3.1	Struktur Tiga Dimensi Siklooksigenase-2 .....	20
3.3.2	Struktur Tiga Dimensi dari Turunan 3-Fenil-2-stiril-4(3H)-kuinazolinon Tersubstitusi Sulfonamida	

atau Sulfasetamida .....	20
3.3.3 Struktur Tiga Dimensi dari Kontrol Positif Selektif dan Non-Selektif Inhibitor Siklooksigenase-2 .....	20
3.4 Cara Kerja Penambatan Molekuler .....	20
3.4.1 Pengunduhan Makromolekul Siklooksigenase-2 .....	20
3.4.2 Pembuatan Struktur Tiga Dimensi dari Turunan 3-Fenil-2-stiril-4(3H)-kuinazolinon Tersubstitusi Sulfonamida atau Sulfasetamida Serta Kontrol Positif .....	21
3.4.3 Pemisahan Rantai Makromolekul Siklooksigenase-2 untuk Target penambatan .....	21
3.4.4 Optimasi Struktur Tiga Dimensi Ligan .....	22
3.4.5 Penambatan Molekuler .....	22
3.4.6 Evaluasi Penilaian (Scoring) Hasil Penambatan Molekuler .....	23
3.5 Cara Kerja Simulasi Dinamika Molekuler .....	23
3.5.1 Persiapan Makromolekul Siklooksigenase-2 Hasil Penambatan Molekul .....	23
3.5.2 Persiapan Ligan Hasil Penambatan Molekul .....	24
3.5.3 Pembuatan Topologi dan Koordinat Ligan, Makromolekul dan Kompleks Ligan-Makromolekul .....	24
3.5.4 Minimisasi Kompleks Ligan-Makromolekul Dalam Pelarut Air .....	25
3.5.5 Ekuilibrasi Kompleks Ligan-Makromolekul Dalam Pelarut Air .....	25
3.5.6 Produksi Simulasi Dinamika Molekuler .....	26
3.5.7 Analisis Hasil Simulasi Dinamika Molekuler .....	27
<b>BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>30</b>

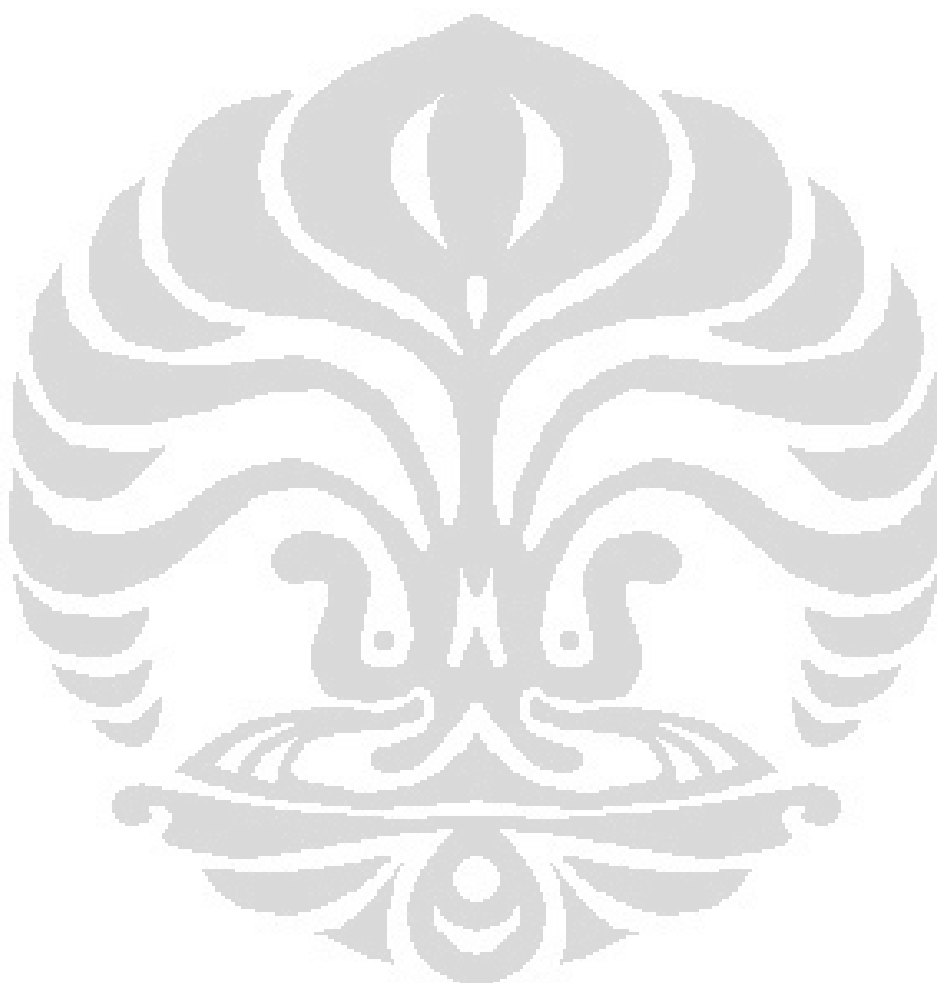
4.1	Penambatan Molekuler .....	30
4.1.1	Pengunduhan Makromolekul Siklooksigenase-2 .....	30
4.1.2	Pembuatan Struktur Tiga Dimensi dari Turunan 3-Fenil- 2-stiril-4(3H)-kuinazolinon Tersubstitusi Sulfonamida atau Sulfasetamida Serta Kontrol Positif .....	30
4.1.3	Pemisahan Rantai Makromolekul Siklooksigenase-2 untuk Target penambatan .....	30
4.1.4	Optimasi Struktur Tiga Dimensi Ligan .....	31
4.1.5	Penambatan Molekuler .....	31
4.1.6	Evaluasi Penilaian (Scoring) Hasil Penambatan Molekuler .....	33
4.2	Simulasi Dinamika Molekuler .....	36
4.2.1	Persiapan Makromolekul Siklooksigenase-2 Hasil Penambatan Molekuler .....	36
4.2.2	Persiapan Ligan Hasil Penambatan Molekuler .....	37
4.2.3	Pembuatan Topologi dan Koordinat Ligan, Makromo- Lekul dan Kompleks Ligan-Makromolekul .....	37
4.2.4	Minimisasi Kompleks Ligan-Makromolekul Dalam Pelarut Air .....	38
4.2.5	Ekuilibrasi Kompleks Ligan-Makromolekul Dalam Pelarut Air .....	38
4.2.6	Produksi Simulasi Dinamika Molekuler .....	41
4.2.7	Analisis Hasil Simulasi Dinamika Molekuler .....	42
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>		<b>49</b>
5.1	Kesimpulan .....	49
5.2	Saran .....	49
<b>DAFTAR REFERENSI .....</b>		<b>50</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
Gambar 2.1	Rumus bangun senyawa 3-Fenil-2-stiril-kuinazolinon .....	5
Gambar 2.2	Rumus bangun senyawa 2i .....	6
Gambar 2.3	Struktur $\alpha$ -heliks protein.....	8
Gambar 2.4	Struktur lipatan paralel dan antiparalel $\beta$ .....	8
Gambar 2.5	Struktur tersier protein.....	9
Gambar 3.1	Struktur 3 dimensi makromolekul 6-COX .....	21
Gambar 4.1	Perbandingan visualisasi struktur tiga dimensi ligan hasil penambatan molekul terhadap 6COX .....	33
Gambar 4.2	Visualisasi struktur tiga dimensi ligan hasil penambatan molekul dengan AutoDock .....	35
Gambar 4.3	Visualisasi struktur tiga dimensi 2aa <i>best cluster</i> dan <i>best docking</i> hasil penambatan molekul .....	37
Gambar 4.4	Visualisasi kompleks ligan-makromolekul dalam pelarut air..	38
Gambar 4.5	Grafik RMSD setelah ekuilibراسi tahap ketiga.....	39
Gambar 4.6	Grafik berat jenis setelah ekuilibراسi tahap kedua.....	40
Gambar 4.7	Grafik energi potensial setelah ekuilibراسi tahap ketiga.....	40
Gambar 4.8	Grafik suhu setelah ekuilibراسi tahap ketiga.....	41
Gambar 4.9	Grafik energi potensial simulasi selama 2 nanodetik.....	42
Gambar 4.10	Grafik RMSD <i>backbone</i> 6COX dengan ligan .....	43
Gambar 4.11	Grafik RMSF C- $\alpha$ kelima sistem setelah simulasi selama 2 nanodetik .....	44
Gambar 4.12	Grafik rata-rata jumlah ikatan hidrogen hasil simulasi dinamika molekuler pada waktu 1-2 nanodetik .....	45
Gambar 4.13	Interaksi senyawa 2aa dengan residu Ser 530 dan Tyr 385.....	47
Gambar 4.14	Interaksi 6COX dengan senyawa turunan turunan 3-Fenil-2-stiril-4(3H)-kuinazolinon tersubstitusi sulfonamida atau sulfasetamida .....	48

## DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
Tabel 2.1	Substitusi senyawa 3-Fenil-2-stiril-4(3H)-kuinazolinon.....	5
Tabel 4.1	Perbandingan hasil penambatan molekul terhadap 6COX dengan hidrogen dan tanpa hidrogen .....	32
Tabel 4.2	Pengelompokkan ligan berdasarkan tingkat selektifannya dalam menghambat COX-2.....	35





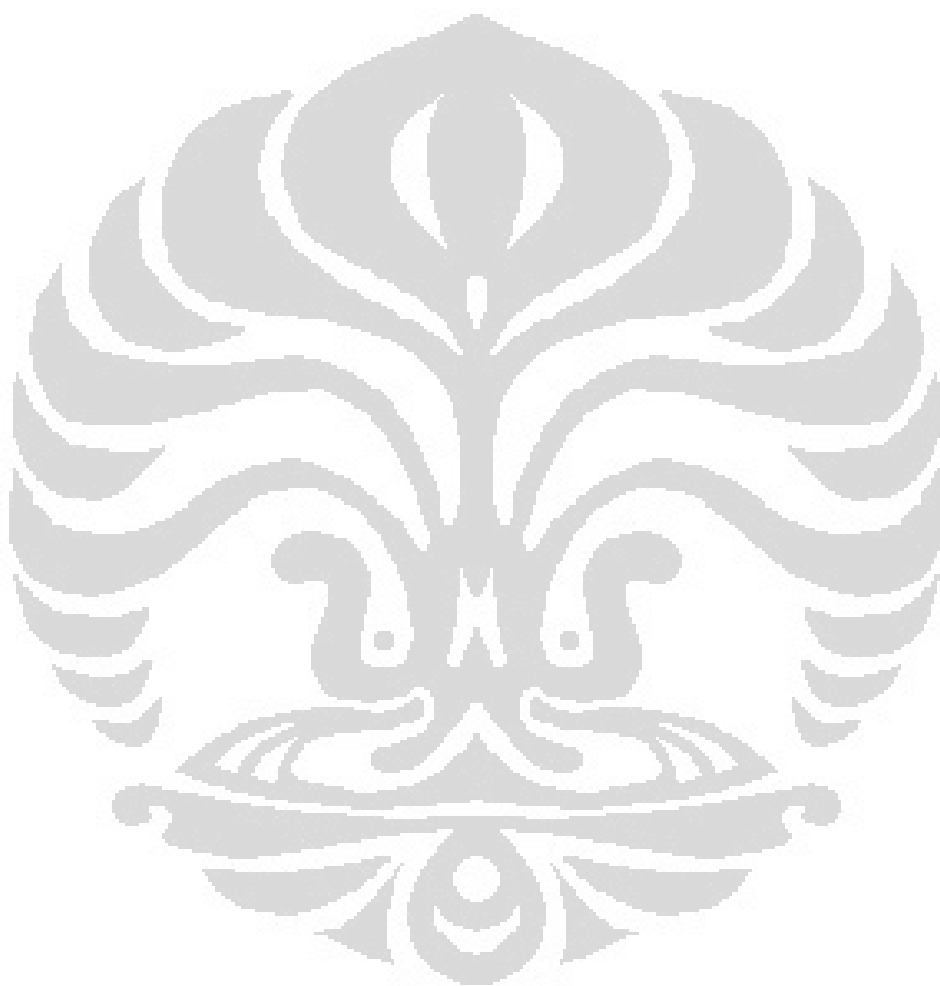
## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
Lampiran 1	Skema kerja .....	54
Lampiran 2	Dua puluh satu jenis asam amino penyusun protein .....	55
Lampiran 3	Jalur sintesis PG terkatalis COX .....	56
Lampiran 4	Peringkat senyawa berdasarkan rata-rata $\Delta G$ terendah dari kluster terbaik hasil penambatan dengan 6COX .....	57
Lampiran 5	Peringkat senyawa berdasarkan rata-rata $K_i$ terendah dari kluster terbaik hasil penambatan dengan 6COX .....	58
Lampiran 6	Tabel data $\Delta G$ kluster dan penambatan terbaik hasil penambatan pada 6COX.....	59
Lampiran 7	Tabel data $K_i$ kluster dan penambatan terbaik hasil penambatan pada 6COX.....	60
Lampiran 8	Data $\Delta G$ kontrol positif sangat selektif (SC-558), selektif (Selekoksib) dan non-selektif (Aspirin) .....	61
Lampiran 9	Data $K_i$ kontrol positif sangat selektif (SC-558), selektif (Selekoksib) dan non-selektif (Aspirin) .....	62
Lampiran 10	Residu asam amino hasil penambatan molekuler dengan 6COX.....	63
Lampiran 11	Hasil $\Delta G$ kluster dan penambatan terbaik penambatan pada 6COX yang ditambahkan hidrogen .....	64
Lampiran 12	Hasil $K_i$ kluster dan penambatan terbaik penambatan pada 6COX yang ditambahkan hidrogen .....	65
Lampiran 13	Visualisasi struktur tiga dimensi ligan hasil penambatan molekuler dengan AutoDock.....	66
Lampiran 14	Visualisasi struktur tiga dimensi hasilpenambatan molekuler terhadap 6COX dengan AutoDock.....	67
Lampiran 15	Visualisasi hasil penambatan molekuler senyawa 2a dengan 6COX .....	68
Lampiran 16	Visualisasi hasil penambatan molekuler senyawa 2b dengan 6COX .....	68
Lampiran 17	Visualisasi hasil penambatan molekuler senyawa 2c dengan 6COX .....	69

Lampiran 18	Visualisasi hasil penambatan molekuler senyawa 2d dengan 6COX .....	69
Lampiran 19	Visualisasi hasil penambatan molekuler senyawa 2e dengan 6COX .....	70
Lampiran 20	Visualisasi hasil penambatan molekuler senyawa 2f dengan 6COX .....	70
Lampiran 21	Visualisasi hasil penambatan molekuler senyawa 2i dengan 6COX .....	71
Lampiran 22	Visualisasi hasil penambatan molekuler senyawa 2aa dengan 6COX .....	71
Lampiran 23	Visualisasi hasil penambatan molekuler senyawa 2ba dengan 6COX .....	72
Lampiran 24	Visualisasi hasil penambatan molekuler senyawa 2ca dengan 6COX .....	72
Lampiran 25	Visualisasi hasil penambatan molekuler senyawa SC-558 dengan 6COX .....	73
Lampiran 26	Visualisasi hasil penambatan molekuler senyawa selekoksib dengan 6COX .....	73
Lampiran 27	Visualisasi hasil penambatan molekuler senyawa aspirin dengan 6COX .....	74
Lampiran 28	Berkas min.in minimisasi ligan untuk penambatan molekuler .....	75
Lampiran 29	Berkas Leap.in.....	75
Lampiran 30	Berkas min.in.....	76
Lampiran 31	Berkas min_all.in.....	76
Lampiran 32	Berkas eq1.in .....	76
Lampiran 33	Berkas eq2.in .....	77
Lampiran 34	Berkas eq3.in .....	77

Lampiran 35	Berkas prod.in.....	78
Lampiran 36	Keterangan parameter simulasi dinamika molekuler (Case et al., 2010).....	78
Lampiran 37	Berkas run_md.x.....	79
Lampiran 38	Berkas do.run.....	79
Lampiran 39	Berkas ptraj.in.....	79
Lampiran 40	Berkas ptraj_rmsf.in .....	80
Lampiran 41	Tampilan piranti lunak VMD pada saat analisis ikatan hidrogen.....	80
Lampiran 42	Interaksi ikatan hidrogen 6COX dengan senyawa S58 hasil penambatan molekul pada waktu 1500 piko detik hasil simulasi dinamika molekuler.....	81
Lampiran 43	Interaksi ikatan hidrogen 6COX dengan senyawa S58 kristal pada waktu 1500 piko detik hasil simulasi dinamika molekuler.....	81
Lampiran 44	Interaksi ikatan hidrogen 6COX dengan senyawa 2a pada waktu 1500 piko detik hasil simulasi dinamika molekuler .....	82
Lampiran 45	Interaksi ikatan hidrogen 6COX dengan senyawa 2aa pada waktu 1500 piko detik hasil simulasi dinamika molekuler .....	82
Lampiran 46	Interaksi ikatan hidrogen 6COX dengan senyawa 2i pada waktu 1500 piko detik hasil simulasi dinamika molekuler .....	83
Lampiran 47	Tabel RMSF pada residu penting hasil simulasi dinamika molekulerpada waktu 1-2 nanodetik .....	84
Lampiran 48	Grafik ikatan hidrogen 6COX dengan 2a selama simulasi dinamika molekuler pada waktu 1-2 nanodetik.....	85
Lampiran 49	Grafik ikatan hidrogen 6COX dengan 2aa selama simulasi dinamika molekuler pada waktu 1-2 nanodetik.....	85
Lampiran 50	Grafik ikatan hidrogen 6COX dengan 2i selama simulasi dinamika molekuler pada waktu 1-2 nanodetik.....	86
Lampiran 51	Grafik ikatan hidrogen 6COX dengan SC-558 kristal selama simulasi dinamika molekuler pada waktu 1-2 nanodetik .....	86

Lampiran 52 Grafik ikatan hidrogen 6COX dengan SC-558 hasil penambatan molekul selama simulasi dinamika molekuler pada waktu 1-2 nanodetik.....	87
Lampiran 53 Data ikatan hidrogen hasil simulasi dinamika molekuler pada waktu 1-2 nanodetik .....	88



# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Senyawa DuP-697 terbukti memiliki aktifitas antiinflamasi yang kuat sebelum enzim siklooksigenase-2 (COX-2) dapat diidentifikasi. Para peneliti belum dapat menjelaskan bagaimana DuP-697 dapat memberikan aktifitas antiinflamasi pada saat itu, tetapi setelah COX-2 dapat diidentifikasi maka senyawa tersebut terbukti memiliki aktifitas sebagai obat antiinflamasi yang dapat menghambat kerja dari enzim COX-2. Hal inilah yang menjadi awal dalam penemuan senyawa-senyawa baru untuk obat antiinflamasi yang memiliki mekanisme kerja dalam menghambat enzim COX-2. Hingga saat ini, lebih dari 500 senyawa penghambat COX-2 telah ditemukan dalam beberapa tahun terakhir, hal tersebut menunjukkan bahwa prospek pengembangan obat antiinflamasi sangat menjanjikan (Dannhardt & Kiefer, 2000).

Prostaglandin dan glukokortikoid merupakan senyawa *mediator* yang dapat menyebabkan terjadinya inflamasi. Obat antiinflamasi non-steroid (AINS) bekerja dengan cara menghambat produksi prostaglandin melalui penghambatan enzim siklooksigenase, sehingga banyak digunakan dalam pengobatan inflamasi secara luas. Enzim siklooksigenase dapat mengkatalisis metabolisme asam arakidonat, sehingga enzim siklooksigenase dapat mengubah asam arakidonat menjadi prostaglandin. Dua buah *isoform* dari enzim siklooksigenase telah diketahui, yaitu COX-1 yang banyak dihasilkan di berbagai jenis jaringan dan berperan dalam produksi prostaglandin; dan COX-2 yang diinduksi oleh sitokin, mitogen dan endotoksin dalam sel inflamasi yang dapat meningkatkan produksi prostaglandin selama proses inflamasi berlangsung (Kurumbail, 1996).

Inhibitor selektif COX-2 terbukti secara klinis dapat memberikan efek antiinflamasi yang memiliki efek toksik pada ginjal dan saluran pencernaan yang lebih rendah. Tetapi, senyawa tersebut mempunyai efek yang kecil sebagai anti-tromboksan sehingga dapat meningkatkan resiko timbulnya penyakit kardiovaskular seperti infark miokard (Coruzzi, Venturi, & Spaggiari, 2007). Oleh karena itu, pengembangan inhibitor COX-2 yang lebih efektif dan lebih aman

masih diperlukan (Hayun, Yanuar, Hanafi, & PWS, 2011). Senyawa kimia dengan nama 3-Fenil-2-stiril-4(3H)-kuinazolinon tersubstitusi sulfonamida atau sulfasetamida merupakan senyawa baru hasil sintesis. Beberapa senyawa diaril-4(3H)-kuinazolin tersubstitusi gugus  $\text{SO}_2\text{NH}_2$  pada salah satu cincin arilnya diprediksi akan mempunyai aktivitas inhibitor COX-2 yang baik (Hudiono dan Hayun, 2011). Berdasarkan gugus fungsi yang dimiliki senyawa tersebut, gugus diarilheterosiklik memiliki aktivitas sebagai inhibitor selektif siklooksigenase-2 (Coruzzi, Venturi, & Spaggiari, 2007; Dannhardt & Laufer, 2000).

Mekanisme interaksi antara siklooksigenase dengan berbagai molekul termasuk inhibitornya, dapat diteliti lebih lanjut melalui berbagai metode yang meliputi penelitian *in vivo*, *in vitro*, dan *in silico*. Dalam penelitian ini digunakan makromolekul COX-2 dengan identitas 6COX pada *Protein Data Bank*. 6COX merupakan salah satu tipe COX-2 yang terdapat pada mencit. Penelitian terhadap interaksi enzim dengan ligan, dalam hal ini 6COX dengan beberapa senyawa 3-Fenil-2-stiril-4(3H)-kuinazolinon tersubstitusi sulfonamida atau sulfasetamida akan lebih efisien apabila dilakukan dengan metode *in silico* dibandingkan dengan *in vitro* dan *in vivo*. Metode *in silico* yang dapat digunakan untuk menganalisis interaksi tersebut adalah penambatan molekuler (*docking*), sedangkan untuk menganalisis dinamika interaksi inhibisinya dapat digunakan simulasi dinamika molekuler.

Dewasa ini terdapat lebih dari 60 piranti lunak untuk penambatan molekuler, namun belum semua piranti lunak dapat menunjukkan kelebihan dalam segala hal. Umumnya, program melakukan pencarian konformasi ruang yang memadai dari senyawa yang ditambatkan dan menghasilkan pose-pose yang sesuai, namun dalam hal penghitungan skor masih memerlukan perbaikan. Oleh karena itu, penilaian yang benar-benar objektif sulit direalisasikan dalam membandingkan program satu dengan yang lain, karena adanya favoritisme, pemilihan data uji yang bias, dan perbedaan tingkat kemahiran penggunaan program yang berbeda. Beberapa piranti lunak yang biasa digunakan adalah: DOCK, FLEXX, Glide dan Gold (Jorgensen, 2004; Moitessier, Englebienne, Lee, Lawandi, & Corbeil, 2008; Stouten & Kroemer, 2007).

Analisis pada penambatan molekuler dapat memperlihatkan nilai kekuatan interaksi senyawa dari inhibitorynya terhadap struktur 6COX yang bersifat kaku (*rigid*). Kekakuan struktur pada proses penambatan molekuler menunjukkan bahwa 6COX tersebut dibekukan terhadap ruang dan waktu, yang merupakan keterbatasan proses tersebut. Namun pada kondisi yang sebenarnya, molekul protein memiliki torsi sehingga dia bersifat dinamis sehingga dapat bergerak, menekuk, memuai, relaksasi maupun kontraksi (Teodoro & Kavraki, 2001). Analisis penambatan molekuler belum dapat digunakan untuk mengamati kestabilan ikatan yang terjadi terhadap ruang dan waktu. Oleh karena itu, diperlukan simulasi dinamika molekuler untuk mengamati interaksi secara lebih lanjut sehingga dapat melihat kestabilan ikatan yang terjadi.

## **1.2 Tujuan Penelitian**

- 1.2.1** Memperoleh model pengikatan hasil penambatan molekuler beberapa senyawa turunan dari 3-Fenil-2-stiril-4(3H)-kuinazolinon tersubstitusi sulfonamida atau sulfasetamida terhadap siklooksigenase-2.
- 1.2.1** Memperoleh informasi ikatan siklooksigenase-2 dengan beberapa senyawa turunan dari 3-Fenil-2-stiril-4(3H)-kuinazolinon tersubstitusi sulfonamida atau sulfasetamida hasil penambatan molekuler menggunakan simulasi dinamika molekuler.

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

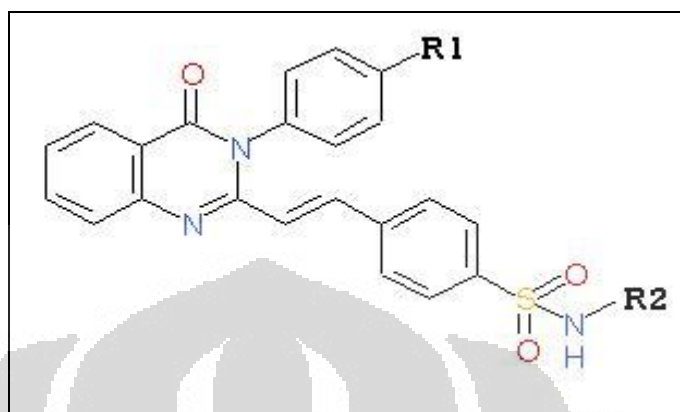
#### 2.1 3-Fenil-2-stiril-4(3H)-kuinazolinon Tersubstitusi Sulfonamida atau Sulfasetamida

Senyawa kimia dengan nama 3-Fenil-2-stiril-4(3H)-kuinazolinon tersubstitusi sulfonamida atau sulfasetamida merupakan senyawa baru hasil sintesis. Beberapa senyawa diaril-4(3H)-kuinazolin tersubstitusi gugus  $\text{SO}_2\text{NH}_2$  pada salah satu cincin arilnya diprediksi akan mempunyai aktivitas inhibitor COX-2 yang baik (Hudiono dan Hayun, 2011). Berdasarkan gugus fungsi yang dimiliki senyawa tersebut, gugus diarilheterosiklik memiliki aktivitas sebagai inhibitor selektif siklooksigenase-2 (Coruzzi, Venturi, & Spaggiari, 2007; Dannhardt & Laufer, 2000).

Sintesis 3-Fenil-2-stiril-4(3H)-kuinazolinon tersubstitusi sulfonamida atau sulfasetamida dan analognya dilakukan melalui empat tahap. Tahap 1, merefluks asam antranilat dalam anhidrida asetat untuk memperoleh 3,1-Benzoksazin-4-on. Tahap 2, memfusikan produk tahap 1 dengan anilin atau anilin tersubstitusi untuk memperoleh 2-Metil-3-fenil-4(3H)-kuinazolinon dan analognya. Tahap 3a, mensintesis 4-Sianobenzensulfonamida dari 4-Aminobenzensulfonamida berdasarkan prinsip reaksi *Sandmeyer*. Tahap 3b, mensintesis 4-Formilbenzensulfonamida dengan cara mereduksi partial 4-Sianobenzensulfonamida menggunakan Raney Nikel dalam asam formiat 75%. Tahap 4 dibagi menjadi dua tahapan yang berbeda, pertama, untuk mensintesis senyawa dengan substitusi sulfonamida, dilakukan dengan mensintesis senyawa target dengan mengkondensasi produk tahap 2 dengan produk tahap 3 (4-Formilbenzensulfonamida) dalam asam asetat glasial dengan katalis natrium asetat anhidrat; kedua, untuk mensintesis senyawa dengan substitusi sulfasetamida, dilakukan dengan mensintesis senyawa target dengan mengkondensasi produk tahap 2 dengan produk tahap 3 (4-Formilbenzensulfonamida) dalam asam asetat glasial dengan penambahan senyawa anhidrida asetat dan natrium asetat anhidrat (Hudiono & Hayun, 2011). Berikut ini rumus bangun umum dan tabel dari beberapa senyawa 3-Fenil-2-stiril-



4(3H)-kuinazolinon tersubstitusi sulfonamida atau sulfasetamida yang digunakan pada penelitian ini:

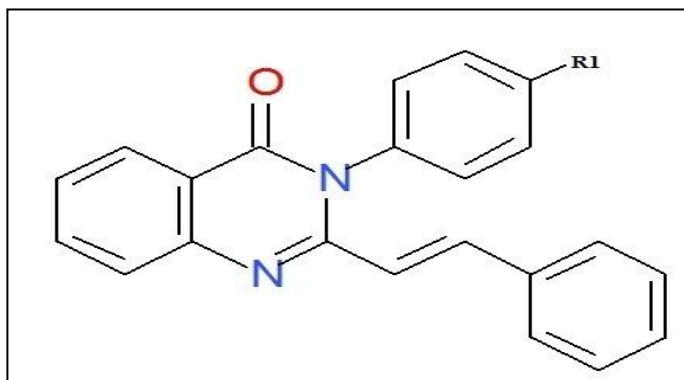


[Sumber: Hudiono & Hayun, 2011]

**Gambar 2.1.** Rumus bangun senyawa 3-Fenil-2-stiril kuinazolinon

**Tabel 2.1.** Substitusi senyawa 3-Fenil-2-stiril-4(3H)-kuinazolinon

Kode Senyawa	R1	R2	Rumus Molekul	Berat Molekul
2a	H	H	C <sub>22</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> S	403,454
2b	CH <sub>3</sub>	H	C <sub>23</sub> H <sub>19</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> S	417,480
2c	OCH <sub>3</sub>	H	C <sub>23</sub> H <sub>19</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub> S	433,480
2d	Br	H	C <sub>22</sub> H <sub>16</sub> BrN <sub>3</sub> O <sub>3</sub> S	482,350
2e	Cl	H	C <sub>22</sub> H <sub>16</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>3</sub> S	437,899
2f	(C=O)OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	C <sub>25</sub> H <sub>21</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub> S	475,516
2aa	H	(C=O)CH <sub>3</sub>	C <sub>24</sub> H <sub>19</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub> S	445,490
2ba	CH <sub>3</sub>	(C=O)CH <sub>3</sub>	C <sub>25</sub> H <sub>21</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub> S	459,517
2ca	OCH <sub>3</sub>	(C=O)CH <sub>3</sub>	C <sub>25</sub> H <sub>21</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub> S	475,516
2i	SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	Tanpa R2 dan Tanpa SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> pada gugus stiril (Gambar 2.2)	C <sub>22</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> S	403,454



**Gambar 2.2.** Rumus bangun senyawa 2i

## 2.2 Protein

Protein adalah polimer linier yang terdiri dari unit-unit monomer asam amino yang terhubung melalui ikatan peptida. Unit-unit berulang ini disebut sebagai residu asam amino. Dalam sebuah protein, terdapat residu asam amino antara 40 hingga 4000 residu yang terdiri dari dua puluh jenis penyusunnya. Protein dapat diklasifikasikan berdasarkan kelarutan, bentuk, fungsi biologi, atau struktur tiga dimensinya, tetapi klasifikasi seperti ini tidak dapat diterima secara universal. Berdasarkan bentuk keseluruhannya, protein dapat diklasifikasikan menjadi protein globular dan protein fibrosa. Protein fibrosa memiliki rantai panjang polipeptida dalam ikatan-ikatan yang tidak larut dalam air. Protein yang masuk ke dalam kelas ini diantaranya adalah keratin dan kolagen. Protein globular berbentuk struktur padat berlipat menyerupai globus atau sferiks, yang termasuk ke dalam kelas ini adalah enzim-enzim (Bruice, 2003).

Protein adalah makromolekul yang sangat berguna dalam sistem kehidupan dan memiliki fungsi yang sangat penting dalam seluruh proses biologis. Berdasarkan fungsi biologinya, protein dapat diklasifikasikan sebagai enzim (dehidrogenase, kinase), protein penyimpanan (ferritin, mioglobin), protein pengatur (protein pengikat DNA, hormon peptida), protein struktural (kolagen, proteoglikan), protein pelindung (faktor pembekuan darah, imunoglobulin), protein pengangkut (hemoglobin, lipoprotein plasma), dan protein kontraktil/motil (aktin, tubulin) (Murray, Granner, Mayes, & Rodwell, 2003).

## 2.3 Struktur Protein

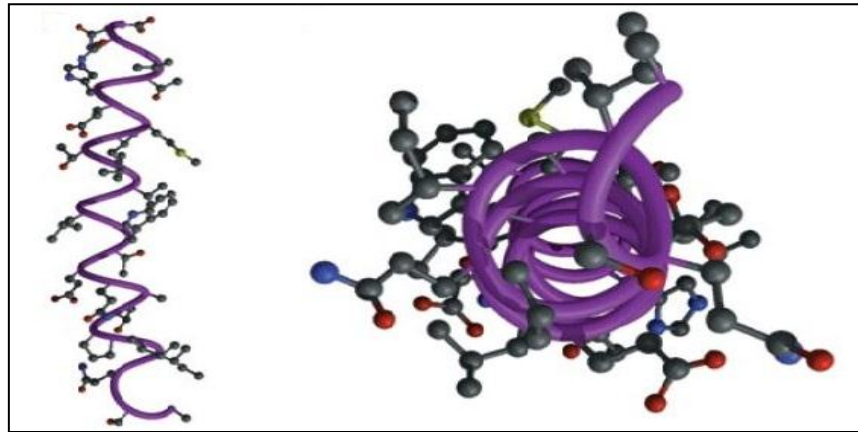
### 2.3.1 Struktur Primer

Struktur primer sebuah protein adalah susunan asam-asam amino yang disatukan oleh ikatan peptida dan mencakup lokasi setiap ikatan disulfida (Murray, Granner, Mayes, & Rodwell, 2003). Dalam protein, asam amino tersusun secara kovalen oleh ikatan peptida yang berupa interaksi amida antara grup  $\alpha$ -karboksil dari satu asam amino dan grup  $\alpha$ -amino dari asam amino lainnya. Ikatan peptida ini tidak dapat diputus dengan cara denaturasi protein seperti pemanasan atau konsentrasi urea yang tinggi. Oleh asam atau basa kuat dalam jangka panjang dan suhu tinggi, dapat memutus ikatan ini secara non-enzim (Pamela & Harvey, 1994).

### 2.3.2 Struktur Sekunder

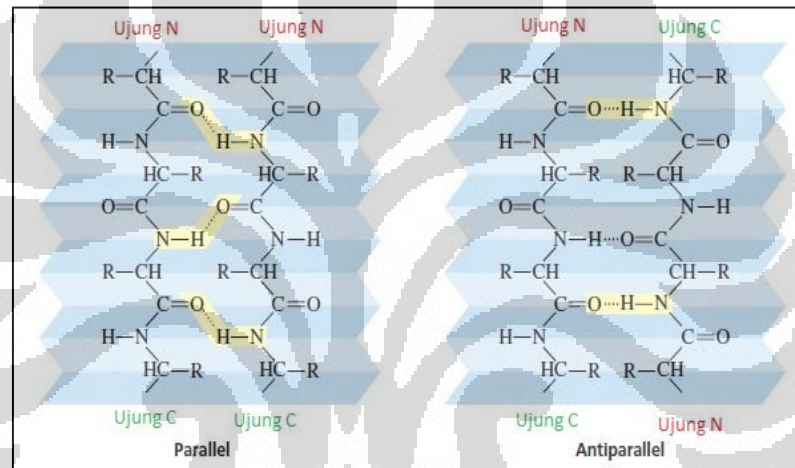
Struktur sekunder protein mencakup konformasi regular berupa heliks- $\alpha$  (Gambar 2.3), lembaran- $\beta$  dan tekukan- $\beta$  ( $\beta$ -bend) (Gambar 2.4), dan konformasi ireguler yang disebut gelung (loop) dan kumparan (coil) (Murray, Granner, Mayes, & Rodwell, 2003).

Terdapat tiga faktor yang mempengaruhi pemilihan bentuk sekunder suatu protein. Pertama adalah daerah planar setiap ikatan peptida yang membatasi konformasi yang mungkin dari rantai ikatan peptida. Kedua adalah adanya jumlah maksimum dari kelompok peptida yang tergabung oleh ikatan hidrogen. Ketiga adalah pemisahan ruang yang cukup di sekitar grup -R untuk menghindari gangguan sterik serta tolak menolak muatan yang sama (Bruice, 2003).



[Sumber: Bruice, 2003, telah diolah kembali]

**Gambar 2.3.** Struktur  $\alpha$ -heliks protein



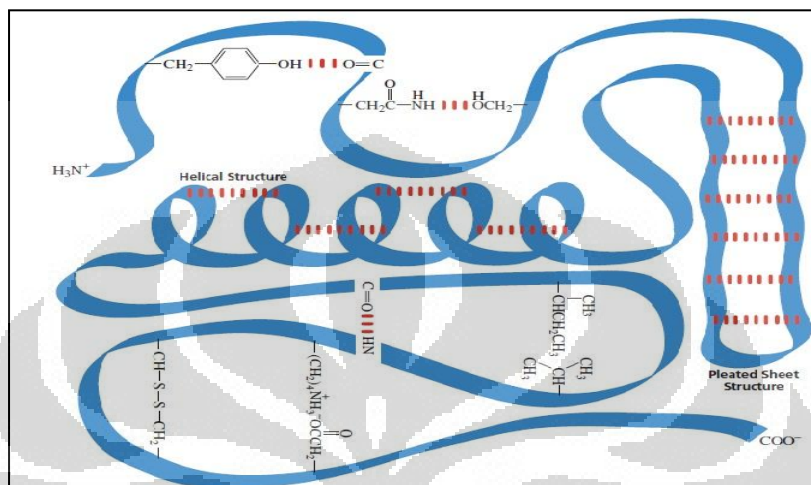
[Sumber: Bruice, 2003, telah diolah kembali]

**Gambar 2.4.** Struktur lipatan paralel dan antiparalel  $\beta$

### 2.3.3 Struktur Tersier

Struktur tersier dari sebuah protein adalah gambaran tiga dimensi dari semua atom dalam protein. Protein melipat secara spontan dalam cairan tubuh untuk memaksimalkan stabilitas protein. Ketika terjadi interaksi yang menstabilkan antara dua atom, energi bebas dilepaskan. Makin banyak energi yang dilepaskan ( $\Delta G$  makin negatif), protein tersebut makin stabil. Oleh karena itu, pelipatan protein cenderung terjadi ke dalam sebuah bentuk yang memaksimalkan jumlah interaksi penstabilan. Bentuk interaksi penstabilan protein yakni ikatan kovalen, ikatan hidrogen, interaksi elektrostatik, interaksi hidrofobik,

dan interaksi van der Waals. Ikatan kovalen yang terjadi hanya ikatan disulfida yang terbentuk ketika protein melipat. Ikatan lainnya jauh lebih lemah, tapi karena begitu banyak ikatan tersebut terjadi, ikatan-ikatan tersebut sangat penting dalam pelipatan protein (Bruice, 2003).



[Sumber: Bruice, 2003, telah diolah kembali]

**Gambar 2.5.** Struktur tersier protein

#### 2.3.4 Struktur Kuartener

Struktur kuartener sebuah protein menggambarkan bagaimana subunit-subunit tersebut tersusun dalam sebuah ruang. Protein yang mempunyai lebih dari satu rantai peptida disebut sebagai oligomer, sedangkan rantai tunggalnya disebut sebagai subunit. Subunit-subunit pada struktur kuartener sebuah protein, dihubungkan dengan interaksi-interaksi yang sama seperti rantai tunggal protein dalam struktur tiga dimensinya yakni interaksi hidrofobik, ikatan hidrogen, dan interaksi elektrostatis. Sebuah protein dengan subunit tunggal disebut sebagai monomer, dua subunit sebagai dimer, tiga subunit sebagai trimer, dan empat subunit sebagai tetramer. Protein dengan subunit yang tidak sama disebut sebagai heterooligomer (Murray, Granner, Mayes, & Rodwell, 2003).

## 2.4 Reseptor

Reseptor adalah suatu makromolekul jaringan sel hidup yang mengandung gugus fungsional atau atom-atom terorganisasi, reaktif secara kimia dan bersifat spesifik, dapat berinteraksi secara reversibel dengan molekul obat yang mengandung gugus fungsi spesifik dan menghasilkan respon biologis yang spesifik pula. Untuk dapat berinteraksi dengan reseptor spesifik, molekul obat harus mempunyai faktor sterik dan distribusi muatan yang spesifik pula (Harmita, Harahap, & Hayun, 2006).

Efek obat pada umumnya timbul karena interaksi obat dengan reseptor pada suatu sel organisme. Interaksi tersebut mengakibatkan perubahan biokimiawi dan fisiologi yang merupakan respon khusus untuk obat tersebut. Protein adalah komponen yang paling penting dalam reseptor obat. Ikatan obat-reseptor dapat berupa ikatan ion, hidrogen, hidrofobik, van der Waals, atau kovalen. Menurut teori pendudukan reseptor, intensitas efek obat berbanding lurus dengan fraksi reseptor yang diikatnya serta menjadi maksimal apabila seluruh reseptor diduduki obat. Ketika terjadi interaksi obat dengan reseptor, suatu obat dapat menjadi agonis atau antagonis. Agonis ialah obat yang bila menduduki reseptor menimbulkan efek farmakologi secara intrinsik. Sedangkan antagonis ialah obat yang menduduki reseptor yang sama tetapi secara intrinsik tidak mampu menimbulkan efek farmakologi. Oleh karena itu, suatu antagonis dapat menghalangi ikatan agonis dengan reseptor sehingga kerja agonis terhambat (Setiawati, SB, & Suyatna, 2005).

## 2.5 Siklooksigenase-2

Siklooksigenase (COX) adalah enzim yang dibutuhkan untuk mengubah asam arakidonat menjadi prostaglandin, hal ini telah ditemukan lebih dari dua puluh tahun. Dua buah isoform siklooksigenase telah diketahui dan direferensikan dengan nama COX-1 dan COX-2. Dalam berbagai kondisi, COX-1 umumnya terbentuk secara terus menerus (contohnya pada mukosa lambung), sedangkan COX-2 umumnya terinduksi (contohnya pada jaringan inflamasi).

Proses kimiawi dari jalur sintesis prostaglandin telah diketahui secara luas. Prostaglandin dibentuk dari siklasi oksidatif dari 5 atom C pusat dalam suatu asam lemak tak jenuh yang memiliki 20 atom karbon. Enzim regulator utama adalah

COX yang dapat mengkatalisis perubahan asam arakidonat menjadi prostaglandin (PG)  $G_2$  dan  $PGH_2$ .  $PGH_2$  diubah lagi menjadi bermacam eikosanoid termasuk  $PGE_2$ ,  $PGD_2$ ,  $PGF_2\alpha$  dan tromboxan ( $TX$ )  $A_2$  (Dubois et al., 1998).

Pada penelitian ini digunakan enzim siklooksigenase-2 dengan identitas 6COX yang terdapat pada *Protein Data Bank* (PDB). 6COX merupakan jenis enzim prostaglandin endoperoksida H<sub>2</sub>-sintase-2. Struktur kristal 6COX merupakan struktur siklooksigenase yang berasal dari spesies *Mus musculus* (mencit). Tiga buah sekuens asam amino dari enzim COX-1 dan empat buah sekuens asam amino dari enzim COX-2 telah diketahui. Perbandingan antara COX-1 dengan COX-2 memiliki kemiripan identitas sekuens hingga 60%. Peptida sinyal dari COX-1 memiliki tujuh residu lebih panjang dibandingkan dengan COX-2. Ujung dari atom N pada COX-1 memiliki 8 residu, sedangkan pada ujung C dari COX-2 memiliki 18 residu. Perbedaan lain dari COX-2 yaitu memiliki prolin setelah ILE 106 pada percabangan heliks membran C dan D. Kelebihan dari residu tersebut tidak menyebabkan gangguan yang berarti pada topologi dari enzim COX (Kurumbail et al., 1996).

Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan penambatan molekuler senyawa SC-558 terhadap COX-2 menggunakan piranti lunak PLANTS. Hasil penelitian tersebut menunjukkan pada cincin bromofenil dari SC-558 memiliki interaksi hidrofobik dengan Phe381, Tyr385, Trp387, Phe518, Met522, Val523, Ala527 dan Ser530; gugus trifluorometil berinteraksi dengan Met113, Val116, Arg120, Val349, Tyr355, Leu359 dan Leu531; gugus benzensulfonamida berinteraksi dengan His90, Gln192, Leu352, dan Ser353 (Hayun, Yanuar, Hanafi, & PWS, 2011).

## 2.6 Inhibitor Siklooksigenase-2

Sebelum enzim siklooksigenase-2 diidentifikasi, telah dilaporkan bahwa senyawa DuP-697 memiliki aktifitas antiinflamasi yang kuat. Ketika hal tersebut ditemukan, belum dapat dijelaskan bagaimana DuP-697 dapat memberikan aktifitas antiinflamasi, tetapi setelah siklooksigenase-2 telah diidentifikasi maka senyawa tersebut terbukti memiliki aktifitas yang dapat menghambat enzim siklooksigenase-2. Hal inilah yang menjadi awal untuk penemuan senyawa-

senyawa baru untuk obat antiinflamasi yang kerjanya menghambat enzim siklooksigenase-2.

Struktur kimia dari senyawa yang dapat menghambat siklooksigenase-2 berbentuk heterogen. Senyawa baru yang ditemukan sebagai penghambat siklooksigenase-2 memiliki sifat yang berlawanan dengan obat AINS klasik, yaitu dengan mempengaruhi afinitas siklooksigenase-2 dengan orientasi yang berbeda pada enzim tanpa jembatan garam di kanal hidrofobik enzim tersebut. Senyawa penghambat siklooksigenase-2 secara selektif dibagi menjadi beberapa kelas: Diaril- atau aril-heteroaril-eter, *Vicinal diaril heterocycles*, senyawa antioksidan, dan turunan 1,2-Diariletilen (Dannhardt & Kiefer, 2000)

## 2.7 Bioinformatika

Bioinformatika didefinisikan sebagai aplikasi dari alat komputasi dan analisis untuk menginterpretasikan data biologi (Bayat, 2002). Basis data, penyajajaran sekuen, prediksi struktur untuk meramalkan bentuk struktur protein maupun struktur sekunder RNA, analisis filogenetik dan analisis ekspresi gen merupakan contoh dari bidang bioinformatika (Wink, 2006). Ilmu bioinformatika ini didukung dengan perkembangan internet. Internet dibutuhkan untuk mempermudah akses basis data bioinformatika yang bermacam-macam (Tsai, 2002).

## 2.8 Penambatan Molekuler

Proses pencarian ligan yang cocok pada sisi aktif protein, baik secara geometrik maupun dengan energi, secara komputasional disebut penambatan molekuler (Teodoro, Phillips Jr, dan Kavraki, 2001). Penambatan molekuler dapat diaplikasikan pada beberapa tingkat dari proses pengembangan obat untuk tiga tujuan utama, yaitu: memprediksi model ikatan dari ligan yang diketahui aktif; pencarian ligan baru menggunakan virtual screening; dan memprediksi afinitas ikatan dari beberapa seri senyawa aktif (Leach, Schoicet, & Peishoff, 2006).

Penambatan molekuler digunakan dengan program-program seperti Autodock, Dock dan FlexX. Autodock menggunakan model kinematika untuk ligan dimana ligan tersebut memulai proses pencarian secara acak diluar sisi aktif



dan dengan menyelidiki nilai translasi, rotasi dan derajat bebas internal, hingga secepatnya mencapai konformasi tertentu (Teodoro, Phillips Jr, & Kavraki, 2001).

Proses penambatan molekuler menyangkut prediksi konformasi ligan dan orientasi (penentuan posisi) dengan sisi penambatan yang ditargetkan. Aspek teoritis mengenai penambatan molekuler dengan memprediksikan posisi suatu ligan [I] pada suatu makromolekul protein [E] di bawah kondisi ekuilibrium (*conformational search*). Dari dua variable tersebut, akan dikalkulasikan (*scoring function*) nilai dari kompleks  $[E+I] = [EI]$  yang dikenal sebagai energi bebas ikatan ( $\Delta G$ ). Energi bebas ikatan berkaitan dengan afinitas ligan terhadap protein (Kitchen, Decornez, Furr, & Bajorath, 2004).

Menurut tinjauan termodinamika, interaksi ligan dengan reseptor dapat terjadi apabila kompleks ligan-reseptor yang dihasilkan memiliki energi yang lebih rendah. Perubahan energi bebas ( $\Delta G$ ) yang menyertai interaksi ligan dengan reseptor digambarkan melalui persamaan Gibbs:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (2.1)$$

Berdasarkan persamaan tersebut, perubahan energi bebas dipengaruhi oleh perubahan entalpi ( $\Delta H$ ) dan perubahan entropi ( $\Delta S$ ). Perubahan entalpi berhubungan dengan gaya molekuler yang terlibat dalam interaksi ligan dengan reseptor seperti ikatan hidrogen, interaksi ionik, interaksi aromatik dan interaksi van der Waals. Perubahan entropi berhubungan dengan perubahan derajat bebas dari suatu sistem molekuler. Pada perubahan entropi tanda negatif menunjukkan bahwa interaksi ligan dengan reseptor pada umumnya diikuti dengan peningkatan entropi (Kitchen, Decornez, Furr, & Bajorath, 2004).

## 2.9 Dinamika Molekuler

Simulasi secara virtual dapat digunakan untuk memahami sifat dari suatu molekul berdasarkan struktur dan interaksi mikroskopik antar molekul. Dua teknik utama dalam simulasi molekul secara virtual adalah dinamika molekuler (*molecular dynamics*) dan Monte Carlo (MC), selain itu terdapat juga teknik yang merupakan gabungan dari dua teknik tersebut. Keunggulan dari teknik dinamika molekuler yaitu dapat memberikan rute terhadap sifat dinamika dari suatu sistem seperti koefisien transport, respon terhadap gangguan yang bergantung pada

waktu dan sifat rheologi. Simulasi dinamika molekuler secara virtual dapat melakukan pekerjaan yang mustahil untuk dilakukan secara nyata di laboratorium seperti bekerja pada suhu atau tekanan yang ekstrim (Allen, 2004).

Teknik dinamika molekuler dapat menyelesaikan persamaan pergerakan Newton pada sistem atomik:  $F_i = m_i a_i$ , dimana  $F$  adalah gaya,  $m$  adalah massa dan  $a$  adalah percepatan. Gaya pada tiap atom dikalkulasi dari perubahan energi potensial (berdasarkan hubungan mekanika molekuler pada umumnya) diantara posisi saat ini dan posisi baru:  $F_i = -(dE/dr)_i$ , dimana  $r$  adalah jarak. Gaya atom dan massa kemudian dipakai untuk menentukan posisi atom dari seri irama waktu yang sangat kecil:  $F_i = m_i (d^2r_i/dt^2)$ , dimana  $t$  adalah waktu. Ini memberikan perubahan trayek posisi atom bergantung waktu dengan menghitung percepatan  $a_i$  dari gaya dan massa, lalu kecepatan  $v_i$  dari  $a = dv/dt$  dan akhirnya menentukan posisi dari  $v_i = dr/dt$  (Kithcen, Decornez, Furr, & Bajorath, 2004).

Hingga kini, simulasi dinamika molekuler terus berkembang. Simulasi dinamika molekuler digunakan untuk memperoleh informasi mengenai pergerakan suatu perubahan konformasi struktur suatu protein maupun makromolekul biologis lainnya tiap satuan waktu. Melalui simulasi dinamika molekuler ini pula, informasi kinetika dan termodinamika suatu protein dapat ditelusuri (Karplus & Kuriyan, 2005).

## 2.10 AutoDock

AutoDock merupakan aplikasi penambatan molekuler yang efektif yang secara cepat dan akurat dapat memprediksi konformasi dan energi dari suatu ikatan antara ligan dan target makromolekul. AutoDock mengkombinasikan *force field* energi bebas empiris dengan *Lamarckian genetic algorithm* sehingga menghasilkan prediksi cepat dari konformasi ikatan dengan asosiasi prediksi energi bebas. Untuk memungkinkan pencarian konformasi, AutoDock membutuhkan ruang pencarian dalam sistem koordinat di mana posisi ligan dianggap akan terikat.

AutoDock terdiri dari dua program utama, yaitu Autodock dan Autogrid. Autodock melakukan penambatan molekuler ligan protein target dengan set grid yang telah terdeskripsi. Pendeskripsian ini dilakukan sebelumnya oleh Autogrid.

Untuk menyederhanakan persiapan penambatan, pengguna dapat memvisualisasikan sisi aktif dan volume ruang pencarian melalui aplikasi AutoDock Tools. AutoDock Tools juga menyediakan beberapa metode baru dalam menampilkan kluster, bentuk, serta analisis hasil penambatan. AutoDock 4 dan AutoDock Tools dapat diperoleh secara mudah dan bebas biaya di bawah lisensi dari GPL. Berkas yang dapat diunduh terdiri dari satu paket MGLTools (Morris et al., 2009).

### 2.11 Bank Data Protein (*Protein Data Bank*)

*Research Collaboratory for Structural Bioinformatics Protein Data Bank* (RCSB PDB) menawarkan data struktur makromolekul biologis, yang sekarang berjumlah lebih dari 32.500. Terdapat tiga komponen dalam situs ini: *Structural Genomics Initiatives* yang berisi informasi serta penghubung pada masing-masing situs struktur genom, termasuk laporan proses, daftar target, status target, target-target dalam PDB, serta redundansi sekuens; *Targets* menyediakan informasi kombinasi target, protokol dan data lain yang menyangkut determinasi struktur protein; dan *Structures* yang menyediakan penilaian proses struktur genom berdasarkan cakupan fungsi genom manusia oleh struktur-struktur dalam PDB, target struktur genom, dan model homologi. RCSB PDB dioperasikan oleh Rutgers, The State University of New Jersey, dan San Diego Supercomputer Center di University of California (Kouranov et al., 2006).

### 2.12 MarvinSketch

MarvinSketch adalah suatu program yang dapat digunakan untuk menggambar struktur kimia dan reaksi kimia. Piranti lunak ini dapat diunduh secara gratis melalui alamat situs <http://www.chemaxon.com/products/marvin/marvinsketch/>. MarvinSketch dapat digunakan untuk memberikan muatan, valensi, radikal dan isotop kepada setiap atom. MarvinSketch juga dapat digunakan untuk penambahan hidrogen serta membuat gambar struktur 2 dimensi dan 3 dimensi (ChemAxon, 2008).

### 2.13 OpenBabel

OpenBabel adalah suatu program yang dapat digunakan untuk mengubah format suatu berkas yang digunakan dalam memproses data kimia komputasi, dinamika molekuler, penambatan molekuler dan hal yang berkaitan dengan kimia komputasi lainnya. OpenBabel juga dapat digunakan untuk penambahan hidrogen, membuat struktur 3 dimensi, mengkalkulasi muatan parsial serta pemisahan duplikasi senyawa dari suatu set data.

OpenBabel mencakup dua komponen yaitu *command-line* dan *C++ library*. *Command-line* digunakan untuk mengubah format antara beberapa format *file* kimia. *C++ library* mencakup semua kode untuk mengubah format *file-file* tersebut, sehingga memungkinkan penggunaannya pada berbagai sistem operasi (Windows, MacOS X, Linux) dan platform (32-bit, 64-bit) (Hutchinson et al., 2011).

### 2.14 VegaZZ

VegaZZ adalah suatu proyek kimia komputasi yang dikembangkan untuk menciptakan suatu software untuk *molecular modeling* dengan antarmuka grafik 3 dimensi. VegaZZ pertama kali digunakan untuk menghubungkan perangkat lunak sejenis dan mempermudah proses pembelajaran dari penambatan molekuler (Pedretti, Mazzolari, & Vistoli, 2004).

VegaZZ dilengkapi dengan fitur-fitur seperti tampilan grafis untuk pengguna, perangkat lunak untuk mengedit, dan perangkat lunak untuk melakukan kalkulasi terhadap molekul. Saat ini, VegaZZ dapat digunakan untuk menyelesaikan permasalahan kimia komputasi baik untuk desain obat, optimasi ligan, homologi modelling dari suatu protein, serta kalkulasi penggambaran QSAR (*Quantitative Structural Analysis Relationship*) molekuler.

### 2.15 PyMOL

PyMOL merupakan salah satu perangkat lunak visualisasi yang digunakan untuk memahami suatu struktur dan dapat menghasilkan gambar tiga dimensi yang berkualitas dari suatu molekul kecil maupun makromolekul seperti protein.

Visualisasi sangatlah penting untuk lebih memahami dan mendalami struktur suatu molekul dan PyMOL merupakan salah satu perangkat lunak visualisasi yang mampu menyajikan tampilan struktur dalam beberapa warna.

Beberapa tahun terakhir ini, sistem grafik molekuler PyMOL telah berkembang menjadi penampil molekuler yang kuat dengan adanya kekurangan dari tampilan 3D sehingga dapat digunakan untuk beberapa perangkat lunak dan aplikasi. Perangkat lunak ini dikomersilkan oleh DeLano Scientific LLC (Delano, 2004)

### 2.16 UCSF Chimera (*University of California at San Francisco Chimera*)

UCSF (*University of California at San Francisco*) Chimera adalah suatu perangkat lunak yang dikembangkan secara luas untuk visualisasi interaktif dan analisis struktur molekuler dan data terkait, termasuk pemetaan densitas, pengaturan supramolekuler, penataan sekuens, trajektori, dan penggabungan konformasi. Gambar dan animasi dengan kualitas tinggi dapat dihasilkan oleh perangkat lunak ini.

UCSF Chimera merupakan dokumentasi yang lengkap dan beberapa tutorial, dapat diunduh bebas biaya untuk kepentingan akademis, pemerintahan, nirlaba, ataupun penggunaan pribadi. Chimera dikembangkan oleh *Resource for Biocomputing, Visualization, and Informatics* (Pettersen et al., 2004).

### 2.17 Cygwin

Cygwin adalah perangkat lunak yang menyediakan lingkungan pemrograman seperti Linux untuk Windows. Cygwin mencakup DLL (*Data Link Layer*) yang bertindak seperti lapisan pengemulasi sebagai POSIX (*Portable Operating System Interface*), fungsi pemanggilan sistem dan peralatan seperti pada Linux.

Cygwin dapat bekerja dengan semua versi Windows, mulai dari Windows 95. Perbedaan antara Cygwin dengan Linux adalah penggunaan *newlib* bukan *glibc* serta *defaultnya*. Pada Cygwin digunakan *ash* sedangkan pada kebanyakan Linux menggunakan default *bash* (Cygwin User's Guide, 1998).

### 2.18 PuTTY

PuTTY adalah perangkat lunak yang dapat bekerja sebagai klien untuk SSH dan Telnet. PuTTY merupakan perangkat lunak *open source* yang dikembangkan oleh Simon Tatham untuk sistem operasi Windows dan dapat diunduh secara gratis melalui situs <http://www.chiark.greenend.org.uk/~sgtatham/putty/> (Tatham, Dunn, Harris, & Nevins, 2010).

### 2.19 VMD

VMD adalah perangkat lunak grafis yang dibuat untuk visualisasi dan analisis struktur molekuler, khususnya biopolimer seperti protein dan asam nukleat. VMD dapat menampilkan beberapa struktur secara bersamaan menggunakan atau tanpa menggunakan seleksi, serta menggunakan metode pewarnaan dan penampilan yang bervariasi. VMD dapat digunakan untuk analisis suatu sistem hasil simulasi dinamika molekuler diantaranya dapat digunakan untuk menghitung ikatan hidrogen, menghitung RMSD dan energi NAMD (Humphrey, Dalke, & Schuelten, 1996).

### 2.20 Amber

Amber adalah program yang dibuat untuk melakukan simulasi dinamika molekuler, terutama pada biomolekul. Kata amber juga sering digunakan pada pemberian *force fields* terhadap file dari senyawa yang akan digunakan untuk simulasi dinamika molekuler. Pada program Amber terdapat AmberTools yang merupakan gabungan dari beberapa program dibawah lisensi dari GPL. Pada penelitian ini, beberapa piranti lunak dari AmberTools yang digunakan adalah antechamber, tLeap, sander, dan ptraj (Case et al., 2010).

## BAB 3

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Komputer Departemen Farmasi FMIPA UI, Februari-Mei 2012.

#### 3.2 Peralatan

##### 3.2.1 Piranti Keras

Perangkat keras berupa komputer dengan spesifikasi RAM (*Random Access Memory*) 4 gigabyte, *Quad Core processor* (Intel® Core™, Amerika), *Graphic Card* NVIDIA Ge Force GTX 295 (Amerika), dan sistem operasi Microsoft Windows 7 Professional 64-bit (Microsoft, Amerika). Kelengkapan komputer yakni monitor (AOC, China), CPU (*Central Processing Unit*) Asus (Amerika), *mouse* (Simbadda, Indonesia; Logitech, China) dan *keyboard* (Simbadda, Indonesia; Logitech, China). Komputer terhubung dengan koneksi internet dan UPS (*Uninterrupted Power Supply*), *Cluster 32 CPU* dengan spesifikasi RAM (*Random Access Memory*) 4 gigabyte, *Quad Core processor* (Intel® Core™, Amerika) yang terhubung dengan jaringan intranet.

##### 3.2.2 Piranti lunak

Perangkat lunak berupa PyMOL (DeLano Scientific LLC, Italia), Open Babel (Hutchison, et al.), UCSF Chimera (Resource for Biocomputing, Visualization, and Informatic, University of California San Fransisco, Amerika), MarvinSketch (ChemAxon), AutoDock Tools (The Scripps Research Institute, Amerika), AutoDock 4.0 (The Scripps Research Institute, Amerika), Vega ZZ (The Drug Design Laboratory, University of Milan, Italia), Amber 11 (University of California, San Francisco), AmberTools 1.5 (University of California, San Francisco), PuTTY, VMD (University of Illinois), dan Cygwin (Red Hat Inc., Amerika).

### 3.3 Bahan

#### 3.3.1 Struktur Tiga Dimensi Siklooksigenase-2

Struktur tiga dimensi siklooksigenase-2 yang diunduh dari Bank Data Protein dengan identitas 6COX (Kurumbail *et al.*, 1996) yang berasal dari organisme *Mus musculus*.

#### 3.3.2 Struktur Tiga Dimensi dari Turunan 3-Fenil-2-stiril-4(3H)-kuinazolinon Tersubstitusi Sulfonamida atau Sulfasetamida

Struktur 2 dimensi sepuluh senyawa turunan 3-Fenil-2-stiril-4(3H)-kuinazolinon tersubstitusi sulfonamida atau sulfasetamida dibuat dengan program MarvinSketch.

#### 3.3.3 Struktur Tiga Dimensi dari Kontrol Positif Selektif dan Non-Selektif Inhibitor Siklooksigenase-2

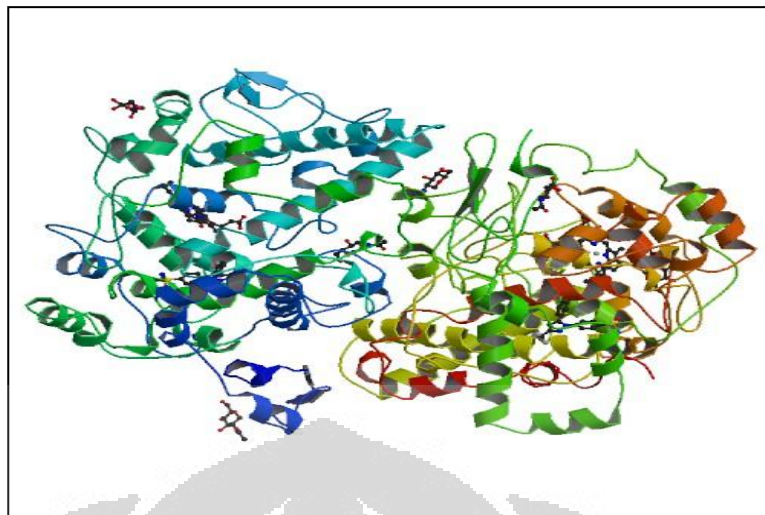
Obat-obat yang mempunyai aktivitas sebagai inhibitor siklooksigenase secara selektif dan non-selektif digunakan sebagai bahan pembanding kontrol positif untuk melihat potensi aktivitas inhibitor siklooksigenase bahan uji. Inhibitor siklooksigenase yang digunakan sebagai kontrol positif adalah SC-558 (sangat selektif), selekoksib (selektif) dan aspirin (non-selektif). Pembuatan struktur tiga dimensi menggunakan SC-558, selekoksib dan aspirin dibuat dengan program MarvinSketch.

### 3.4 Cara Kerja Penambatan Molekuler

#### 3.4.1 Pengunduhan Makromolekul Siklooksigenase-2

Makromolekul siklooksigenase-2 diunduh dari Bank Data Protein. Identitas dari siklooksigenase-2 yang digunakan pada penelitian ini adalah 6-COX (Kurumbail *et al.*, 1996). Data makromolekul disimpan sebagai bentuk . pdb.





[Sumber: Kurumbail, *et al.*, 1996, telah diolah kembali]

**Gambar 3.1.** Struktur 3 dimensi makromolekul 6-COX

#### 3.4.2 Pembuatan Struktur Tiga Dimensi dari Turunan 3-Fenil-2-stiril-4(3H)-kuinazolinon Tersubstitusi Sulfonamida atau Sulfasetamida Serta Kontrol Positif

Struktur 2 dimensi sepuluh senyawa turunan 3-Fenil-2-stiril-4(3H)-kuinazolinon tersubstitusi sulfonamida atau sulfasetamida serta kontrol positif yaitu SC-558, selekoksib dan aspirin dibuat dengan program MarvinSketch, kemudian diubah menjadi struktur tiga dimensi dengan penambahan hidrogen pada tiap-tiap ujung atom. Data dari gambar tersebut kemudian disimpan dalam bentuk .mol, lalu diubah formatnya menggunakan program Open Babel ke dalam bentuk .pdb.

#### 3.4.3 Pemisahan Rantai Makromolekul Siklooksigenase-2 untuk Target Penambatan

Makromolekul dipisahkan dari pelarut dan ligan atau residu non-standar. Pemisahan makromolekul dari molekul yang tidak diperlukan, dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak UCSF Chimera. Hasil pemisahan tersebut akan digunakan sebagai target penambatan molekuler. Hasil pemisahan disimpan dalam bentuk .pdb.

#### 3.4.4 Optimasi Struktur Tiga Dimensi Ligan

Setelah pembuatan menggunakan perangkat lunak MarvinSketch, ligan kemudian dioptimasi untuk persiapan penambatan. Optimasi struktur tiga dimensi ligan dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak Antechamber, tLeap dan Sander. Optimasi tersebut meliputi: penambahan atom hidrogen, perbaikan muatan dengan menambahkan muatan AM1-BCC dan penerapan minimisasi. Minimisasi dilakukan dengan metode *steepest descent* dan *conjugate gradients* sebanyak masing-masing 250 kali yang diatur dalam berkas `min.in` (Lampiran 28). Pembuatan parameter topologi dan koordinat dari ligan dilakukan setelah proses minimisasi, kemudian data dari ligan hasil minimisasi tersebut disimpan sebagai bentuk `.pdb`.

#### 3.4.5 Penambatan Molekuler

Penambatan molekuler dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak AutoDock 4.0 (AD4) dan AutoDock Tools (ADT). Struktur makromolekul dan ligan yang telah dioptimasi secara terpisah disimpan dalam satu *folder* yang sama. Untuk penambatan molekuler dengan perangkat lunak AutoDock 4.0 dilakukan melalui perangkat lunak AutoDock Tools (ADT) terlebih dahulu dengan tahapan sebagai berikut:

- a. Berkas `.pdbqt` makromolekul dibuat dari berkas `.pdb` melalui ADT.
- b. Berkas `.pdbqt` ligan dibuat dari berkas `.pdb` melalui ADT.
- c. Berkas `.pdbqt` dari makromolekul dan ligan digunakan sebagai *input* ke dalam AutoDock Tools.
- d. *Grid Parameter File* dipersiapkan dengan melalui tahapan pemilihan *map type* dengan memilih ligan dan penentuan *grid box* yaitu batasan ruang penambatan pada makromolekul. Pengaturan *grid box* diatur pada koordinat (X, Y, Z) 23,049; 23,526; 46,984 dengan volume kotak 40 x 40 x 40 Å dengan tiap irisan 0,375 Å. Tahap ini kemudian disimpan dalam bentuk berkas `.gpf` (*grid parameter file*).

- e. Proses kalkulasi *autogrid* dijalankan menggunakan perangkat lunak Cygwin dengan perintah: `autogrid4 -p file.gpf -l file.glg &`. Hasil kalkulasi ini akan disimpan dalam berkas `.glg`.
- f. *Dock Parameter File* dipersiapkan yaitu meliputi tahap penentuan molekul rigid (makromolekul), pemilihan ligan, penentuan parameter pencarian dan parameter penambatan. Parameter penambatan diatur sebelum melakukan penambatan. Opsi *Lamarckian GA* dipilih dan *Number of GA Runs* diubah menjadi 100. Parameter lain menggunakan pengaturan *default* penambatan AutoDock. Tahap ini kemudian disimpan dalam bentuk berkas `.dpf`.
- g. Proses kalkulasi autodock atau penambatan dilakukan menggunakan Cygwin dengan perintah: `autodock4 -p file.dpf -l file.dlg &`. Hasil penambatan ini akan disimpan dalam berkas `.dlg`.

#### 3.4.6 Evaluasi Penilaian (*Scoring*) Hasil Penambatan Molekul

Hasil penambatan divisualisasi menggunakan PyMOL. Parameter hasil penambatan dianalisis terhadap parameter penambatan yang telah ditentukan sebelumnya. Melalui AutoDock Tools, histogram tiap kluster diamati.  $\Delta G$  dan persentase kluster terbanyak hasil penambatan dapat diamati dari *histogram* dengan membuka file `.dlg` menggunakan *wordpad*. Nilai  $K_i$  penambatan terbaik dan kluster terbaik juga dapat diamati pada berkas tersebut.

### 3.5 Cara Kerja Simulasi Dinamika Molekuler

#### 3.5.1 Persiapan Makromolekul Siklooksigenase-2 Hasil Penambatan Molekul

Berkas `.dlg` hasil kalkulasi penambatan molekuler dibuka dengan menggunakan piranti lunak VegaZZ. Ketika tampilan antarmuka VegaZZ terbuka, opsi *lowest* dipilih, kemudian frame dengan energi paling rendah yang sudah dipilih tersebut disimpan sebagai `.pdb`. Berkas `.pdb` yang dihasilkan oleh VegaZZ kemudian dibuka dengan UCSF Chimera untuk memisahkan ligand dari makromolekul. Lalu berkas makromolekul hasil pemisahan harus dilakukan

perubahan pada isinya, yaitu dengan cara penghilangan informasi *CONNECT* dan penambahan kata *TER* sebelum kata *END* pada akhir berkas .pdb yang diketik dan dihapus secara manual dengan editor teks.

### 3.5.2 Persiapan Ligan Hasil Penambatan Molekul

Berkas .pdb ligan hasil pemisahan dengan piranti lunak UCSF Chimera juga harus dilakukan perubahan pada isinya, yaitu dengan cara penghilangan informasi *CONNECT* dan penambahan kata *TER* sebelum kata *END* pada akhir berkas .pdb. Berkas yang telah diubah kemudian diubah formatnya menjadi .mol2 dengan menggunakan piranti lunak OpenBabel. Pada antarmuka OpenBabel, *opsi Add hydrogens (make explicit)* dipilih, kemudian pilih format .mol2 sebagai *output file*, lalu pilih opsi *convert*.

### 3.5.3 Pembuatan Topologi dan Koordinat Ligan, Makromolekul, dan Kompleks Ligan-Makromolekul

Topologi dan koordinat yang akan dibuat adalah: ligan, makromolekul, kompleks ligan-makromolekul dalam suasana vakum dan kompleks ligan-makromolekul dalam pelarut air (eksplisit). Berkas .pdb makromolekul dan .mol2 ligan yang telah diolah sebelumnya disimpan dalam satu *folder* yang sama. Struktur ligan harus diberikan penambahan muatan AM1-BCC menggunakan piranti lunak Antechamber yang diakses melalui PuTTY dengan perintah: `antechamber -i file.mol2 -fi file.mol2 -o file.mol2 -fo mol2 -c bcc -s 2 &`. Berkas keluaran .mol2 hasil dari antechamber harus dibuat berkas .frcmod dengan perintah: `parmchk -i file.mol2 -f mol2 -o file.frcmod`. Setelah semua berkas disiapkan, pembuatan topologi dan koordinat dengan piranti lunak tLeap dapat dilakukan dengan pembuatan berkas leap.in (Lampiran 29) terlebih dahulu, kemudian dijalankan dengan perintah: `tLeap -f leap.in`.

Pada tahap ini, dilakukan penambahan *counter-ions* (Ion Na<sup>+</sup>) untuk membuat sistem menjadi netral, kemudian seluruh sistem dilarutkan pada air

TIP3P dengan kotak oktahedron dengan jarak kotak minimal 12 Å (Desheng, Jian, Yuanhua, Wei, Huai, & Mingjuan, 2011).

#### 3.5.4 Minimisasi Kompleks Ligan-Makromolekul Dalam Pelarut Air

Untuk memudahkan pengaturan dalam penyimpanan file hasil minimasi, ekuilibrasi dan produksi, maka harus dibuatkan *folder* pada masing-masing langkah. Berkas topologi dan koordinat yang digunakan adalah kompleks ligan-makromolekul dalam pelarut air. Minimisasi dilakukan dalam dua tahapan. Pada tahapan pertama dilakukan minimisasi terhadap molekul air saja. Berkas *min.in* (Lampiran 30) harus disiapkan terlebih dahulu. Proses minimisasi dilakukan dengan piranti lunak *sander* yang dapat diakses dengan PuTTY dengan perintah: `sander -O -i min.in -p file.prmtop -c file.inpcrd -r file.rst -o file.out -ref file.inpcrd &`. Perintah `-p` ditujukan untuk *input file* topologi kompleks ligan-makromolekul dalam pelarut air, `-c` ditujukan untuk *input file* koordinat kompleks ligan-makromolekul dalam pelarut air, `-r` ditujukan untuk *output restart file* hasil minimisasi, `-o` ditujukan untuk *output file* yang berisi hasil perhitungan minimisasi, `-ref` ditujukan untuk *input file* koordinat kompleks ligan-makromolekul dalam pelarut air (Lee, Deng, Briggs, & Duan, 2008).

Minimisasi tahapan kedua dilakukan terhadap seluruh sistem yaitu ligan dan molekul air. Berkas *min\_all.in* (Lampiran 31) harus disiapkan terlebih dahulu. Proses minimisasi dilakukan dengan piranti lunak *sander* yang dapat diakses dengan PuTTY dengan perintah: `sander -O -i min.in -p file.prmtop -c file.inpcrd -r file.rst -o file.out &` (Lee, Deng, Briggs, & Duan, 2008).

#### 3.5.5 Ekuilibrasi Kompleks Ligan-Makromolekul Dalam Pelarut Air

Tahap ekuilibrasi dilakukan dalam 3 tahapan. Pada tahapan pertama, dilakukan ekuilibrasi untuk membuat volume yang konstan dan menaikkan temperatur dari 0 K menjadi 300 K. Parameter lainnya diatur pada berkas *eq1.in* (Lampiran 32). Proses ekuilibrasi dilakukan dengan piranti lunak *sander* yang

dapat diakses dengan PuTTY dengan perintah: `sander -0 -i eq1.in -p file.prmtop -c file.inpcrd -r file.rst -x file.mdcrd -o file.out` & (Lee, Deng, Briggs, & Duan, 2008).

Ekuilibrasi tahap kedua dan ketiga dilakukan untuk membuat seluruh sistem berada pada temperatur dan tekanan yang konstan. Parameter untuk ekuilibrasi tahapan kedua dan ketiga diatur pada berkas `eq2.in` (Lampiran 33) dan `eq3.in` (Lampiran 34).

Sebelum memulai produksi, ada empat parameter yang harus dilakukan pengecekan untuk mengetahui apakah sistem sudah siap untuk dilakukan produksi dinamika molekuler atau belum. Keempat parameter tersebut adalah temperatur, berat jenis, energi potensial dan RMSD (*Root Mean Square Deviation*). Temperatur harus berada pada angka yang konstan, yaitu sekitar 300 K. Kemudian, berat jenis juga harus berada pada angka yang konstan, yaitu sekitar 1 gram/ml. Untuk melihat data temperatur dan berat jenis dapat dilakukan dengan cara ekstraksi data `.out` hasil ekuilibrasi melalui piranti lunak PuTTY dengan perintah: `grep TEMP file.out | awk '{print $6,$9}' > file.dat`. Data hasil perintah tersebut dikonversi menjadi berkas *Microsoft Excel*, kemudian dibuat plot temperatur atau berat jenis terhadap waktu (Lee, Deng, Briggs, & Duan, 2008).

Pengecekan RMSD dapat dilakukan dengan piranti lunak `ptraj`. Berkas `ptraj.in` (Lampiran 39) harus dibuat terlebih dahulu untuk mengatur parameter yang diinginkan. Kemudian proses kalkulasi dilakukan dengan perintah: `ptraj .prmtop ptraj.in`. (Lee, Deng, Briggs, & Duan, 2008).

### 3.5.6 Produksi Simulasi Dinamika Molekuler

Berkas `.rst` hasil ekuilibrasi tahapan ketiga dijadikan sebagai *restart file* pertama untuk memulai produksi. Pada penelitian ini ingin dihasilkan simulasi dinamika molekuler selama 2 nanodetik. Oleh karena itu, produksi dilakukan selama 10 kali dimana satu kali produksi akan menghasilkan simulasi selama 200 pikodetik. Berkas `prod.in` (Lampiran 35) harus dibuat terlebih dahulu untuk pengaturan parameter produksi.

Dalam simulasi dinamika molekuler, prosedur *SHAKE* dan *Particle Mesh Ewald* (PME) dengan cut-off 12 Å diterapkan agar sistem membatasi interaksi elektrostatik diluar 12 Å. Selama proses pengambilan sampel, koordinat disimpan setiap 0,5 nanodetik dari waktu simulasi (Desheng, Jian, Yuanhua, Wei, Huai, & Mingjuan, 2011).

Proses produksi dilakukan dengan piranti lunak sander yang dapat diakses dengan PuTTY. Untuk menjalankan produksi, diperlukan berkas `run_md.x` (Lampiran 37) yang berfungsi menjalankan produksi secara otomatis selama 10 kali. Kemudian juga diperlukan berkas `do.run` (Lampiran 38) untuk menjalankan berkas `run_md.x` dan membuat *log file* produksi. Penjalanan produksi dilakukan dengan perintah: `. do.run`.

### 3.5.7 Analisis Hasil Simulasi Dinamika Molekuler

Setelah diperoleh hasil simulasi dinamika molekuler terhadap kompleks 6COX dengan ligan 2a, 2aa, 2i dan SC-558, dilakukan analisis terhadap:

#### (1) Energi Potensial

Energi potensial dievaluasi untuk menentukan waktu untuk mengevaluasi RMSF. Data energi potensial diperoleh dari berkas `.out` dengan perintah: `grep EPtr file.out | awk '{print $9}' > file.dat`. Data hasil dari perintah tersebut dikonversi menjadi berkas *Microsoft Excel*, kemudian dibuat plot energi potensial terhadap waktu.

#### (2) RMSD (*Root Mean Squae Deviation*) atau akar kuadrat rata-rata deviasi

Data RMSD dari sistem diperoleh dengan membuat berkas `ptraj.in` (Lampiran 39) terlebih dahulu, kemudian dijalankan dengan perintah: `ptraj file.prmtop ptraj.in`. Data hasil dari perintah tersebut dikonversi menjadi berkas *Microsoft Excel*, kemudian dibuat plot RMSD terhadap waktu. Evaluasi RMSD dilakukan untuk membandingkan konformasi struktur pada waktu tertentu terhadap konformasi semula pada awal simulasi.

(3) RMSF (*Root Mean Square Fluctuation*) atau akar kuadrat rata-rata fluktuasi Data RMSF dari sistem diperoleh dengan membuat berkas `ptraj_rmsf.in` (Lampiran 40) terlebih dahulu, kemudian dijalankan dengan perintah: `ptraj file.prmtop file.in`. Data hasil dari perintah tersebut dikonversi menjadi berkas *Microsoft Excel*, kemudian dibuat plot RMSF terhadap residu. Evaluasi RMSF dilakukan untuk menganalisis fleksibilitas protein pada sistem selama simulasi berlangsung.

(4) Kondisi Ikatan Hidrogen

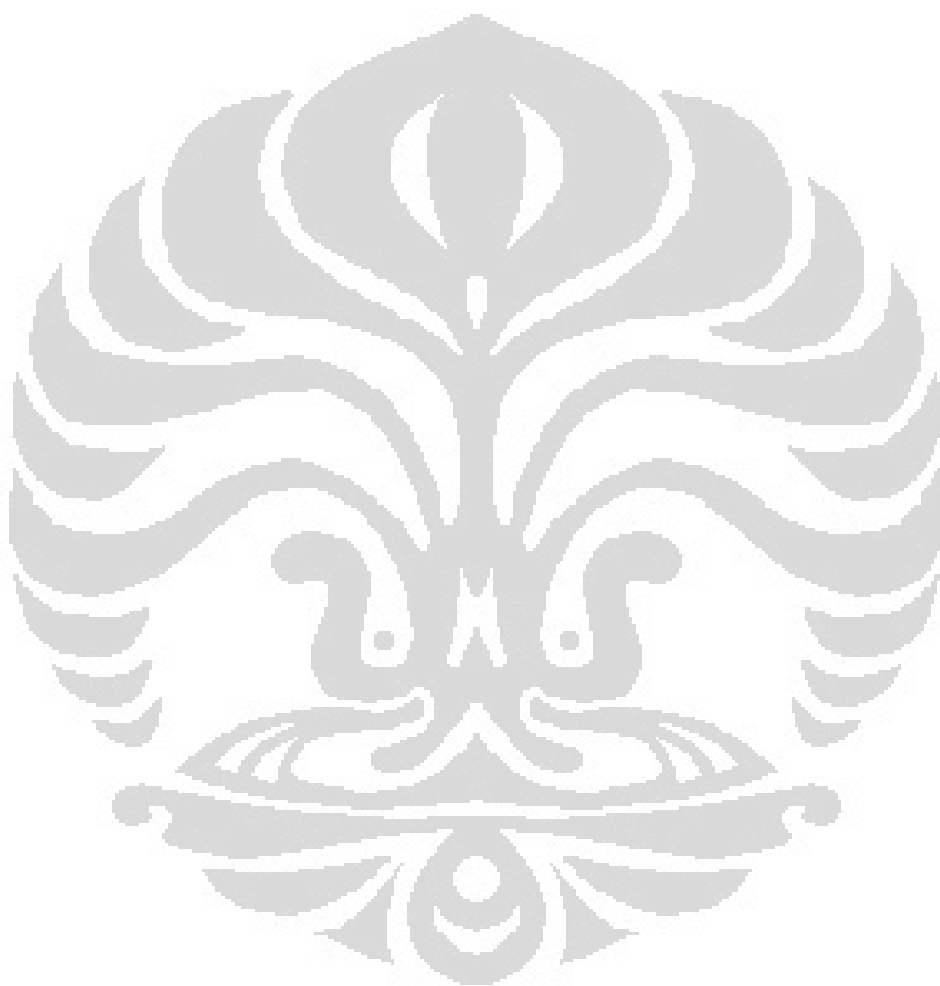
Data kondisi ikatan hidrogen dari sistem diperoleh dengan menggunakan program VMD. Ikatan hidrogen dianalisis dari *trajectory* hasil simulasi selama 2 nanodetik. Berkas `HB_bond_angle.tcl` yang dibuat sendiri sebelumnya harus disiapkan dalam satu folder yang sama dengan berkas `file.prmtop` dan `file.mdcrd`. Berkas `HB_bond_angle.tcl` digunakan untuk menghitung jarak ikatan hidrogen, sudut ikatan hidrogen dan jumlah ikatan hidrogen.

Pada tampilan antarmuka program VMD, pertama-tama berkas `file.prmtop` dibuka, kemudian berkas `file.mdcrd` yang merupakan *trajectory* gabungan dibuka. Setelah muncul gambar pada *OpenGL Display*, opsi `extension > analysis > hydrogen bonds` dipilih, kemudian opsi `unique hbond` dipilih. Pengaturan jarak antara donor dan akseptor ikatan hidrogen diatur pada 3.0 Å, kemudian `angle cutoff` diatur pada 60°. Tahapan ini ditujukan untuk melakukan penapisan terhadap ikatan hidrogen yang memiliki jumlah ikatan di atas 30%.

Setelah dilakukan penapisan, selanjutnya dilakukan penghitungan jumlah dan jarak ikatan hidrogen antara residu dari makromolekul dan atom dari ligan yang spesifik. Berkas `file.prmtop` dibuka, kemudian berkas `file.mdcrd` yang merupakan *trajectory* gabungan dibuka. Setelah muncul gambar pada *OpenGL Display*, opsi `extension > TKconsole` dipilih. Setelah keluar tampilan antarmuka dari *TKconsole*, maka direktori harus ditujukan ke dalam direktori yang berisi berkas `file.prmtop` dan `file.mdcrd`. Kemudian nomor residu dan nomor



atom spesifik dari makromolekul dan ligan yang ingin dilihat ikatan hidrogennya harus didefinisikan. Berkas keluaran yang dihasilkan berupa file-details.dat.



## BAB 4

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Penambatan Molekuler

##### 4.1.1 Pengunduhan Makromolekul Siklooksigenase-2

Makromolekul siklooksigenase-2 diunduh struktur kristalnya dari *Protein Data Bank*. Data yang diunduh merupakan isozim dari COX-2 dengan identitas 6COX yang terdapat pada spesies *Mus musculus* (mencit). Protein ini terdiri dari 2 rantai, yaitu rantai A dan B, serta pada masing-masing rantai memiliki 584 residu asam amino yang berikatan dengan NAG, HEM, dan SC-558. Kristal 6COX memiliki resolusi 2,80 Å dan menempati volume sebesar 181,17 x 132,81 x 122,74 Å.

##### 4.1.2 Pembuatan Struktur Tiga Dimensi dari Turunan 3-Fenil-2-stiril-4(3H)-kuinazolinon Tersubstitusi Sulfonamida atau Sulfasetamida serta Kontrol Positif

Gambar struktur tiga dimensi dari setiap ligan hasil dari program MarvinSketch disimpan dalam bentuk .mol, kemudian diubah formatnya menggunakan program OpenBabel ke dalam bentuk .pdb.

##### 4.1.3 Pemisahan Rantai Makromolekul Siklooksigenase-2 untuk Target Penambatan

Struktur 6COX memiliki 2 rantai homodimer, yaitu rantai A dan B. Pada penelitian ini digunakan rantai A untuk penambatan molekuler dan simulasi dinamika molekuler. Sebelum dipisahkan, rantai A dari makromolekul 6COX dibersihkan dari molekul pelarut yakni air. Setelah itu dibersihkan dari struktur ligan yang ditambatkan yaitu NAG, HEM dan S58.

#### 4.1.4 Optimasi Struktur Tiga Dimensi Ligan

Optimasi ligan untuk penambahan hidrogen dilakukan pada saat menggambar dengan perangkat lunak MarvinSketch, kemudian penambahan muatan AM1-BCC dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak Antechamber. Lalu ligan diminimisasi dengan perangkat lunak Sander dengan metode *steepest descent* dan *conjugate gradients* sebanyak masing-masing 250 kali.

#### 4.1.5 Penambatan Molekuler

AutoDock Tools digunakan untuk penentuan ukuran *gridbox* dan parameternya, kemudian kalkulasi autogrid4 menghasilkan parameter *mapping*. Tiap ligan berdasarkan keberadaan atom-atomnya, dihasilkan *map* aromatis (A), karbon (C), hidrogen (HD), nitrogen (N), nitrogen aromatis (NA), oksigen aromatis (OA), belerang (S), klor (Cl), bromium (Br) tergantung ligan yang digunakan, serta mempunyai *map* elektrosatik (e) dan desolvasi (d). Semua jenis berkas pemetaan (*mapping*) memiliki ekstensi berkas .map. Selain pemetaan, hasil *grid* juga menghasilkan berkas dengan ekstensi .glg.

Parameter yang digunakan pada penambatan molekul dibuat dengan AutoDock Tools dengan ekstensi .gpf dan .dpf. Parameter *gridbox* diatur pada koordinat (X, Y, Z) 23,049; 23,526; 46,984 dengan volume kotak 40 x 40 x 40 Å dengan tiap irisan 0,375 Å. Kemudian parameter *Number of GA Runs* diubah menjadi 100 dengan kalkulasi sebanyak 2.500.000 kali. Penentuan parameter ini sudah dilakukan validasi sebelumnya dengan membandingkan hasil penambatan SC-558 hasil penggambaran MarvinSketch dengan makromolekul 6COX pada *gridbox* yang berbeda-beda, yakni pada 40 x 40 x 40 Å, 50 x 50 x 50 Å dan 60 x 60 x 60 Å. Hasil penambatan molekul pada tiap *gridbox* menghasilkan RMSD yang dibandingkan dengan SC-558 kristal dengan nilai yaitu 0,327 (*gridbox* 40 x 40 x 40 Å), 0,338 (*gridbox* 50 x 50 x 50 Å) dan 0,331 (*gridbox* 60 x 60 x 60 Å). Karena hasil RMSD pada *gridbox* 40 x 40 x 40 Å menghasilkan RMSD paling kecil, maka parameter *gridbox* 40 x 40 x 40 Å dipilih sebagai parameter penambatan molekul.

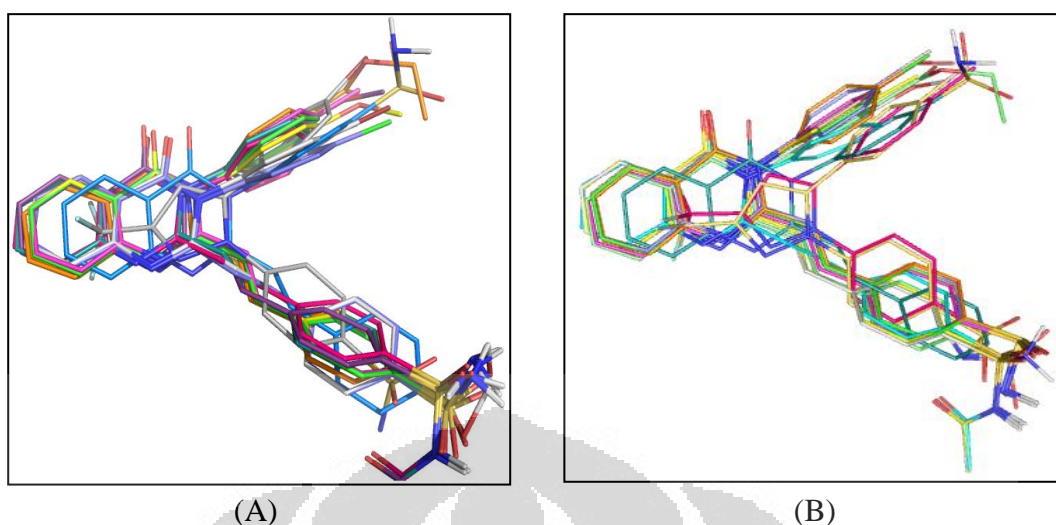
Parameter penambatan molekul disimpan dalam bentuk berkas berekstensi .dpf. Setelah itu, kalkulasi autodock4 dijalankan. Kalkulasi ini akan menghasilkan berkas dengan ekstensi .dlg.

Penambatan dilakukan tiga kali untuk masing-masing senyawa dan kontrol positif. Hasil penambatan ( $\Delta G$  dan  $K_i$ ) dapat dilihat pada lampiran 7. Selain  $\Delta G$  dan  $K_i$ , melalui metode penambatan juga dapat diamati interaksi ligan antara senyawa dan makromolekul. Visualisasi hasil penambatan dan interaksinya dapat diamati pada lampiran.

Pada penelitian ini, peneliti melakukan perbandingan hasil penambatan molekul antara protein yang tidak ditambahkan hidrogen dengan protein yang ditambahkan hidrogen. Hasil dari penambatan molekul yaitu tidak adanya perbedaan pada pose ligan (Gambar 4.1), perbedaan hanya terdapat pada energi bebas dan  $K_i$  yang tidak terlalu jauh antara hasil penambatan terhadap makromolekul yang tidak ditambahkan hidrogen dan makromolekul yang ditambahkan hidrogen, tabel dapat dilihat pada tabel 4.1.

**Tabel 4.1.** Perbandingan hasil penambatan molekul terhadap 6COX dengan hidrogen dan tanpa hidrogen

Senyawa	6COX tanpa hidrogen		6COX dengan hidrogen	
	$\Delta G$ (kkal/mol)	$K_i$ (nM)	$\Delta G$ (kkal/mol)	$K_i$ (nM)
<b>2a</b>	$-9,22 \pm 0,005$	$187,4 \pm 8,24$	-8,39	712,83
<b>2b</b>	$-9,79 \pm 0,008$	$66,2 \pm 4,04$	-8,86	322,02
<b>2c</b>	$-9,57 \pm 0,045$	$94,93 \pm 2,84$	-8,79	360,81
<b>2d</b>	$-10,93 \pm 0,081$	$10,34 \pm 0,60$	-9,73	360,81
<b>2e</b>	$-10,92 \pm 0,005$	$9,99 \pm 0,08$	-9,95	51,07
<b>2f</b>	$-10,68 \pm 0,098$	$25,98 \pm 10,61$	-9,21	177,56
<b>2i</b>	$-11,33 \pm 0,005$	$4,90 \pm 0,02$	-10,56	18,2
<b>2aa</b>	$-6,48 \pm 0,041$	$17,37 \times 10^3 \pm 0,88$	-5,87	$50,01 \times 10^3$
<b>2ba</b>	$-6,98 \pm 0,072$	$7,63 \times 10^3 \pm 0,95$	-6,22	$21,36 \times 10^3$
<b>2ca</b>	$-6,87 \pm 0,035$	$9,10 \times 10^3 \pm 0,55$	-6,01	$39,22 \times 10^3$
<b>Aspirin</b>	$-4,92 \pm 0,19$	$256,15 \times 10^3 \pm 76,94$	-4,9	$254,69 \times 10^3$
<b>Selekoksib</b>	$-10,70 \pm 0,005$	$14,23 \pm 0,07$	-10	47,15
<b>SC-558</b>	$-10,89 \pm 0,005$	$10,3 \pm 0,06$	-10,13	37,59



Keterangan : (A) 6COX tanpa hidrogen  
(B) 6COX dengan hidrogen

**Gambar 4.1.** Perbandingan visualisasi stuktur tiga dimensi ligan hasil penambatan molekul terhadap 6COX

#### 4.1.6 Evaluasi Penilaian (*Scoring*) Hasil Penambatan Molekul

Peringkat senyawa-senyawa yang diuji berdasarkan rata-ran  $\Delta G$  *best cluster* terendah adalah 2i, 2d, 2e, 2f, 2b, 2c, 2a, 2ba, 2ca, dan terakhir 2aa. Sedangkan berdasarkan rata-ran  $\Delta G$  *best docking* terendah adalah 2i, 2d, 2e, 2f, 2b, 2c, 2a, 2ba, 2ca dan terakhir 2aa. Peringkat berdasarkan rata-ran  $K_i$  *best cluster* terendah adalah 2i, 2e, 2d, 2f, 2b, 2c, 2a, 2ba, 2ca, dan terakhir 2aa. Sedangkan berdasarkan rata-ran  $K_i$  *best docking* terendah adalah 2i, 2e, 2d, 2f, 2b, 2c, 2a, 2ba, 2ca dan terakhir 2aa.

Hasil penambatan pada rantai A dari makromolekul 6COX menunjukkan hasil yang memiliki kluster baik untuk senyawa 2a, 2b, 2c, 2d, 2e, dan 2i. Sedangkan hasil yang divergen didapatkan dari senyawa 2a, 2c, 2d, 2f, 2i, 2aa, dan 2ca. Untuk senyawa 2b, 2e, dan 2ba didapatkan hasil konvergen yaitu hasil penambatannya memiliki *best cluster* (kluster terbaik) yang juga merupakan *best docking* (penambatan terbaik). Apabila penyebaran data divergen, diambil hasil dari hasil *best docking* dan *best cluster*.

Nilai  $\Delta G$  dan  $K_i$  terendah dimiliki oleh senyawa 2i. Bahkan senyawa 2i memiliki  $\Delta G$  yang lebih tinggi dibandingkan SC-558 yaitu -11,33 kkal/mol, sedangkan nilai  $\Delta G$  dari SC-558 adalah -10,90 kkal/mol. Nilai  $K_i$  dari senyawa 2i dan SC-558 secara berturut-turut adalah 4,9 nM dan 10,23 nM. Data tersebut

**Universitas Indonesia**

menunjukkan bahwa senyawa 2i merupakan inhibitor yang sangat selektif terhadap COX-2, bahkan lebih selektif dibandingkan dengan SC-558.

Senyawa 2i mempunyai topologi yang berbeda dengan senyawa-senyawa lainnya, senyawa ini memiliki substitusi gugus sulfonamida pada posisi R1 dan tidak memiliki substitusi gugus sulfonamida atau sulfasetamida pada gugusan stiril. Hal ini menyebabkan senyawa 2i mempunyai aktifitas penghambatan terhadap COX-2 yang paling selektif dibandingkan senyawa lainnya.

Senyawa 2e dan 2d memiliki nilai  $\Delta G$  dan  $K_i$  yang dekat dengan senyawa SC-558. Nilai  $\Delta G$  dari senyawa 2e, 2d dan SC-558 secara berturut-turut adalah -10,92 kkal/mol, -10,93 kkal/mol dan -10,90 kkal/mol. Nilai  $K_i$  dari senyawa 2e, 2d dan SC-558 secara berturut-turut adalah 9,93 nM, 10,34 nM dan 4,9 nM. Data tersebut menunjukkan bahwa senyawa 2e dan 2d diprediksi mempunyai aktifitas sebagai inhibitor yang sangat selektif terhadap COX-2 yang hampir sama dengan senyawa SC-558 yang disebabkan oleh substitusi gugus Cl dan Br pada posisi R1 dan substitusi gugus sulfonamida pada R2.

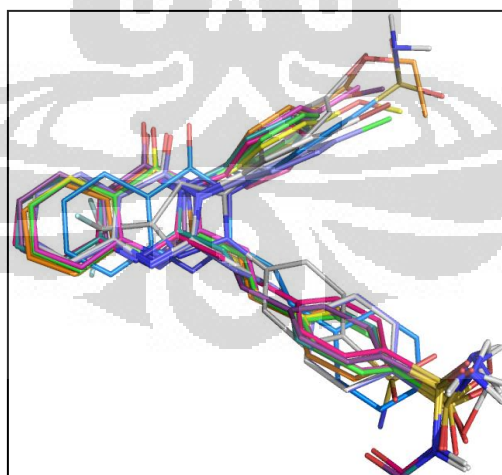
Senyawa 2f, 2b, 2c dan 2a memiliki nilai  $\Delta G$  dan  $K_i$  yang dekat dengan senyawa selekoksib yang merupakan kontrol positif inhibitor selektif terhadap COX-2. Nilai  $\Delta G$  dari senyawa 2f, 2b, 2c, 2a dan selekoksib secara berturut-turut adalah -10,68 kkal/mol, -9,79 kkal/mol, 9,57 kkal/mol, -9,22 kkal/mol dan -10,71 kkal/mol. Nilai  $K_i$  dari senyawa 2f, 2b, 2c, 2a dan selekoksib secara berturut-turut adalah 25,98 nM, 66,22 nM, 94,93 nM, 187,4 nM dan 14,17 nM. Data tersebut menunjukkan bahwa senyawa 2f, 2b, 2c dan 2a diprediksi mempunyai aktifitas sebagai inhibitor selektif terhadap COX-2.

Senyawa 2aa, 2ba dan 2ca memiliki nilai  $\Delta G$  dan  $K_i$  yang dekat dengan aspirin. Nilai  $\Delta G$  dari senyawa 2aa, 2ba, 2ca dan aspirin secara berturut-turut adalah -6,48 kkal/mol, -6,98 kkal/mol, -6,87 kkal/mol dan -4,82 kkal/mol. Nilai  $K_i$  dari senyawa 2aa, 2ba, 2ca dan aspirin secara berturut-turut adalah 17,37  $\mu$ M, 7,63  $\mu$ M, 9,10  $\mu$ M dan 291,3  $\mu$ M. Data tersebut menunjukkan bahwa senyawa 2aa, 2ba dan 2ca diprediksi merupakan inhibitor yang kurang selektif terhadap COX-2 yang disebabkan oleh substitusi gugus sulfasetamida pada posisi R2.

**Tabel 4.2.** Pengelompokkan ligan berdasarkan tingkat selektifannya dalam menghambat COX-2

Sangat selektif	Selektif	Non-selektif
SC-558 ( $\Delta G$ -10,89 kkal/mol)	Selekoksisib ( $\Delta G$ -10,70 kkal/mol)	Aspirin ( $\Delta G$ -4,92 kkal/mol)
2i ( $\Delta G$ -11,33 kkal/mol)	2f ( $\Delta G$ -10,89 kkal/mol)	2aa ( $\Delta G$ -6,48 kkal/mol)
2e ( $\Delta G$ -10,92 kkal/mol)	2b ( $\Delta G$ -9,79 kkal/mol)	2ba ( $\Delta G$ -6,98 kkal/mol)
2d ( $\Delta G$ -10,93 kkal/mol)	2c ( $\Delta G$ -9,57 kkal/mol)	2ca ( $\Delta G$ -6,87 kkal/mol)
	2a ( $\Delta G$ -9,22 kkal/mol)	

Pose hasil dari penambatan molekul pada semua senyawa mempunyai pose yang mirip dengan senyawa SC-558 (Gambar 4.2). Analisis dengan AutoDock Tools menunjukkan adanya kontak reseptor dengan ligan pada residu Ala 516, Phe 518, Ser 353, Gly 526, Leu 531, Val 116, Leu 352, Tyr 355, Val 523, Ala 527, Leu 359, Val 349, Arg 513 dan His 90. Residu-residu tersebut penting karena berikatan dengan hampir semua senyawa-senyawa yang diuji. Sedangkan residu lainnya seperti Gln 192, Ile 517, Trp 387, Met 522, Leu 384, Met 113 dan Tyr 385 hanya berikatan dengan beberapa senyawa uji. Tabel lengkap interaksi antara senyawa dengan residu asam amino dapat dilihat pada lampiran 10.



[Sumber: Olahan penulis dengan PyMOL]

**Gambar 4.2.** Visualisasi struktur tiga dimensi ligan hasil penambatan molekul dengan AutoDock

Senyawa 2a, 2aa, 2i hasil penambatan molekul dipilih sebagai ligan untuk simulasi dinamika molekuler. Dasar pemilihan senyawa tersebut adalah ingin

**Universitas Indonesia**

mengetahui pengaruh perbedaan gugus fungsi terhadap dinamika inhibisinya seperti pada senyawa 2a yang memiliki gugus sulfonamida pada posisi R2, pada senyawa 2i yang memiliki gugus sulfonamida pada posisi R1 dan pada senyawa 2aa yang memiliki gugus sulfasetamida pada posisi R2.

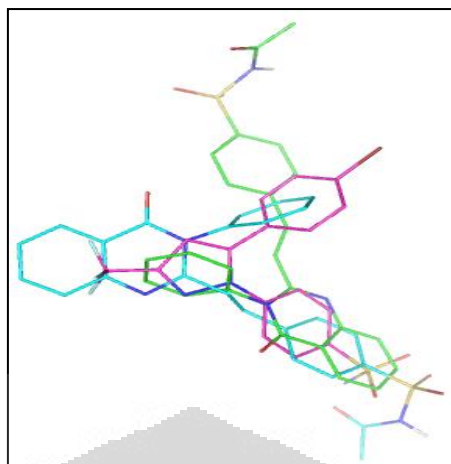
## 4.2 Simulasi Dinamika Molekuler

### 4.2.1 Persiapan Makromolekul Siklooksigenase-2 Hasil Penambatan Molekul

Makromolekul yang digunakan untuk simulasi dinamika molekuler hanya terdiri dari rantai A COX-2. Berkas .pdb hasil pengolahan dari program VegaZZ dan Chimera harus dilakukan perubahan pada isinya, yaitu dengan cara penghilangan informasi *CONNECT* dan penambahan kata *TER* sebelum kata *END* pada akhir berkas .pdb. Penghilangan informasi *CONNECT* dilakukan karena program tLeap pada AmberTools tidak dapat membaca informasi tersebut. Penambahan kata *TER* sebelum kata *END* dilakukan untuk memberi informasi atom terakhir (*terminal*) dari makromolekul tersebut.

Untuk senyawa 2aa, dipilih kompleks ligan dan makromolekul hasil penambatan molekul pada klaster peringkat kedua ( $\Delta G$  -6,50 kkal/mol), karena pada klaster peringkat pertama ( $\Delta G$  -6,67 kkal/mol), *pose* (Gambar 4.3) yang dihasilkan tidak sesuai dengan kristal senyawa SC-558





[Sumber: Olahan penulis dengan PyMOL]

Keterangan : *2aa best docking* (hijau); *2aa best cluster* (biru); *SC-558 kristal* (merah)

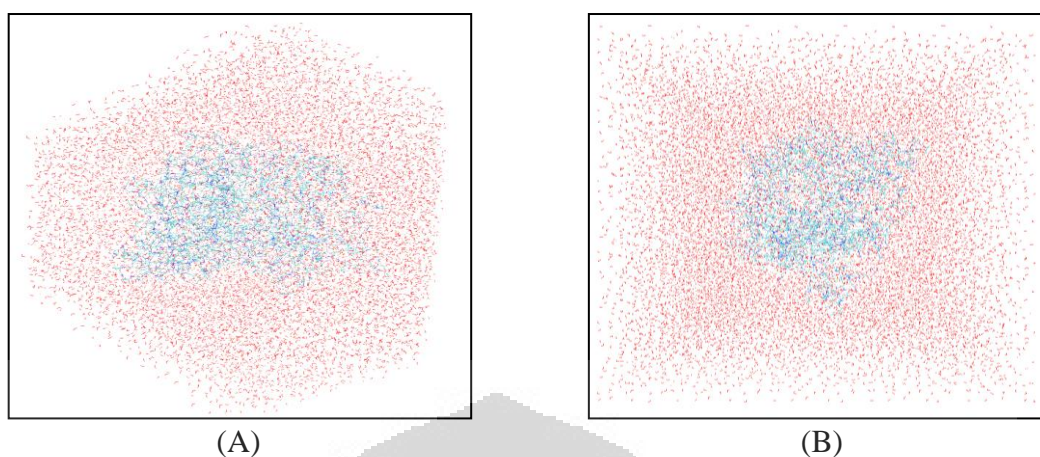
**Gambar 4.3.** Visualisasi stuktur tiga dimensi *2aa best cluster* dan *best docking* hasil penambatan molekul

#### 4.2.2 Persiapan Ligan Hasil Penambatan Molekul

Pada ligan harus dilakukan perubahan pada isi berkas dengan cara yang sama seperti pada poin 4.2.1. Berkas .pdb harus diubah menjadi format .mol2 dengan program OpenBabel karena program Amber dapat membaca format .mol2. Pada penelitian ini digunakan senyawa kristal SC-558 yang diunduh dari *Protein Data Bank* sebagai kontrol positif selain senyawa SC-558 hasil penambatan molekul dengan program AutoDock.

#### 4.2.3 Pembuatan Topologi dan Koordinat Ligan, Makromolekul, dan Kompleks Ligan-Makromolekul

Pada tahap ini topologi dan koordinat yang dibuat adalah: ligan, makromolekul, kompleks ligan-makromolekul dalam suasana vakum dan kompleks ligan-makromolekul dalam pelarut air (eksplisit). Pada pembuatan topologi dan koordinat dari kompleks ligan-makromolekul dilakukan penetralkan dengan penambahan ion  $\text{Na}^+$  dilakukan karena sistem memiliki muatan -3 sebelum dinetralkan. Dasar pemilihan pelarut air dengan kotak oktahedron untuk sistem yang terlarut adalah agar waktu simulasi yang dibutuhkan lebih singkat dibandingkan dengan pelarut berbentuk kotak.



Keterangan : (A) Pelarut air berbentuk kotak oktahedron  
(B) Pelarut air berbentuk kotak

**Gambar 4.4.** Visualisasi kompleks ligan-makromolekul dalam pelarut air

#### 4.2.4 Minimisasi Kompleks Ligan-Makromolekul Dalam Pelarut Air

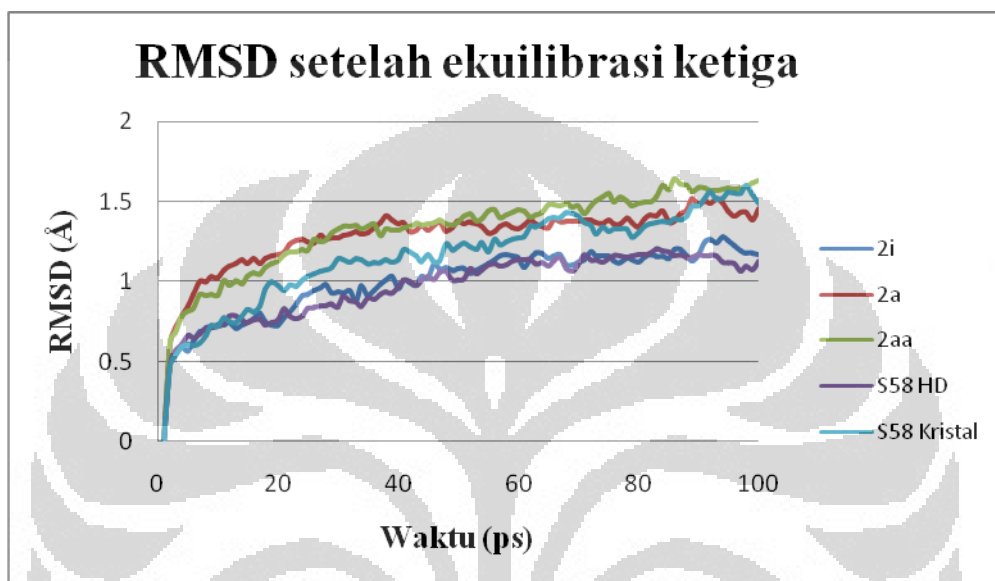
Minimisasi tahap pertama dilakukan untuk merelaksasi pelarut air saja dengan menahan pergerakan protein dari residu 33-583 (Lampiran 30). Minimisasi tahap kedua dilakukan untuk merelaksasi seluruh sistem yang meliputi ligan, makromolekul dan air (Lampiran 31). Tujuan relaksasi sistem adalah untuk menghindari kontak antar atom yang tidak diinginkan (Lee, Deng, Briggs, & Duan, 2008).

#### 4.2.5 Ekuilibrisasi Kompleks Ligan-Makromolekul Dalam Pelarut Air

Tahapan ekuilibrisasi dilakukan untuk membuat sistem berada pada temperatur, volume dan tekanan yang konstan. Ada empat parameter yang harus diamati setelah ekuilibrisasi dilakukan, keempat parameter tersebut adalah temperatur, berat jenis, energi potensial dan RMSD (*Root Mean Square Deviation*). Ekuilibrisasi tahap pertama dilakukan pada waktu 0-10 pikodetik, ekuilibrisasi tahap kedua dilakukan pada waktu 10-20 pikodetik dan ekuilibrisasi tahap ketiga dilakukan pada waktu 20-120 pikodetik.

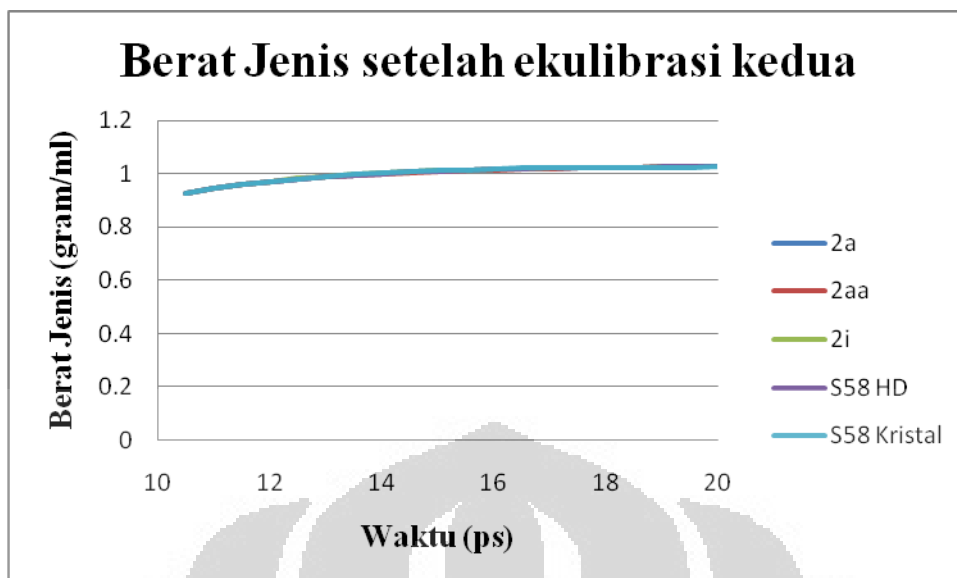
Hasil ekuilibrisasi tahap ketiga menunjukkan bahwa sistem dari semua senyawa telah memiliki temperatur yang konstan yaitu sekitar 300 K. Selain itu,

sistem juga telah memiliki berat jenis yang konstan yaitu sekitar 0,8-1,0 gram/ml. RMSD dan energi potensial sistem dari semua senyawa sudah menunjukkan pada keadaan yang konstan. Grafik dari temperatur, berat jenis, energi potensial dan RMSD dapat dilihat pada gambar grafik dibawah ini.



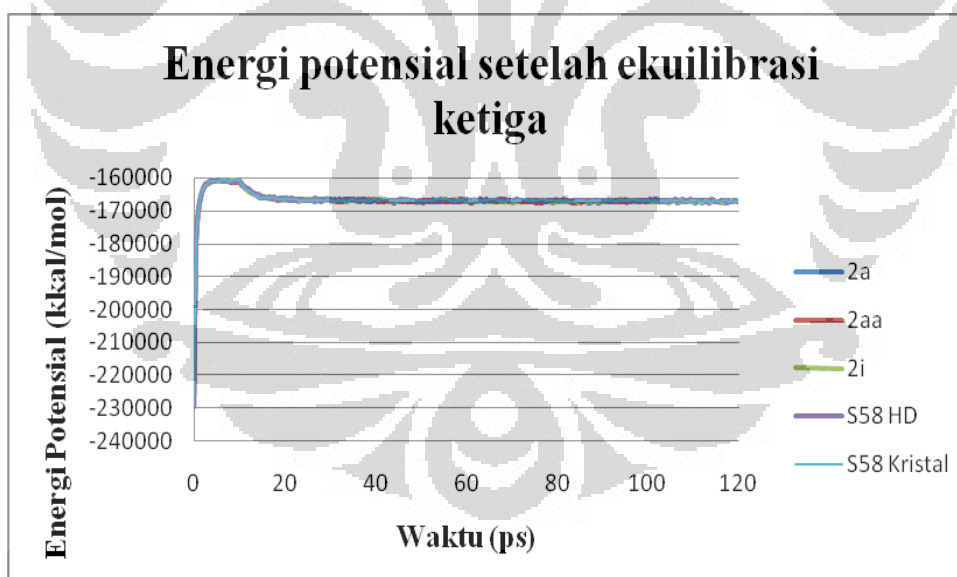
Keterangan : Ekuilibrasi tahap 1 (0-10 nanodetik), ekuilibrasi tahap 2 (10-20 nanodetik), ekuilibrasi tahap 3 (20-120 nanodetik)

**Gambar 4.5.** Grafik RMSD setelah ekuilibrasi tahap ketiga



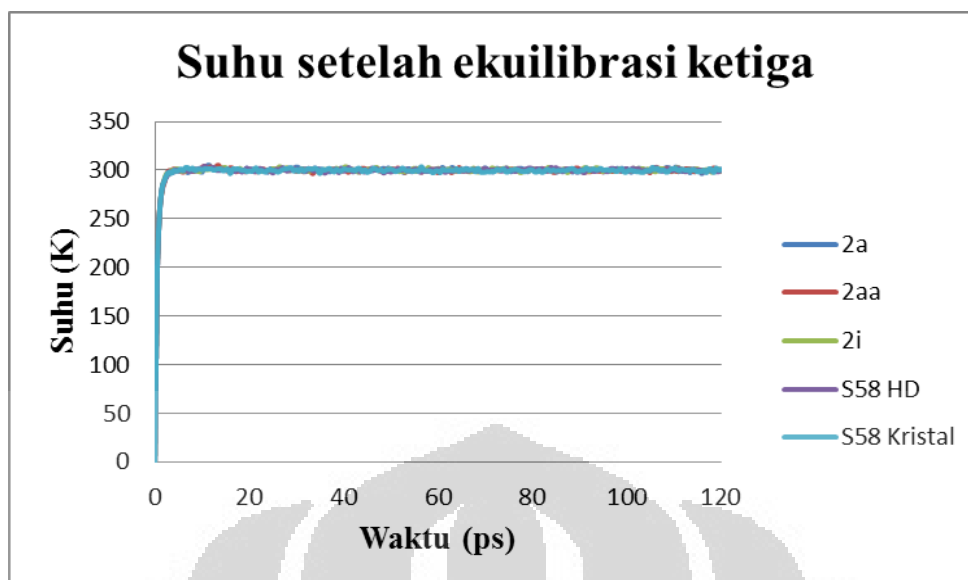
Keterangan : Ekuilibrasi tahap 1 (0-10 nanodetik), ekuilibrasi tahap 2 (10-20 nanodetik), ekuilibrasi tahap 3 (20-120 nanodetik)

**Gambar 4.6.** Grafik berat jenis setelah ekulibrasi tahap kedua



Keterangan : Ekuilibrasi tahap 1 (0-10 nanodetik), ekuilibrasi tahap 2 (10-20 nanodetik), ekuilibrasi tahap 3 (20-120 nanodetik)

**Gambar 4.7.** Grafik energi potensial setelah ekulibrasi tahap ketiga



Keterangan : - Ekuilibrasi tahap 1 (0-10 nanodetik), ekuilibrasi tahap 2 (10-20 nanodetik), ekuilibrasi tahap 3 (20-120 nanodetik)  
 - S58 HD adalah SC-558 hasil penambatan molekul

**Gambar 4.8.** Grafik suhu setelah ekuilibrasi ketiga

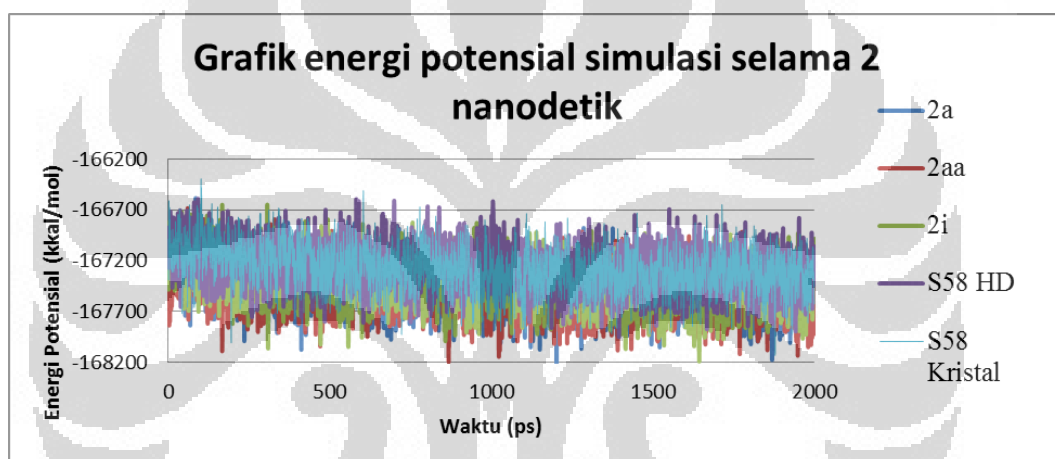
#### 4.2.6 Produksi Simulasi Dinamika Molekuler

Simulasi dinamika molekuler dilakukan dengan komputer *Linux* dengan empat prosesor. *Frame* yang dihasilkan setiap satu kali putaran produksi adalah 200 *frame* yang setara dengan 200 pikodetik. Untuk menghitung jumlah *frame* yang diinginkan dapat dilakukan dengan cara mengatur parameter *nstlim* (jumlah langkah selama simulasi dinamika molekuler) dan *ntwx* (jumlah langkah yang disimpan ke dalam berkas *.mdcrd* selama simulasi dinamika molekuler) pada berkas *prod. in* (Lampiran 35), dimana jumlah *frame* sama dengan jumlah *nstlim* dibagi jumlah *ntwx*. Simulasi dinamika molekuler senyawa 2a, 2aa, 2i, S58 hasil *docking* dan S58 kristal masing-masing berlangsung selama kurang lebih 720 jam. *Output* yang dihasilkan adalah *file.mdcrd*, *file.rst* dan *file.out*.

#### 4.2.7 Analisis Hasil Simulasi Dinamika Molekuler

##### (1) Energi Potensial

RMSF ditentukan dari waktu saat energi potensial memiliki fluktuasi minimal. Dari grafik kelima sistem (Gambar 4.5) terlihat adanya penurunan energi potensial di awal simulasi hingga 1 nanodetik. Penurunan energi potensial ini menunjukkan terjadinya relaksasi sistem pada awal simulasi yang disebabkan terjadinya penyesuaian diri dari 6COX dengan lingkungannya yang berupa air TIP3P berbentuk oktahedron.

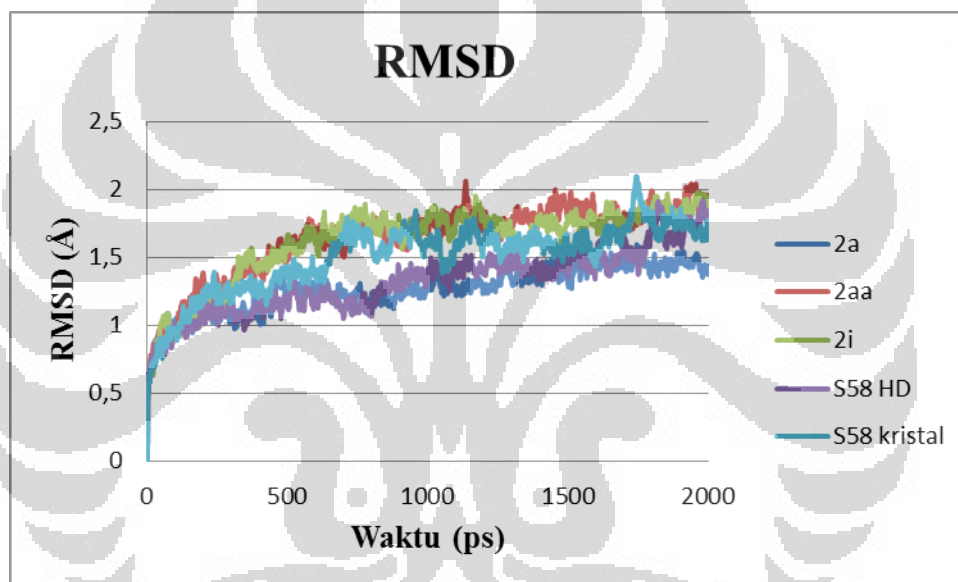


**Gambar 4.9.** Grafik energi potensial simulasi selama 2 nanodetik

Mulai dari 1 nanodetik hingga akhir simulasi, sistem berusaha mencapai kestabilan internal. Oleh karena itu, simulasi hingga 1 nanodetik tidak dimasukkan dalam evaluasi RMSF. Selama simulasi 6COX dengan senyawa 2a, 2aa, 2i, SC-558 hasil penambatan molekul dan SC-558 kristal memiliki kisaran energi potensial -167000 kkal/mol. Hasil tersebut tidak dapat menunjukkan perbedaan yang signifikan, sehingga tidak dapat ditarik kesimpulan adanya hubungan yang mendalam antara perbedaan gugus fungsi pada ligan dengan energi potensial yang dihasilkan.

- (2) RMSD (*Root Mean Square Deviation*) atau Akar Kuadrat Rata-Rata Deviasi

Pada simulasi yang berlangsung selama 2 nanodetik, keempat sistem mengalami peningkatan RMSD *backbone* yang menunjukkan bahwa struktur enzim mulai terbuka (*unfold*). RMSD *backbone* keempat sistem mulai stabil dari nanodetik ke-1. Mungkin ini disebabkan karena terjadinya interaksi antar residu pada enzim sehingga protein cenderung mempertahankan strukturnya pada tahap ini (Gambar 4.6).



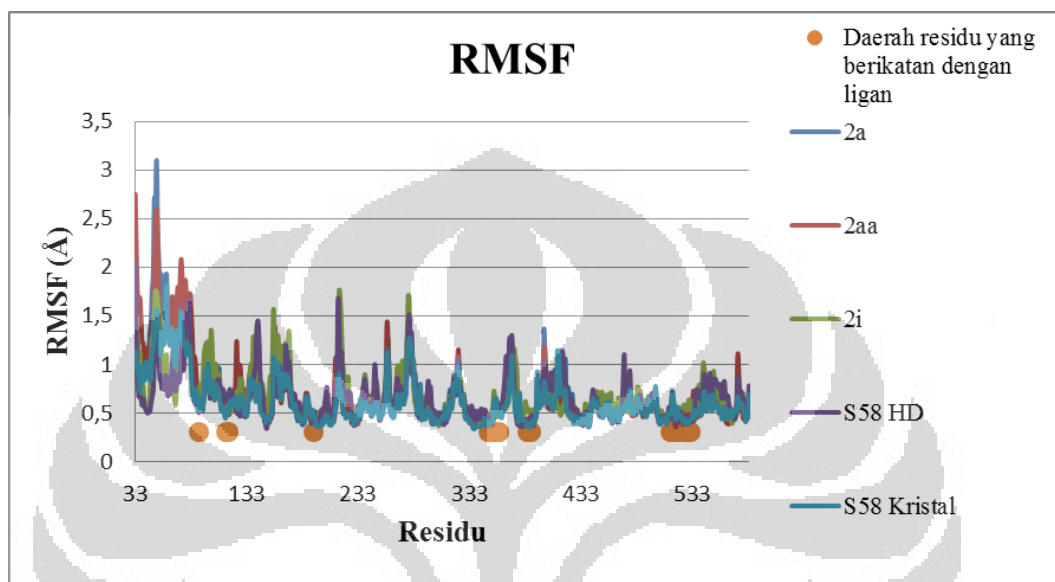
**Gambar 4.10.** Grafik RMSD *backbone* 6COX dengan ligan

Sistem dengan ligan 2a memiliki nilai RMSD terendah yaitu pada kisaran 1,5 Å hingga akhir simulasi. RMSD tertinggi dicapai oleh sistem 6COX dengan ligan 2aa. Pada sistem dengan ligan S58 hasil penambatan molekul dan kristal masih menunjukkan peningkatan hingga akhir simulasi.

- (3) RMSF (*Root Mean Square Fluctuation*) atau Akar Kuadrat Rata-Rata Fluktuasi

RMSF diukur saat energi potensial memiliki fluktuasi terkecil, yaitu dimulai dari 1 nanodetik hingga simulasi berakhir. Secara keseluruhan terdapat fleksibilitas yang rendah pada daerah residu yang berikatan dengan ligan, yaitu

berada pada daerah 0,35-0,70 Å (Gambar 4.7). Hal ini menunjukkan adanya kestabilan pada daerah residu yang berikatan dengan ligan pada simulasi dinamika molekuler selama 2 nanodetik.



**Gambar 4.11.** Grafik RMSF C- $\alpha$  kelima sistem setelah simulasi selama 2 nanodetik

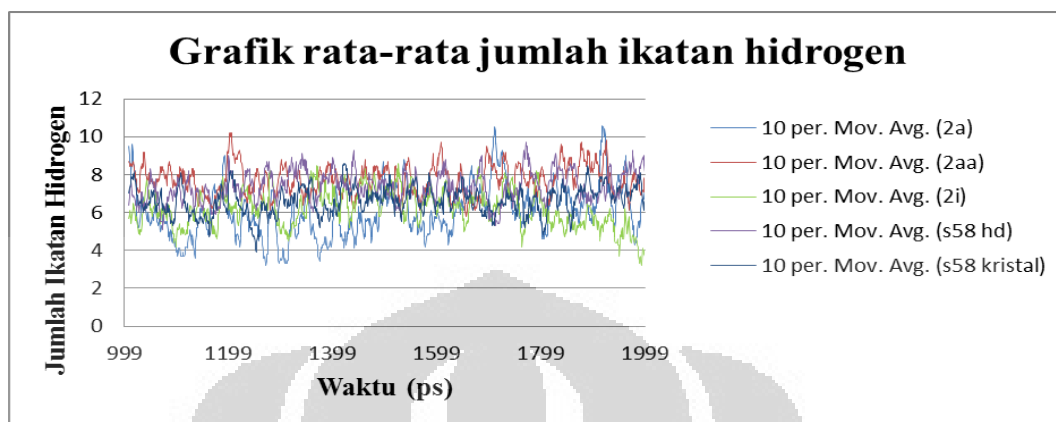
#### (4) Kondisi Ikatan Hidrogen

Ikatan hidrogen dibagi menjadi 3 jenis berdasarkan jumlah persentase *occupancy*, yaitu ikatan hidrogen sangat lemah (25%-50%), ikatan hidrogen kuat (50-75%) dan ikatan hidrogen sangat kuat (75%-100%) (Kastner, Loeffler, Roberts, Fernandez, & Winn, 2009).

Kondisi ikatan hidrogen pada simulasi antara 1-2 nanodetik 6COX dengan senyawa 2a menunjukkan adanya 150 jenis ikatan hidrogen yang terbentuk. Dari 150 ikatan tersebut, didapatkan sebanyak 3 ikatan yang memiliki persentase *occupancy* di atas 30%, yaitu ikatan pada His 90, Phe 518 dan Arg 513. Senyawa 2a bertindak sebagai akseptor ikatan hidrogen pada ikatan yang terjadi dengan residu-residu tersebut. Dari gambar grafik pada gambar 4.12 dan lampiran 48



menunjukkan jumlah ikatan hidrogen senyawa 2a tidak stabil dibandingkan dengan senyawa 2aa, 2i dan SC-558 selama simulasi pada waktu 1 sampai 2 nanodetik.



**Gambar 4.12** Grafik rata-rata jumlah ikatan hidrogen hasil simulasi dinamika molekuler pada waktu 1-2 nanodetik

Pada simulasi antara 1-2 nanodetik 6COX dengan senyawa 2aa mempunyai 124 jenis ikatan hidrogen. Senyawa ini memiliki ikatan hidrogen yang paling kuat dibandingkan dengan senyawa 2a, 2i, dan SC-558. Hal tersebut terlihat pada ikatan dengan residu Arg 513, Tyr 385 dan Ser 353 yang memiliki persentase *occupancy* di atas 90%.

Pada simulasi antara 1-2 nanodetik 6COX dengan senyawa 2i terdapat 173 jenis ikatan hidrogen, tetapi hanya memiliki sedikit ikatan hidrogen dengan persentase *occupancy* di atas 30%. Ikatan-ikatan tersebut termasuk ikatan hidrogen lemah. Ikatan hidrogen lemah menurut Desiraju dan Steiner (1999) adalah ikatan antara atom CH dengan atom O, OH dengan ikatan  $\pi$  dan OH dengan atom O. Atom O1 pada senyawa 2i berikatan dengan atom CZ2 dan HZ2 dari residu Trp 387 yang mempunyai persentase *occupancy* tertinggi yaitu 60,50%. Dari data yang didapatkan, senyawa 2i cenderung tidak mempunyai ikatan hidrogen yang kuat, apabila dibandingkan dengan hasil penambatan molekul, dimana senyawa 2i mempunyai nilai  $\Delta G$  terendah (-11,33 kkal/mol) dibandingkan dengan senyawa lainnya. Oleh karena itu, diprediksi bahwa ikatan hidrogen yang terjadi tidak berperan penting dalam dinamika inhibisinya.

Pada simulasi antara 1-2 nanodetik 6COX dengan senyawa SC-558 hasil penambatan molekul terdapat 121 jenis ikatan hidrogen dan pada SC-558 kristal

terdapat 128 jenis ikatan hidrogen. Hasil analisis dengan piranti lunak VMD memperlihatkan adanya perbedaan jumlah *occupancy* pada ikatan dengan residu yang sama. Perbedaan yang signifikan terjadi pada residu Phe 518 dimana pada senyawa SC-558 hasil penambatan molekul memiliki persentase *occupancy* 80,90% sedangkan pada SC-558 kristal hanya 16,10%. Hal tersebut terjadi dimungkinkan karena adanya perbedaan koordinat awal dari masing-masing ligan, serta simulasi dinamika molekuler selama 2 nanodetik belum cukup untuk menganalisa ikatan hidrogen dari senyawa SC-558.

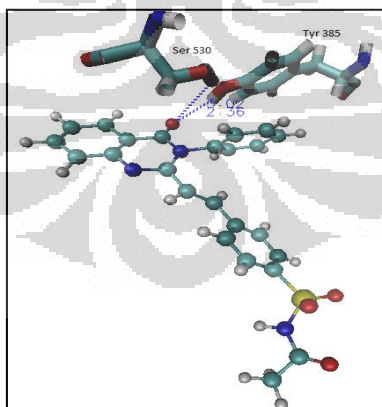
Secara keseluruhan, residu Arg 513 merupakan residu yang mempunyai peranan paling penting dalam terjadinya ikatan hidrogen. Hampir semua senyawa mempunyai ikatan hidrogen dengan residu Arg 513 dengan persentase *occupancy* diatas 30% kecuali senyawa 2i. Dari gambar grafik, jumlah ikatan hidrogen dari senyawa 2aa, 2i dan SC-558 menunjukkan jumlah yang cenderung stabil, grafik dapat dilihat pada lampiran 49-52. Data lengkap dari jarak, sudut, dan persentase *occupancy* ikatan hidrogen dapat dilihat pada lampiran 53.

Data ikatan hidrogen hasil simulasi dinamika molekuler senyawa 2i, menunjukkan bahwa senyawa ini mempunyai ikatan hidrogen yang paling lemah. Hal ini disebabkan pada senyawa 2i tidak memiliki substitusi gugus sulfonamida atau sulfasetamida pada posisi R2, sehingga senyawa 2i tidak memiliki ikatan hidrogen dengan residu His 90, Arg 513, dan Phe 518 seperti yang terjadi pada senyawa 2a, 2aa, dan SC-558 dimana ikatan hidrogen dengan residu tersebut memiliki jumlah ikatan yang besar dan kuat. Pada gugus fenil dari senyawa 2i memiliki interaksi hidrofobik dengan residu His 90 dan Phe 518 (Gambar 4.13. G). Ikatan hidrofobik tersebut yang diprediksi memberikan nilai  $\Delta G$  (-11,33 kkal/mol) dan  $K_i$  (4.90 nM) yang sangat rendah pada senyawa 2i.

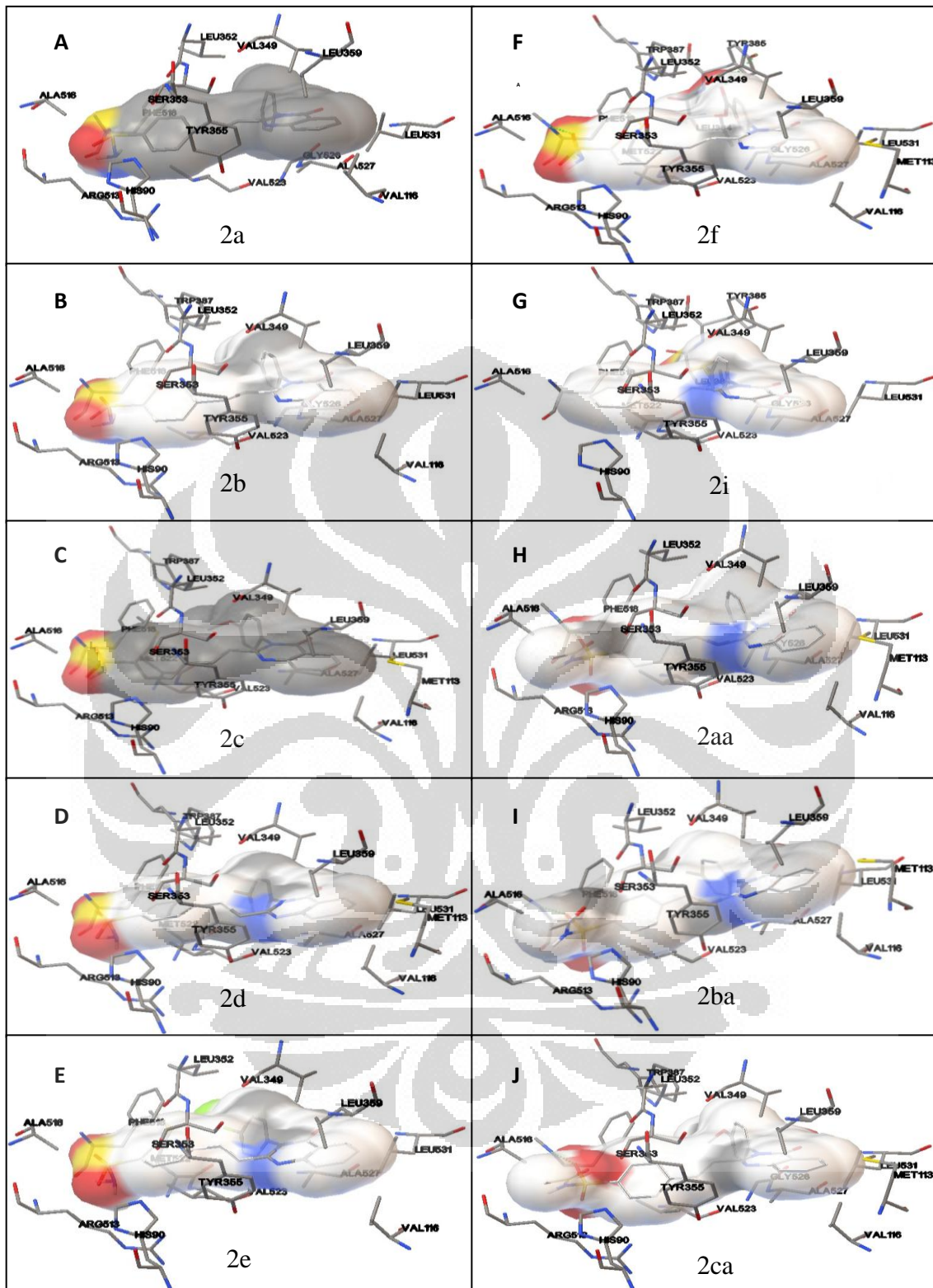
Pada senyawa 2a, 2b, 2c, 2d, 2e, dan 2f tidak memiliki perbedaan interaksi yang signifikan, hal tersebut diperlihatkan oleh data  $\Delta G$  yang tidak berbeda jauh serta memiliki ikatan pada residu yang sebagian besar sama seperti residu Ala 516, Phe 518, Leu 352, Ser 353, Tyr 355, Val 523, Gly 526, Ala 527, Leu 359, Val 349, Arg 513, His 90, Leu 531, dan Val 116. Hal ini menunjukkan bahwa substitusi pada posisi R1 memiliki peran dalam penghambatan COX-2 secara selektif.

Senyawa 2aa, 2ba dan 2ca memiliki nilai  $\Delta G$  yang tinggi, sehingga diprediksi memiliki aktifitas penghambatan COX-2 yang kurang selektif. Selama simulasi dinamika molekuler, senyawa 2aa memiliki ikatan hidrogen yang sangat kuat. Hal tersebut terjadi karena atom O pada gugus kuinazolinon berikatan dengan residu Ser 530 dan Tyr 385. Atom O tersebut bertindak sebagai akseptor ikatan hidrogen, sedangkan residu Ser 530 pada atom OG dan HG bertindak sebagai donor ikatan hidrogen, residu Tyr 385 pada atom OH dan HH bertindak sebagai donor ikatan hidrogen.

Hasil penambatan molekul dan simulasi dinamika molekuler menunjukkan interaksi yang berbeda pada masing-masing sistem. Dari hasil penambatan molekul dan simulasi dinamika molekuler, didapatkan bahwa senyawa 2i memiliki  $\Delta G$  terendah yang artinya diprediksi memiliki aktivitas paling kuat dalam menghambat COX-2 tetapi memiliki ikatan hidrogen yang lemah. Inhibitor selektif terhadap COX-2 terbukti secara klinis mempunyai efek yang kecil sebagai anti-tromboksan sehingga dapat meningkatkan resiko timbulnya penyakit kardiovaskular seperti infark miokard (Coruzzi, Venturi, & Spaggiari, 2007). Dari data tersebut diprediksi bahwa senyawa 2i merupakan inhibitor selektif terhadap COX-2 sehingga dapat menyebabkan penyakit kardiovaskular seperti infark miokard.



**Gambar 4.13.** Interaksi senyawa 2aa dengan residu Ser 530 dan Tyr 385



[Sumber: Olahan penulis dengan AutoDock Tools]

**Gambar 4.14.** Interaksi 6COX dengan senyawa turunan 3-Fenil-2-stiril-4(3H)-kuinazolinon tersubstitusi sulfonamida atau sulfasetamida

## BAB 5

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Kesimpulan

Dari hasil penambatan molekul dan simulasi dinamika molekuler didapatkan bahwa

1. Hasil penambatan molekul sepuluh senyawa turunan 3-Fenil-2-stiril-4(3H)-kuinazolinon tersubstitusi sulfonamida atau sulfasetamida memiliki pose yang sesuai dengan kontrol positif yaitu SC-558.
2. Dari hasil penambatan molekul dapat dilakukan pengelompokan terhadap senyawa turunan 3-Fenil-2-stiril-4(3H)-kuinazolinon tersubstitusi sulfonamida atau sulfasetamida berdasarkan nilai  $\Delta G$ . Kelompok sangat selektif yaitu senyawa 2i, 2e dan 2d (-10,92; -10,93 dan -11,33 kkal/mol) dibandingkan dengan SC-558 (-10,90 kkal/mol); kelompok selektif yaitu senyawa 2f, 2b, 2c dan 2a (-10,68; -9,79; -9,57 dan -9,22 kkal/mol) dibandingkan dengan selekoksib (-10,63 kkal/mol); kelompok non-selektif yaitu senyawa 2aa, 2ba dan 2ca (-6,98; -6,87 dan -6,48 kkal/mol) dibandingkan dengan aspirin (-4,82 kkal/mol).
3. Hasil simulasi dinamika molekuler selama 2 nanodetik dari senyawa sangat selektif (2i), selektif (2a) dan non-selektif (2aa) menunjukkan bahwa senyawa 2aa dan 2i memiliki jumlah ikatan hidrogen yang stabil seperti pada kontrol SC-558 yang sangat selektif dalam menghambat COX-2, sedangkan pada senyawa 2a tidak memiliki jumlah ikatan hidrogen yang tidak stabil.

#### 5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian dinamika molekuler dalam waktu simulasi yang lebih panjang lagi (lebih dari 2 nanodetik).

## DAFTAR REFERENSI

- Allen, M. P. (2004). Introduction to Molecular Dynamics Simulation. *NIC series*, 23, 1-28.
- Bayat, A. (2002). Bioinformatics: Science, Medicine, and The Future. *Brit Med J*, 3224, 1018-1022.
- Bruice, P. (2003). *Organic Chemistry (4th ed)*. New Jersey: Prentice Hall, 982-994.
- Case, D. A., et al. (2010). *Amber 11 User's Manual*. San Fransisco: University of California.
- ChemAxon, MarvinSketch: Advanced Chemical Drawing Software. Diakses pada 15 Februari, 2012, dari <http://www.chemaxon.com/products/marvin/marvinsketch/>
- Coruzzi, G., Venturi, N., & Spaggiari, S. (2007). Gastrointestinal safety of novel nonsteroidal antiinflammatory drugs: selective COX-2 inhibitor and beyond. *Acta Biomed*, 78, 96-110.
- Cygwin user's guide*. (1998). Diakses pada 10 Januari, 2012, dari Cygwin: <http://www.cygwin.com/cygwin-ug-net/>
- Dannhardt, G., Kiefer, W. (2000). Cyclooxygenase inhibitors - current status and future prospects. *Eur J Med Chem*, 36, 109-126.
- Delano, W. (2004). *Pymol user's guide*. Diakses pada 10 Januari, 2012, dari Delano Scientific LLC: <http://pymol.sourceforge.net/newman/userman>
- Desheng, L., Jian, G., Yuanhua, C., Wei, C., Huai, Z., & Mingjuan, J. (2011). Molecular dynamics simulations and MM/GBSA methods to investigate binding mechanisms of aminomethylpyrimidine inhibitors with DPP-IV. *Bioorg Med Chemm Lett*, 21, 6630-6635.
- Desiraju, G. R., & Steiner, T. (1999). *The Weak Hydrogen Bond, in Structural Chemistry and Biology*. Oxford: Oxford Univ. Press, 1-17.
- Dubois, N. R., et al. (1998). Cyclooxygenase in Biology and Disease. *The FASEB J*, 12, 1063-1073.

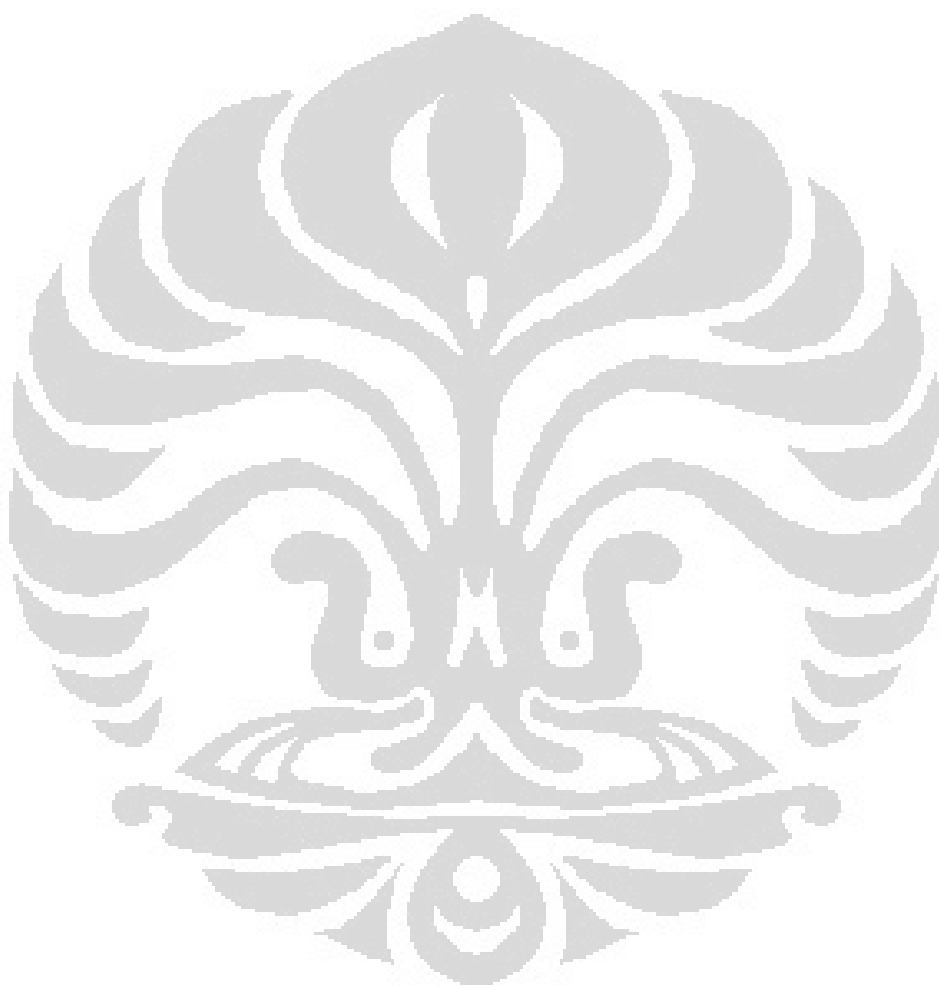
- Harmita., Harahap, Y., & Hayun. (2008). *Buku Ajar Kimia Medisinal*. Depok: Departemen Farmasi FMIPA UI, 53.
- Hayun., Yanuar, A., Hanafi, M., & PWS, HS. (2011). Virtual screening of 2,3-disubstituted-4-(3H)-quinazolinones possessing benzenesulfonamide moiety for COX-2 inhibitor. *Bioinformation*, 7 (5), 246-250.
- Hudiono,S., & Hayun.(2011). *Laporan Penelitian Sintesis 4-[(E)-2-(4-okso-3-fenil-kuinazolin-2-il)vinil]bensensulfonamida dan Analognya*. Depok: Departemen Farmasi FMIPA UI.
- Hutchison, G.R., et al. (2011). *Open Babel Documentation Release 2.3.1*. Diakses pada 15 Februari, 2012, dari [http://openbabel.org/wiki/Main\\_Page](http://openbabel.org/wiki/Main_Page)
- Jorgensen, W.L. (2004). The Many Role of Computation in Drug Discovery. *Science*, 303, 1813-1818.
- Karplus, M., & Kuriyan, J. (2005). Molecular dynamics and protein function. *PNAS*, 102(19), 6679-6685.
- Kastner, J., Loeffler, H.H., Roberts, S.K., Fernandez, M.L.M., & Winn, M.D. (2009). Ectodomain orientation, conformational plasticity and oligomerization of ErbB1 receptors investigated by molecular dynamics. *J StructBiol*, 167 (2), 117-128.
- Kitchen, D., Decornez, H., Furr, J., & Bajorath, J. (2004). Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and application. *Nat Rev*, 4, 935-949.
- Kouranov, A., et al. (2006). The RCSB PDB information portal for structural genomics. *Nucleic Acids Res*, 34, D303-D305.
- Kurumbail, G.R.,etal. (1996). Structural basis for selective inhibition of cyclooxygenase-2 by anti-inflammatory agents. *Lett To Nat*, 384, 644-648.
- Leach, A., Shoicet, B., & Peishoff, C. (2006). Docking and scoring. *J Med Chem*, 49 (20), 5851-5855.
- Lee, M.C., Deng, J., Briggs, J.M., &Duan, Y. (2008). Large-Scale Conformational Dynamics of the HIV-1 Integrase Core Domain and Its Catalytic Loop Mutants. *Biophys J*, 88, 3133-3146.

- Moitessier, N., Englebienne, P., Lee, D., Lawandi, J., & Corbeil, C.R. (2008). Toward the Development of Universal, Fast, and Highly Accurate Docking/Scoring Methods: a long way to go. *Br. J. Pharmacol*, 153, S7-S26.
- Morris, G., et al. (2009). AutoDock 4 and AutoDock Tools 4: automated docking with selective receptor flexibility. *J Comput Chem*, 1-7.
- Murray, R., et al. (2003). *Biokimia Harper* (Ed. ke-25). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 45-58.
- Nelson, D. L., & M. M. Cox. (2000). *Lehninger Principles of Biochemistry*. 3<sup>rd</sup> ed. Worth Pub., New York, 50-212.
- Pamela, C., & Harvey, R. (1994). *Lipincott's Illustrated Reviews: Biochemistry* (Ed ke-3). New York: Lippincott Williams & Wilkins, 14-23.
- Pedretti, A., Mazzolari, A., & Vistoli, G. (2004). Vega ZZ: a versatile toolkit for drug design and protein modeling. *J Comput Aid Mol Des*, 18, 167-173.
- Pettersen, E., et al. (2004). UCSF-Chimera a visualization system for exploratory research and analysis. *J Comput Chem*, 25 (13), 1605-1612.
- Setiawati, A., SB, Z., & Suyatna, F. (2005). *Pengantar Farmakologi*. Dalam S. Ganiswarna, R. Setiabudi, F. Suyatna, Purwastyastuti, & Nafrialdi (Eds.), *Farmakologi & Terapi* (Ed. ke-4). Jakarta: Bagian Farmakologi FKUI, 14-19.
- Stouten, P.F.W., & Kroemer, R.T. (2007). Docking and Scoring. In P.F.W. Stouten (Ed). *Compr Med Chem II*, Vol 4. Elsevier Ltd, London, 255-281.
- Tatham, S., Dunn, O., Harris, N., & Nevins, J. (2010). *PuTTY: A Free Telnet/SSH Client*. Diakses pada 15 Februari, 2012, dari <http://www.chiark.greenend.org.uk/~sgtatham/putty/>
- Teodoro, M.L., Phillips Jr, G.N., & Kavraki, L.E. (2001). *Molecular Docking: A Problem with Thousand of Degrees of Freedom*. Diakses pada 18 Februari, 2012, dari <http://phillips-lab.biochem.wisc.edu/pdfs/108-docking.pdf> 960-966.
- Tsai, C. S. (2002). *An Introduction to Computational Biochemistry*. New York: Wilwy-Liss Inc, 1-45.



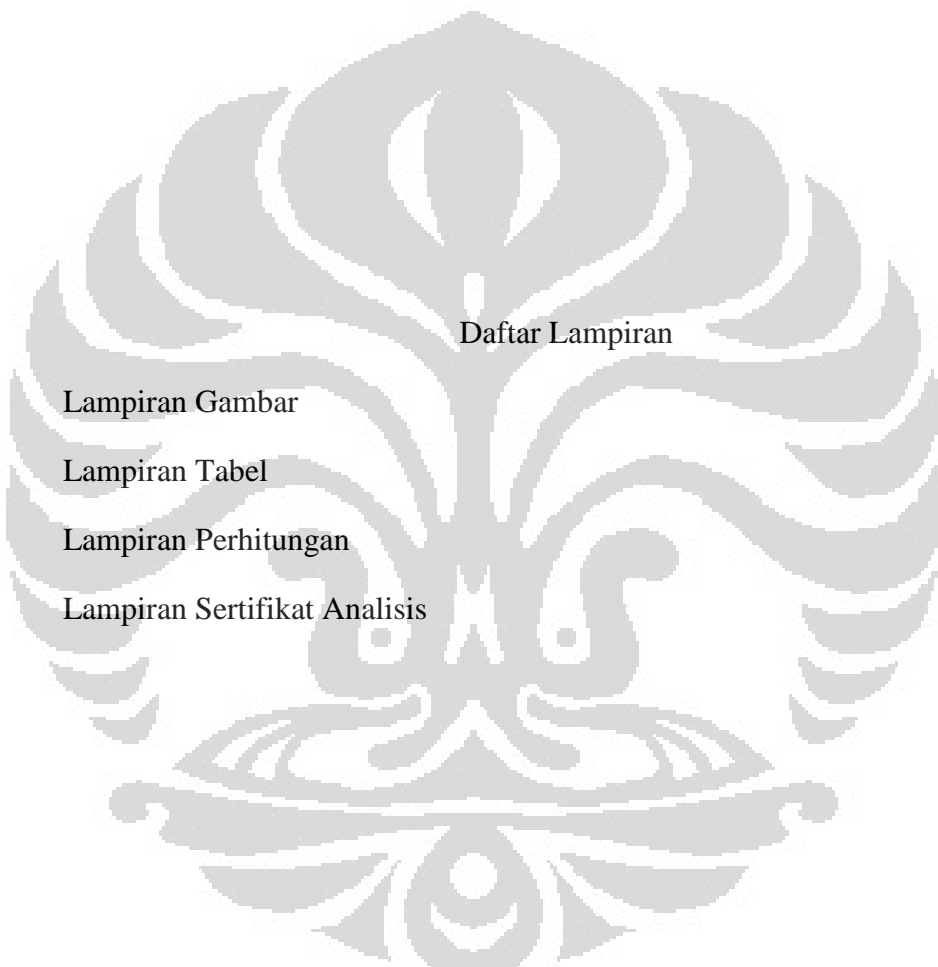
Umashankar, V. Gurunathan, S. (2009). *In Silico Tools for Molecular Modeling*. Diakses pada 17 Februari, 2012, dari <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9780470744307.gat234/full>

Wink, M. (2006). *An Introduction to Molecular Biotechnology*. Weinheim: WILY-VCH Verlag GmbH & Co, 387-390.



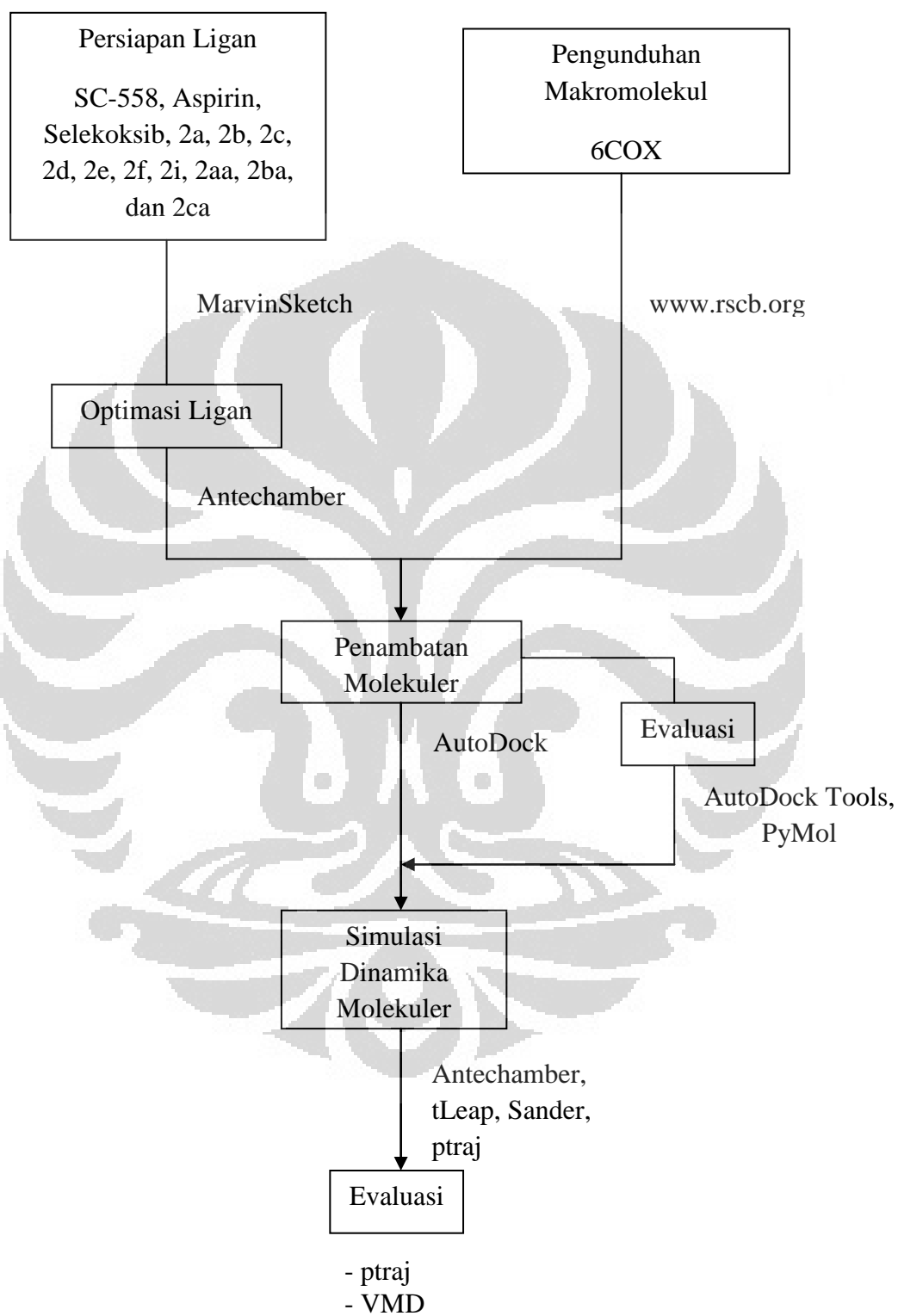


# LAMPIRAN

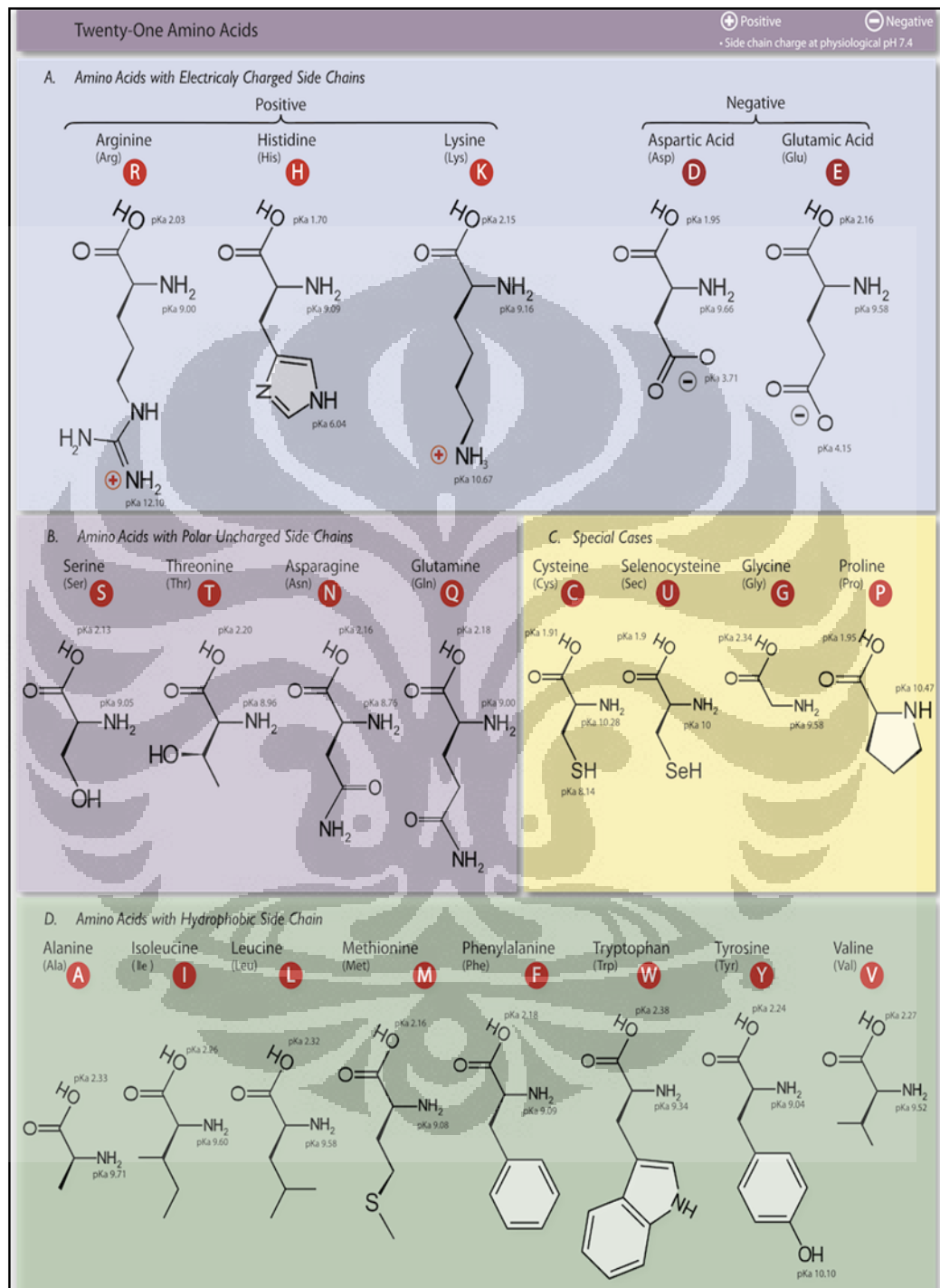


Daftar Lampiran	
Lampiran Gambar	1-19
Lampiran Tabel	20-25
Lampiran Perhitungan	26
Lampiran Sertifikat Analisis	27-29

### Lampiran 1. Skema kerja

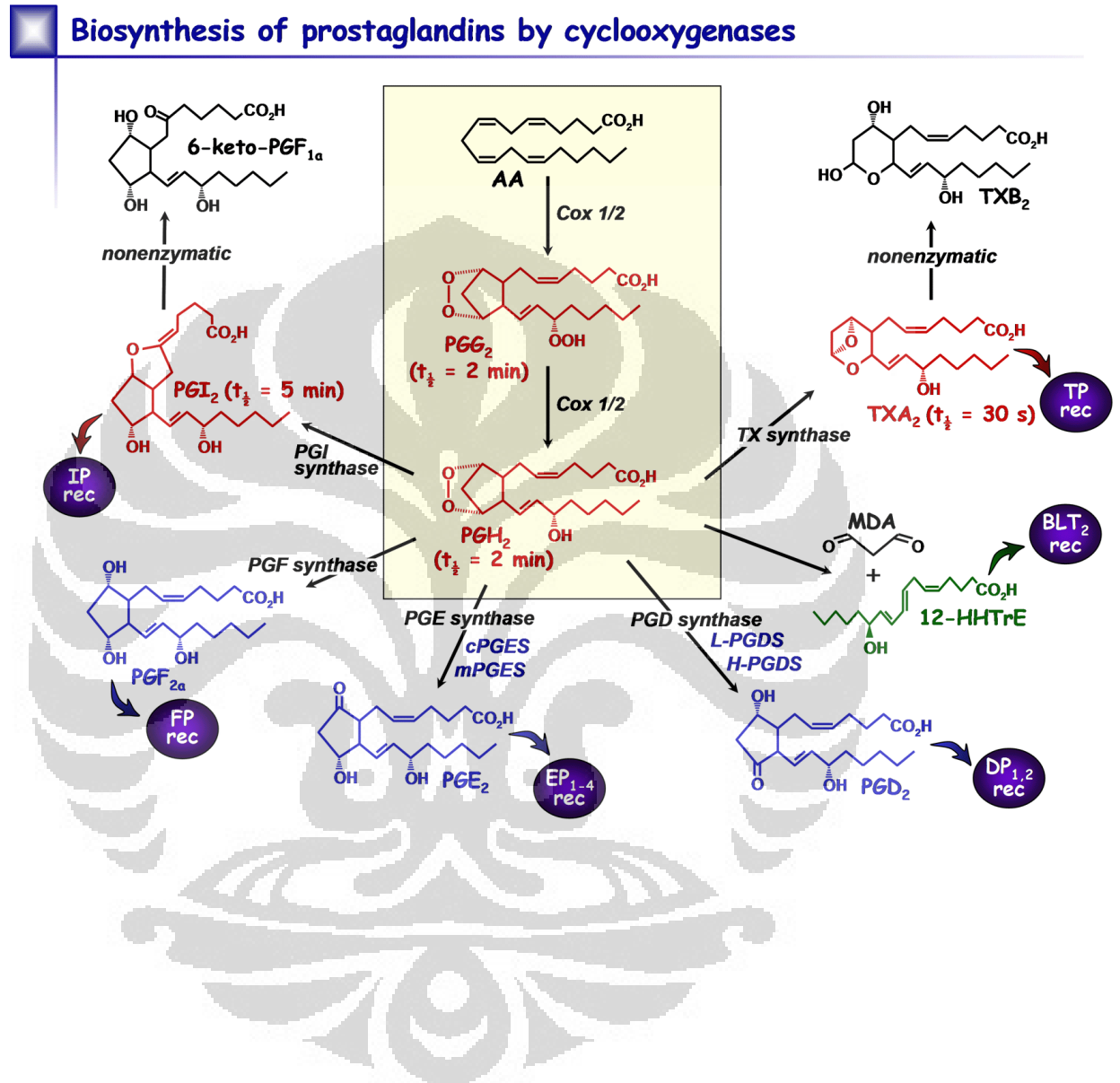


## Lampiran 2. Dua puluh satu jenis asam amino penyusun protein



[Sumber: Nelson & Cox; 2000]

**Lampiran 3.** Jalur sintesis PG terkatalis COX (direproduksi dari [http://meakins.mcgill.ca/images/powell/pathway\\_cox\\_small.gif](http://meakins.mcgill.ca/images/powell/pathway_cox_small.gif))



**Lampiran 4.** Peringkat senyawa berdasarkan rata-rata  $\Delta G$  terendah dari kluster terbaik hasil penambatan dengan 6COX

<b>Peringkat Kluster Terbaik</b>	<b>Kode Senyawa</b>	<b>Rata-rata <math>\Delta G</math> (kkal/mol)</b>	<b>SD <math>\Delta G</math> (kkal/mol)</b>
1	2i	-11,33667	0,00577
2	2d	-10,93000	0,08185
3	2e	-10,91667	0,00577
4	2f	-10,68333	0,09865
5	2b	-9,79333	0,03785
6	2c	-9,57667	0,04582
7	2a	-9,22000	0,03605
8	2ba	-6,98333	0,07234
9	2ca	-6,87667	0,03511
10	2aa	-6,48667	0,04163

**Lampiran 5.** Peringkat senyawa berdasarkan rata-rata Ki terendah dari kluster terbaik hasil penambatan dengan 6COX

<b>Peringkat Kluster Terbaik</b>	<b>Kode Senyawa</b>	<b>Rata-rata Ki</b>	<b>SD Ki</b>
1	2i	4,90000 nM	0,026458
2	2e	9,99333 nM	0,087369
3	2d	10,34667 nM	0,60575
4	2f	25,98333 nM	10,61208
5	2b	66,22000 nM	4,045916
6	2c	94,93622 nM	2,842434
7	2a	187,40000 nM	8,243234
8	2ba	7,63000 $\mu$ M	0,954516
9	2ca	9,10333 $\mu$ M	0,551936
10	2aa	17,37333 $\mu$ M	0,882345



**Lampiran 6.** Tabel data  $\Delta G$  kluster dan penambatan terbaik hasil penambatan pada 6COX

Senyawa		Triplo I				Triplo II				Triplo III			
		<i>Best dock</i> (kcal/mol)	%	<i>Best Cluster</i> (kcal/mol)	%	<i>Best dock</i> (kcal/mol)	%	<i>Best Cluster</i> (kcal/mol)	%	<i>Best dock</i> (kcal/mol)	%	<i>Best Cluster</i> (kcal/mol)	%
2a	Terendah	-9,2	31	-9,2	31	-9,21	2	-9,18	35	-9,2	2	-9,15	32
	Rata-rata	-8,85		-8,85		-9,02		-8,74		-8,95		-8,89	
2b	Terendah	-9,82	32	-9,82	32	-9,81	32	-9,81	32	-9,75	33	-9,75	33
	Rata-rata	-9,42		-9,42		-9,46		-9,46		-9,48		-9,48	
2c	Terendah	-9,6	22	-9,58	30	-9,56	14	-9,56	44	-9,57	25	-9,57	25
	Rata-rata	-9,24		-9,22		-9,22		-9,18		-9,09		-9,09	
2d	Terendah	-10,86	29	-10,86	29	-10,91	39	-10,91	39	-11,02	26	-10,92	32
	Rata-rata	-10,51		-10,51		-10,62		-10,62		-10,78		-10,55	
2e	Terendah	-10,92	34	-10,92	34	-10,91	37	-10,91	37	-10,92	35	-10,92	35
	Rata-rata	-10,64		-10,64		-10,69		-10,69		-10,61		-10,61	
2f	Terendah	-10,73	18	-10,73	18	-10,57	9	-10,22	15	-10,75	9	-10,22	14
	Rata-rata	-10,10		-10,10		-10,00		-9,75		-10,16		-9,67	
2i	Terendah	-11,77	26	-11,33	34	-11,75	16	-11,34	45	-11,76	27	-11,34	37
	Rata-rata	-11,60		-11,22		-11,54		-11,20		-11,55		-11,19	
2aa	Terendah	-6,67	2	-6,5	18	-6,52	30	-6,52	30	-6,46	14	-6,46	14
	Rata-rata	-6,36		-5,72		-5,61		-5,61		-6,00		-6,00	
2ba	Terendah	-7,03	15	-7,03	15	-7,02	15	-7,02	15	-6,9	15	-6,9	15
	Rata-rata	-6,25		-6,25		-5,96		-5,96		-6,30		-6,30	
2ca	Terendah	-6,97	1	-6,84	26	-7,04	1	-6,91	31	-7,42	1	-6,88	36
	Rata-rata	-6,97		-5,92		-7,04		-6,04		-7,42		-5,96	

**Lampiran 7.** Tabel data Ki klaster dan penambatan terbaik hasil penambatan pada 6COX

Senyawa	Triplo I				Triplo II				Triplo III			
	<i>Best dock</i> (nM)	%	<i>Best Cluster</i> (nM)	%	<i>Best dock</i> (nM)	%	<i>Best Cluster</i> (nM)	%	<i>Best dock</i> (nM)	%	<i>Best Cluster</i> (nM)	%
2a	179,75	31	179,75	31	176,83	2	186,32	35	180,28	2	196,13	32
2b	63,73	32	63,73	32	64,11	32	64,11	32	70,82	33	70,82	33
2c	92,21	22	94,63	30	91,91	14	97,92	44	96,26	25	96,26	25
2d	11,04	29	11,04	29	10,08	39	10,08	39	8,29	26	9,92	32
2e	9,92	34	9,92	34	10,09	37	10,09	37	9,97	35	9,97	35
2f	13,73	18	13,73	18	17,8	9	32,2	15	13,26	9	32,02	14
2i	2,73	26	4,92	34	2,44	16	4,87	45	2,4	27	4,91	37
2aa	12,88x10 <sup>3</sup>	2	17,1 x10 <sup>3</sup>	18	16,66 x10 <sup>3</sup>	30	16,66 x10 <sup>3</sup>	30	18,36 x10 <sup>3</sup>	14	18,36 x10 <sup>3</sup>	14
2ba	7,02 x10 <sup>3</sup>	15	7,02 x10 <sup>3</sup>	15	7,14 x10 <sup>3</sup>	15	7,14 x10 <sup>3</sup>	15	8,73 x10 <sup>3</sup>	15	8,73 x10 <sup>3</sup>	15
2ca	7,72 x10 <sup>3</sup>	1	9,68 x10 <sup>3</sup>	26	6,94 x10 <sup>3</sup>	1	8,58 x10 <sup>3</sup>	31	3,63 x10 <sup>3</sup>	1	9,05 x10 <sup>3</sup>	36

**Lampiran 8.** Data  $\Delta G$  kontrol positif sangat selektif (SC-558), selektif (Selekoksib) dan non-selektif (Aspirin)

Senyawa		Triplo I				Triplo II				Triplo III			
		Best dock (kkal/mol)	%	Best Cluster (kkal/mol)	%	Best dock (kkal/mol)	%	Best Cluster (kkal/mol)	%	Best dock (kkal/mol)	%	Best Cluster (kkal/mol)	%
SC-558	Terendah	-10,9	36	-10,9	36	-10,89	35	-10,89	35	-10,9	29	-10,39	30
	Rata-rata	-10,81		-10,81		-10,79		-10,79		-10,81		-10,33	
Selekoksib	Terendah	-10,71	60	-10,71	60	-10,71	55	-10,71	55	-10,7	62	-10,7	62
	Rata-rata	-10,63		-10,63		-10,62		-10,62		-10,61		-10,61	
Aspirin	Terendah	-4,82	1	-4,79	24	-4,79	1	-4,75	29	-5,15	23	-5,15	23
	Rata-rata	-4,82		-4,77		-4,79		-4,73		-5,13		-5,13	

**Lampiran 9.** Data Ki kontrol positif sangat selektif (SC-558), selektif (Selekoksib) dan non-selektif (Aspirin)

Senyawa	Triplo I				Triplo II				Triplo III			
	<i>Best dock</i> (nM)	%	<i>Best Cluster</i> (nM)	%	<i>Best dock</i> (nM)	%	<i>Best Cluster</i> (nM)	%	<i>Best dock</i> (nM)	%	<i>Best Cluster</i> (nM)	%
SC-558	10,23	32	10,23	32	10,36	35	10,36	35	10,31	29	24,17	30
Selekoksib	14,17	60	14,17	60	14,21	55	14,21	55	14,31	62	14,31	62
Aspirin	291,3x10 <sup>3</sup>	1	307,62 x10 <sup>3</sup>	24	309,25 x10 <sup>3</sup>	1	332,46 x10 <sup>3</sup>	29	167,92 x10 <sup>3</sup>	23	167,92 x10 <sup>3</sup>	23

**Lampiran 10.** Residu asam amino hasil penambatan molekuler dengan 6COX

Nama Senyawa	Residu																				
	His 90	Met 113	Val 116	Gln 192	Val 349	Leu 352	Ser 353	Tyr 355	Leu 359	Leu 384	Tyr 385	Trp 387	Arg 513	Ala 516	Ile 517	Phe 518	Met 522	Val 523	Gly 526	Ala 527	Leu 531
2a	v		v		v	v	v	v	v				v	v	v			v	v	v	v
2b	v		v		v	v	v	v	v			v	v	v	v			v	v	v	v
2c	v	v	v		v	v	v	v	v			v	v	v	v			v	v	v	v
2d	v	v	v		v	v	v	v	v			v	v	v	v		v	v		v	v
2e	v		v		v	v	v	v	v				v	v	v		v	v	v	v	v
2f	v	v	v		v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v		v	v	v	v	v
2i	v				v	v	v	v	v	v	v	v		v	v		v	v	v	v	v
2aa	v	v	v		v	v	v	v	v				v	v	v			v	v	v	v
2ba	v	v	v		v	v	v	v	v				v	v	v		v	v		v	v
2ca	v	v	v		v	v	v	v	v			v	v	v			v	v	v	v	v
SC-558				v	v	v	v	v	v	v		v		v	v	v	v	v	v	v	
Aspirin	v					v	v	v					v	v		v			v		
Selekoksib				v	v	v			v	v		v		v	v	v	v	v			

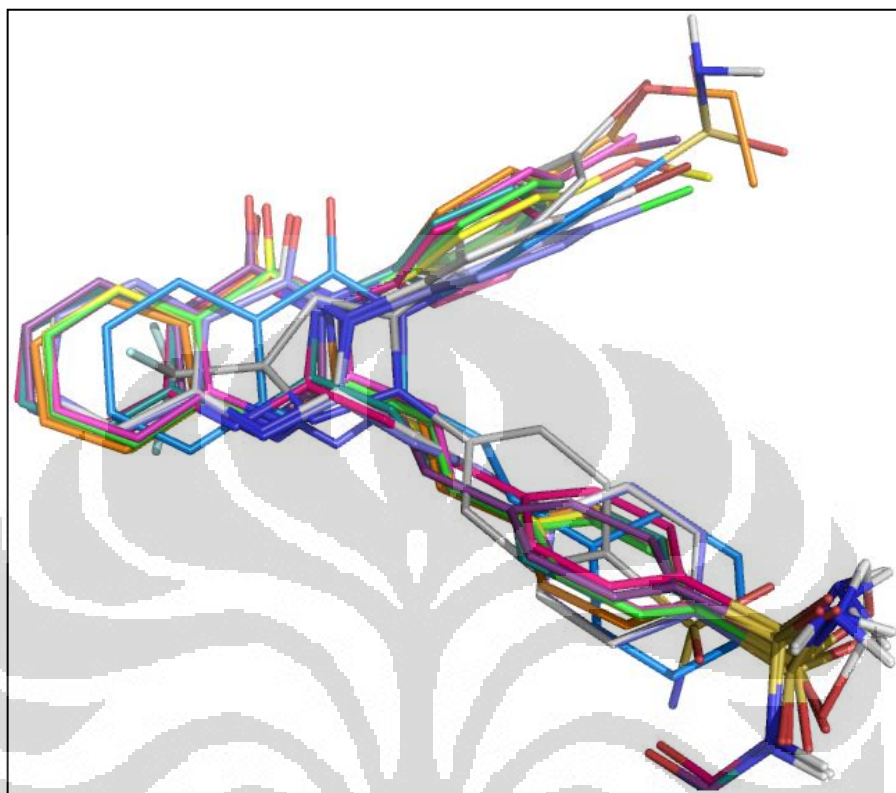
**Lampiran 11.** Hasil  $\Delta G$  klaster dan penambatan terbaik penambatan pada 6COX yang ditambahkan hidrogen

Senyawa		<i>Best dock</i> (kcal/mol)	%	<i>Best Cluster</i> (kcal/mol)	%
<b>2a</b>	Terendah	-8,39	41	-8,39	41
	Rata-rata	-7,92		-7,92	
<b>2b</b>	Terendah	-8,86	38	-8,86	38
	Rata-rata	-8,57		-8,57	
<b>2c</b>	Terendah	-8,79	26	-8,79	26
	Rata-rata	-8,28		-8,28	
<b>2d</b>	Terendah	-9,77	24	-9,73	29
	Rata-rata	-9,36		-9,21	
<b>2e</b>	Terendah	-9,95	22	-9,95	22
	Rata-rata	-9,54		-9,54	
<b>2f</b>	Terendah	-9,54	12	-9,21	14
	Rata-rata	-9,10		-8,78	
<b>2i</b>	Terendah	-10,56	35	-10,56	35
	Rata-rata	-10,33		-10,33	
<b>2aa</b>	Terendah	-5,87	31	-5,87	31
	Rata-rata	-4,96		-4,96	
<b>2ba</b>	Terendah	-6,22	18	-6,22	18
	Rata-rata	-5,15		-5,15	
<b>2ca</b>	Terendah	-6,01	39	-6,01	39
	Rata-rata	-5,14		-5,14	
<b>SC-558</b>	Terendah	-10,13	48	-10,13	48
	Rata-rata	-10,03		-10,03	
<b>Selekoksib</b>	Terendah	-10	79	-10	79
	Rata-rata	-9,89		-9,89	
<b>Aspirin</b>	Terendah	-4,92	20	-4,9	34
	Rata-rata	-4,9		-4,9	

**Lampiran 12.** Hasil Ki klaster dan penambatan terbaik penambatan pada 6COX yang ditambahkan hidrogen

<b>Senyawa</b>	<b><i>Best dock</i> (nM)</b>	<b>%</b>	<b><i>Best Cluster</i> (nM)</b>	<b>%</b>
<b>2a</b>	712,83	41	712,83	41
<b>2b</b>	322,02	38	322,02	38
<b>2c</b>	360,81	26	360,81	26
<b>2d</b>	69,26	24	360,81	26
<b>2e</b>	51,07	34	51,07	34
<b>2f</b>	101,31	12	177,56	14
<b>2i</b>	18,2	34	18,2	34
<b>2aa</b>	50,01 x10 <sup>3</sup>	18	50,01 x10 <sup>3</sup>	18
<b>2ba</b>	21,36 x10 <sup>3</sup>	15	21,36 x10 <sup>3</sup>	15
<b>2ca</b>	39,22 x10 <sup>3</sup>	26	39,22 x10 <sup>3</sup>	26
<b>SC-558</b>	37,59	48	37,59	48
<b>Selekoksib</b>	47,15	79	47,15	79
<b>Aspirin</b>	248,32 x10 <sup>3</sup>	20	254,69 x10 <sup>3</sup>	34

**Lampiran 13.** Visualisasi stuktur tiga dimensi ligan hasil penambatan molekuler dengan AutoDock

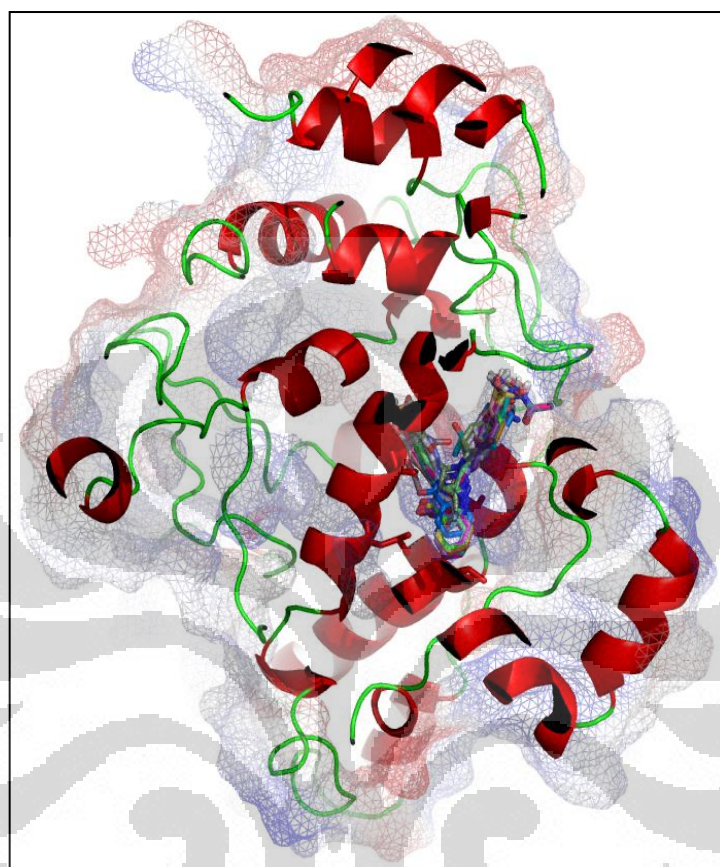


[Sumber: Olahan penulis dengan PyMOL]

Keterangan : *2a* (hijau); *2b* (merah); *2c* (kuning); *2d* (putih); *2e* (biru-ungu) ; *2f* (jingga); *2i* (biru); *2aa* (cyan); *2ba* (pink); *2ca* (ungu); *SC-558* (abu-abu)

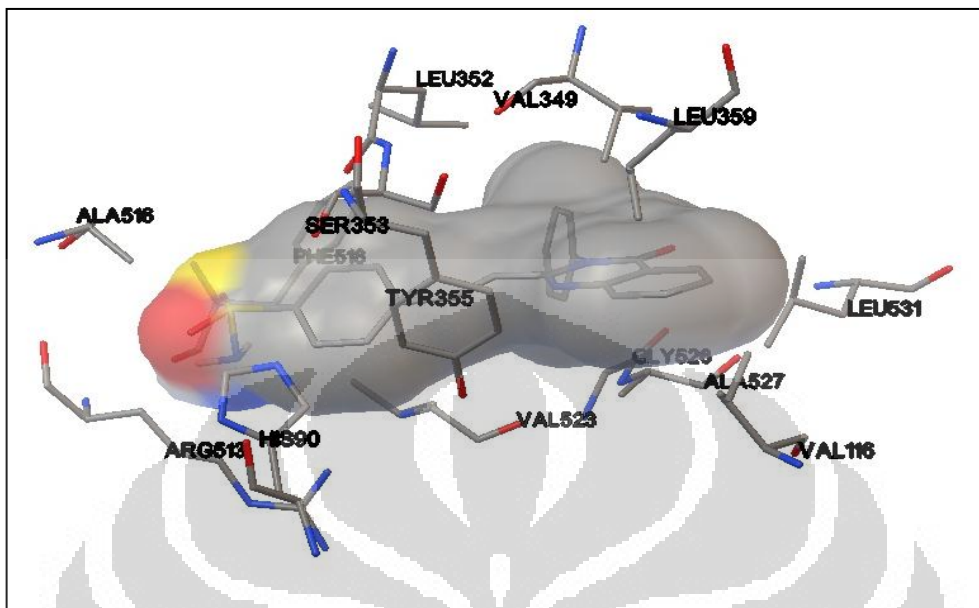


**Lampiran 14.** Visualisasi struktur tiga dimensi hasil penambatan molekuler terhadap 6COX dengan AutoDock



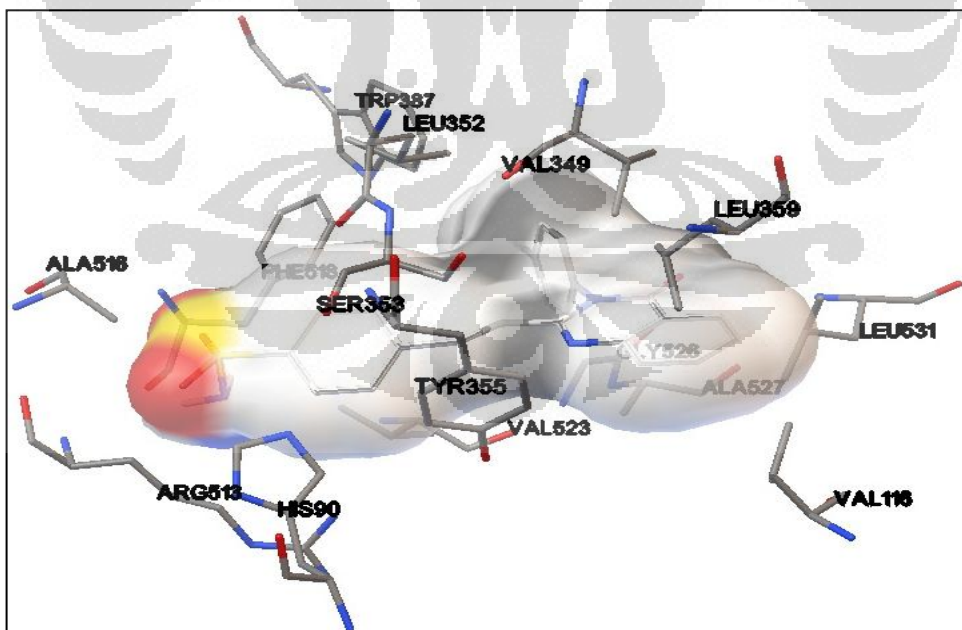
[Sumber: Olahan penulis dengan PyMOL]

**Lampiran 15.** Visualisasi hasil penambatan molekuler senyawa 2a dengan 6COX

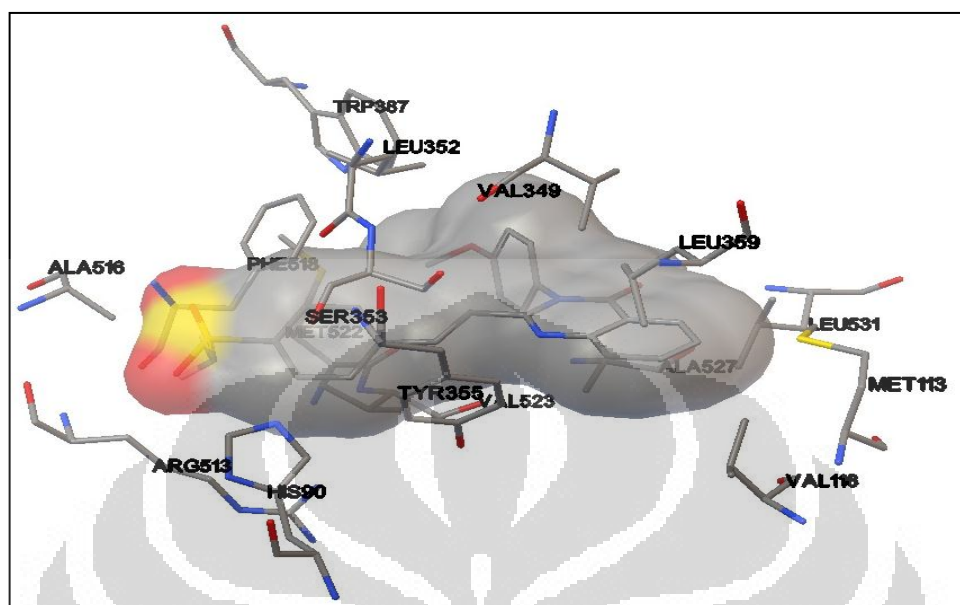


[Sumber: Olahan penulis dengan AutoDock Tools]

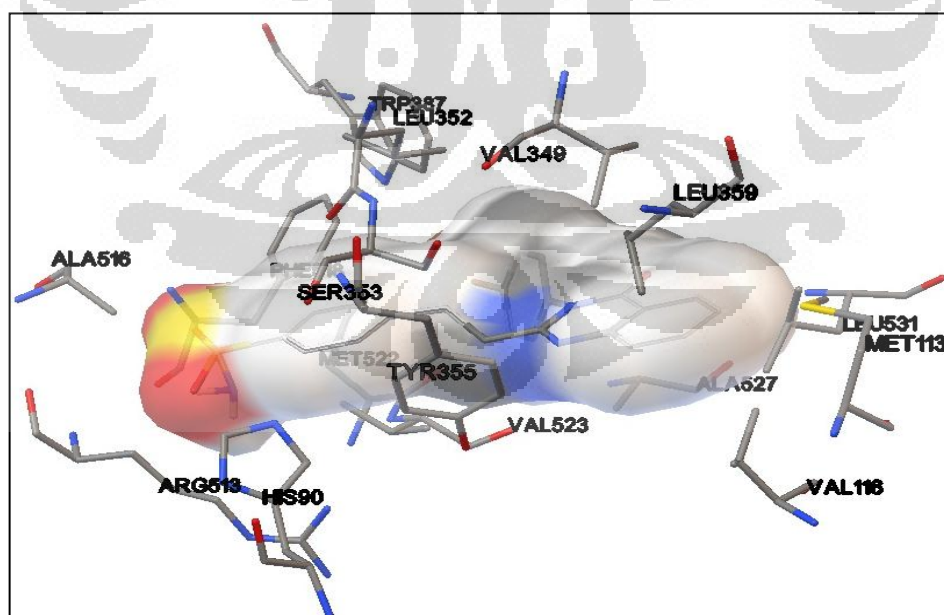
**Lampiran 16.** Visualisasi hasil penambatan molekuler senyawa 2b dengan 6COX



[Sumber: Olahan penulis dengan AutoDock Tools]

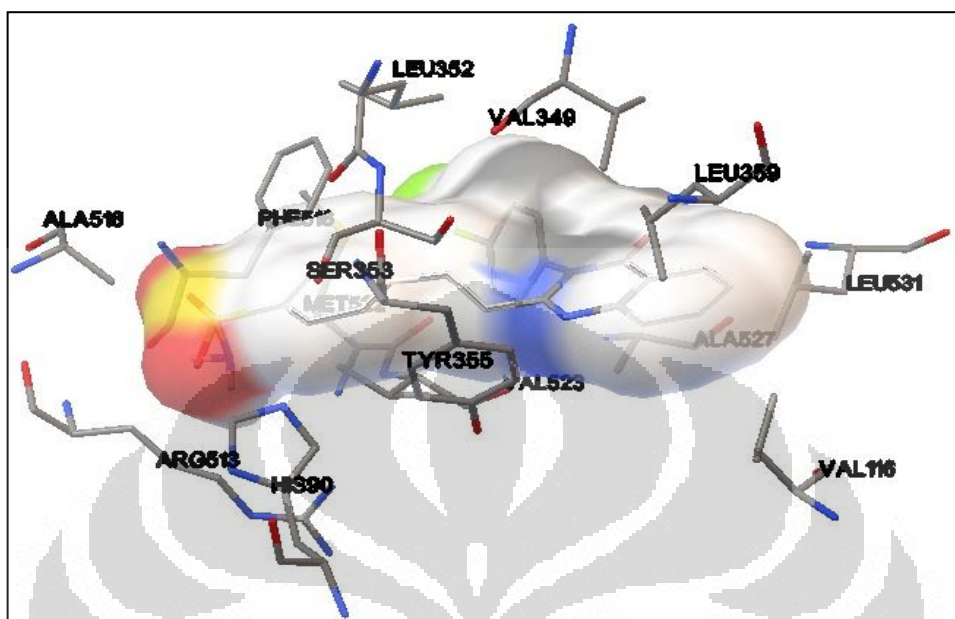
**Lampiran 17.** Visualisasi hasil penambatan molekuler senyawa 2c dengan 6COX

[Sumber: Olahan penulis dengan AutoDock Tools]

**Lampiran 18.** Visualisasi hasil penambatan molekuler senyawa 2d dengan 6COX

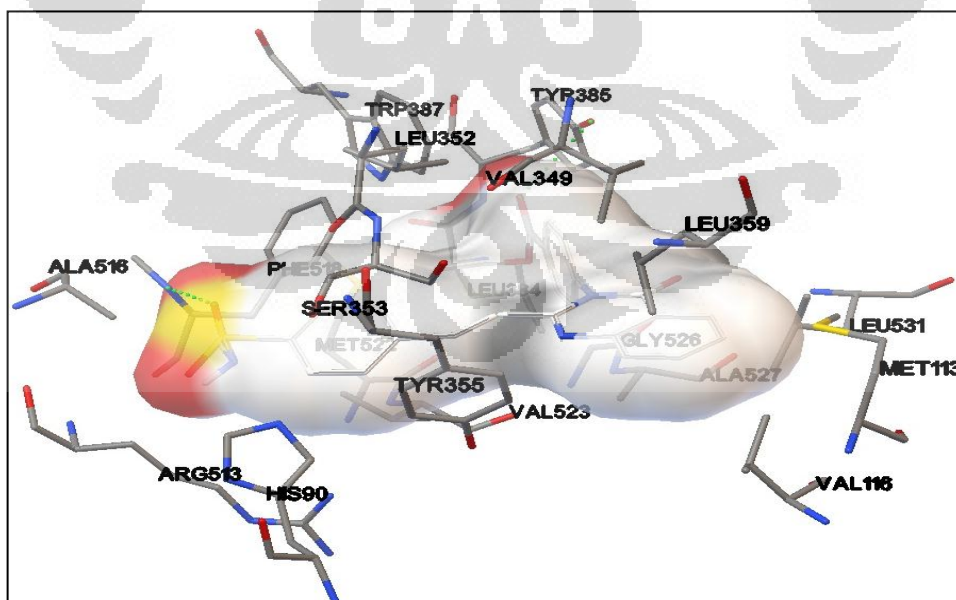
[Sumber: Olahan penulis dengan AutoDock Tools]

**Lampiran 19.** Visualisasi hasil penambatan molekuler senyawa 2e dengan 6COX



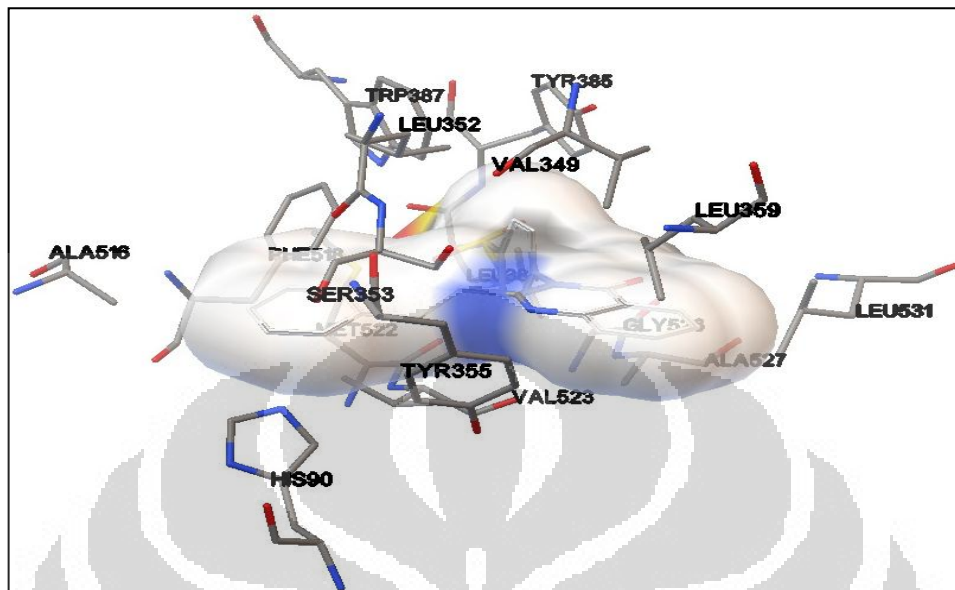
[Sumber: Olahan penulis dengan AutoDock Tools]

**Lampiran 20.** Visualisasi hasil penambatan molekuler senyawa 2f dengan 6COX



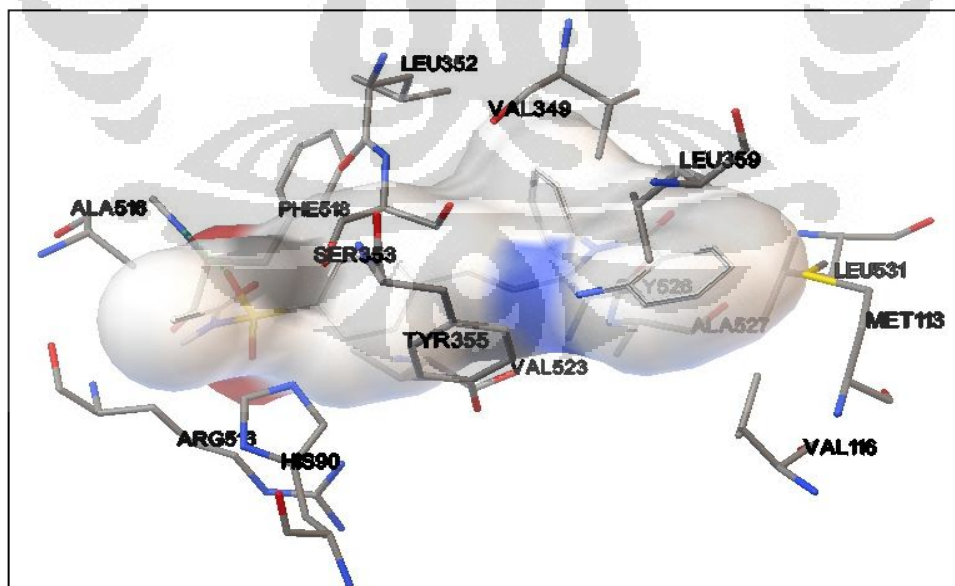
[Sumber: Olahan penulis dengan AutoDock Tools]

**Lampiran 21.** Visualisasi hasil penambatan molekuler senyawa 2i dengan 6COX



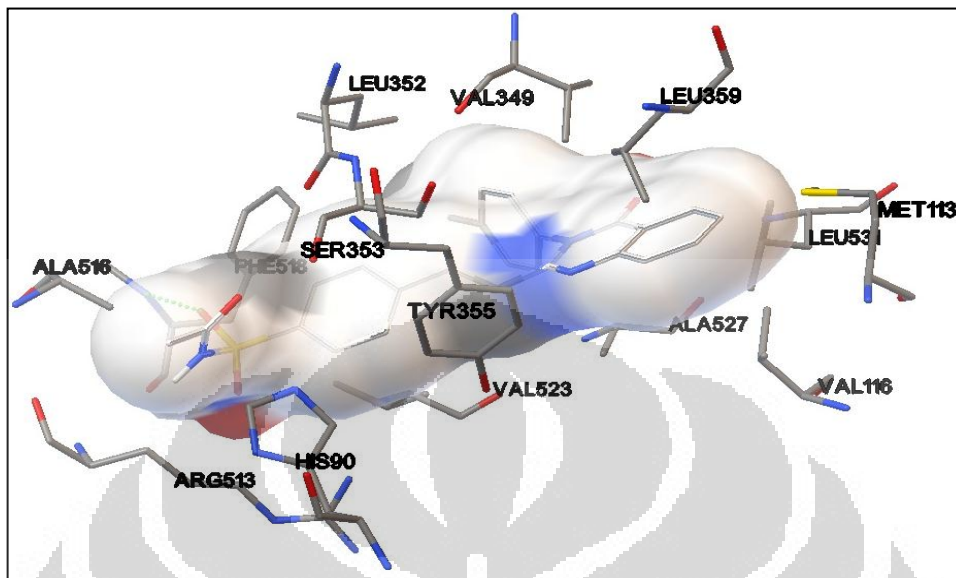
[Sumber: Olahan penulis dengan AutoDock Tools]

**Lampiran 22.** Visualisasi hasil penambatan molekuler senyawa 2aa dengan 6COX



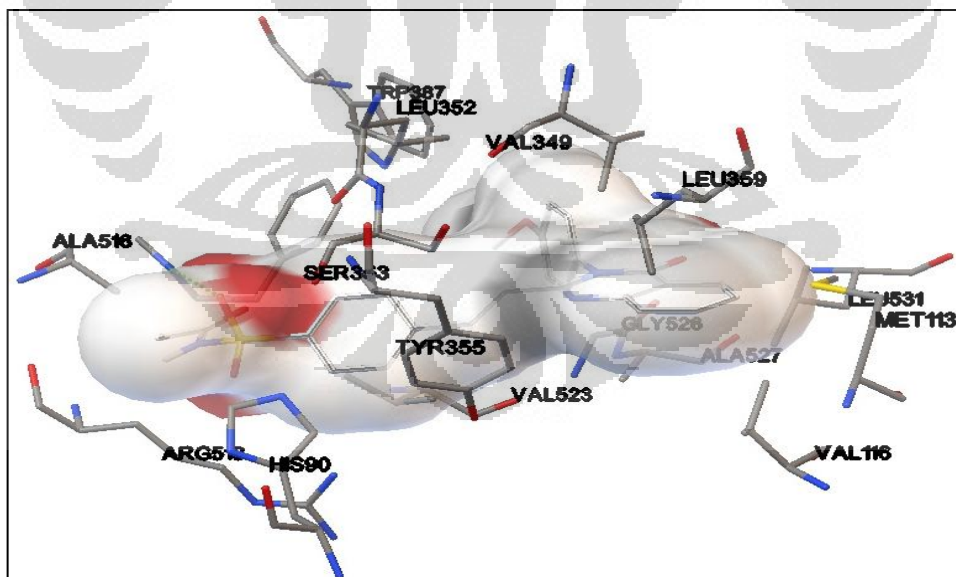
[Sumber: Olahan penulis dengan AutoDock Tools]

**Lampiran 23.** Visualisasi hasil penambatan molekuler senyawa 2ba dengan 6COX



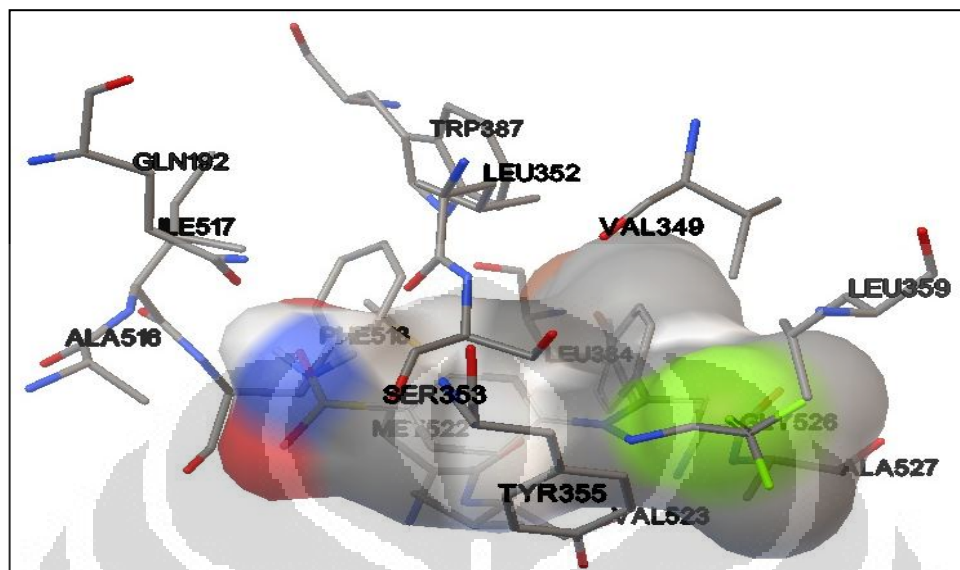
[Sumber: Olahan penulis dengan AutoDock Tools]

**Lampiran 24.** Visualisasi hasil penambatan molekuler senyawa 2ca dengan 6COX



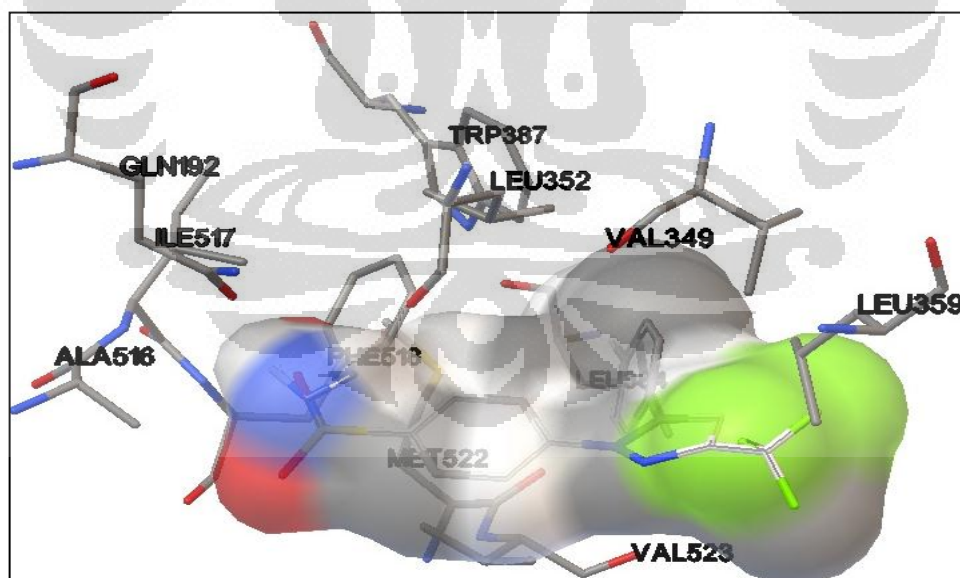
[Sumber: Olahan penulis dengan AutoDock Tools]

**Lampiran 25.** Visualisasi hasil penambatan molekuler senyawa SC-558 dengan 6COX



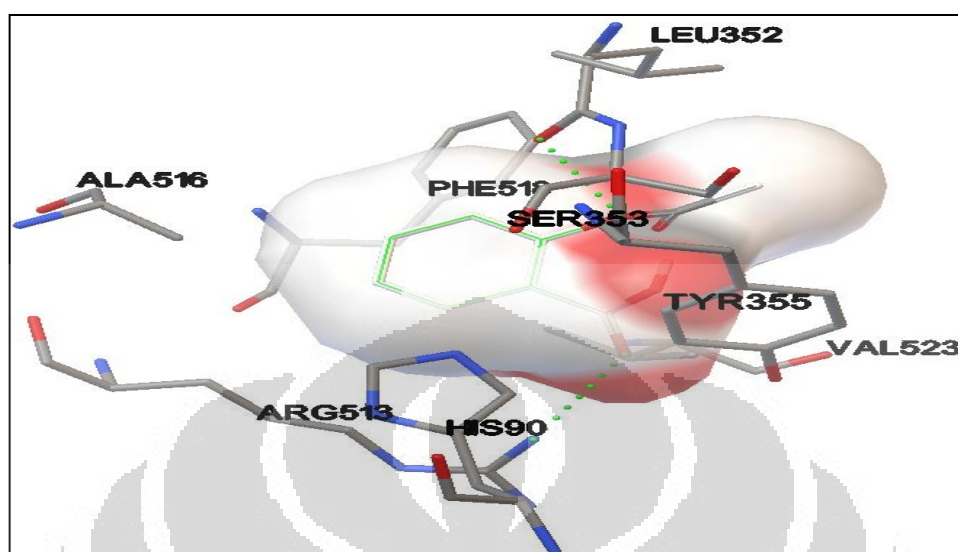
[Sumber: Olahan penulis dengan AutoDock Tools]

**Lampiran 26.** Visualisasi hasil penambatan molekuler senyawa selekoksib dengan 6COX



[Sumber: Olahan penulis dengan AutoDock Tools]

**Lampiran 27.** Visualisasi hasil penambatan molekuler senyawa aspirin dengan 6COX



[Sumber: Olahan penulis dengan AutoDock Tools]



### Lampiran 28. Berkas min.in minimisasi ligan untuk penambatan molekuler

```
Initial minimisation of 2a
&cntrl
imin=1, maxcyc=500, ncyc=250,
cut=12, ntb=0, igb=0,
&end
```

### Lampiran 29. Berkas Leap.in

```
source leaprc.ff99SB
source leaprc.gaff
loadamberparams 2a_HD.frcmod
2a_HD = loadmol2 2a_HD_ob_bcc.mol2
6COX_HD = loadpdb 6COX.pdb
6COX_2a = combine {6COX_HD 2a_HD}

saveamberparm 2a_HD 2a_HD.prmtop 2a_HD.inpcrd

charge 6COX_HD
charge 6COX_2a

addIons2 6COX_HD Na+ 0
addIons2 6COX_2a Na+ 3

charge 6COX_HD
charge 6COX_2a

saveamberparm 6COX_HD 6COX_HD.prmtop 6COX_HD.inpcrd
saveamberparm 6COX_2a 6COX_2a.prmtop 6COX_2a.inpcrd

solvateOct 6COX_2a TIP3PBOX 12.0

saveamberparm 6COX_2a 6COX_2a_solv.prmtop 6COX_2a_solv.inpcrd

charge 6COX_HD
charge 6COX_2a
quit
```

**Lampiran 30. Berkas min.in**

```

-6COX_2a_HD: initial minimisation solvent + ions
&cntrl
  imin   = 1,
  maxcyc = 1000,
  ncyc   = 500,
  ntb    = 1,
  ntr    = 1,
  cut    = 12
/
Hold the Protein and Ligand fixed
500.0
RES 33 583
END
END

```

**Lampiran 31. Berkas min\_all.in**

```

-6COX_2a_HD_all: minimization of the entire molecular
system
&cntrl
  imin   = 1,
  maxcyc = 1000,
  ncyc   = 500,
  ntb    = 1,
  cut    = 12
/
&END

```

**Lampiran 32. Berkas eq1.in**

```

Heating up the system equilibration stage 1, eq1_2a
&cntrl
  nstlim=5000, dt=0.002, ntx=1, irest=0, ntpr=250, ntwr=5000, ntwx=500,
  tempi =0, temp0=300.0, ntt=3, gamma_ln=2.0, cut=12, tautp=2.0, ig=-1,
  ntb=1, ntp=0,
  ntc=2, ntf=2,
  nrespa=2,
&end

```

**Lampiran 33. Berkas eq2.in**

```
Constant pressure constant temperature equilibration stage 2, eq2_2a
&cntrl
  nstlim=5000, dt=0.002, ntx=5, irect=1, ntp=250, ntwr=5000,
  ntwx=500,

  temp0=300.0, ntt=3, gamma_ln=2.0, cut=12, tautp=2.0, ig=-1,

  ntb=2, ntp=1,

  ntc=2, ntf=2,

  nrespa=1,
&end
```

**Lampiran 34. Berkas eq3.in**

```
Constant pressure constant temperature equilibration stage
3, eq3_2a
&cntrl
  nstlim=50000, dt=0.002, ntx=5, irect=1, ntp=250,
  ntwr=5000, ntwx=500,

  temp0=300.0, ntt=3, gamma_ln=2.0, cut=12, tautp=2.0, ig=-
1,

  ntb=2, ntp=1,

  ntc=2, ntf=2,

  nrespa=1,
&end
```

### Lampiran 35. Berkas prod.in

```

6COX-2a-HD in water and ion : 200ps of MD
&cntrl
  imin = 0,  irest = 1,  ntx = 5,
  ntb = 2,  pres0 = 1.0,  ntp = 1,
  taup = 2.0,  ig=-1,
  ntr = 0,
  ntc = 2,  ntf = 2,
  tempi = 300.0,  temp0 = 300.0,
  ntt = 3,  gamma_ln=2.0,  cut=12,
  nstlim = 100000,  dt = 0.002,
  ntpr = 250,  ntwx = 500,  ntwr = 5000
/

```

### Lampiran 36. Keterangan parameter simulasi dinamika molekuler (Case et al., 2010).

1. **imin** = 0, perjalanan simulasi dinamika molekuler tanpa minimisasi
2. **irest** = 1 & **ntx** = 5, mengulang perhitungan dari file.rst sebelumnya
3. **ntb** = 2, tekanan konstan
4. **pres0** = 1, tekanan pada 1 atm
5. **ntp** = 1, dinamika molekuler dengan *isotropic position scaling*
6. **taup** = 2, *pressure relaxation time* dalam satuan pikodetik
7. **ntc** = 2, ikatan hidrogen ditahan
8. **ntf** = 2, interaksi yang melibatkan ikatan hidrogen dihilangkan
9. **tempi** = 300 & **temp0** = 300, suhu awal dan suhu akhir dari simulasi
10. **ntt** = 3 & **gamma\_ln**=2.0, *Langevin dynamics temperature regulation*, dengan frekuensi interaksi antar atom sebanyak jumlah **gamma\_ln**
11. **cut** = 12, jarak maksimal interaksi atom atom dalam satuan Angstrom.
12. **nstlim** = 100000, simulasi dinamika molekuler sebanyak 100.000 langkah

### Lampiran 37. Berkas run\_md.x

```
#!/bin/csh
set AMBERHOME="/home/arryy/amber11"
set MDSTARTJOB=2
set MDENDJOB=11
set MDCURRENTJOB=$MDSTARTJOB
set MDINPUT=0

echo -n "Starting Script at: "
date
echo ""

while ( $MDCURRENTJOB <= $MDENDJOB )
  echo -n "Job $MDCURRENTJOB started at: "
  date
  @ MDINPUT = $MDCURRENTJOB - 1
  sander -O -i prod_2a.in \
    -o 6COX_2a_solv_md$MDCURRENTJOB.out \
    -p 6COX_2a_solv.prmtop \
    -c 6COX_2a_solv_md$MDINPUT.rst \
    -r 6COX_2a_solv_md$MDCURRENTJOB.rst \
    -x 6COX_2a_solv_md$MDCURRENTJOB.mdcrd
  gzip -9 -v 6COX_2a_solv_md$MDCURRENTJOB.mderd
  echo -n "Job $MDCURRENTJOB finished at: "
  date
  @ MDCURRENTJOB = $MDCURRENTJOB + 1
end
echo "ALL DONE"
```

### Lampiran 38. Berkas do.run

```
nohup ./run_md.x >& run.log &
```

### Lampiran 39. Berkas ptraj.in

```
trajin 6COX_2a_solv_eq1.mdcrd
trajin 6COX_2a_solv_eq2.mdcrd
trajin 6COX_2a_solv_eq3.mdcrd
center :33-583
image center familiar
rms first out 6COX_2a_solv_eq1-3_rms.out :35-581@CA
trajout 6COX_2a_solv_eq1-3_nice.crd nobox
```

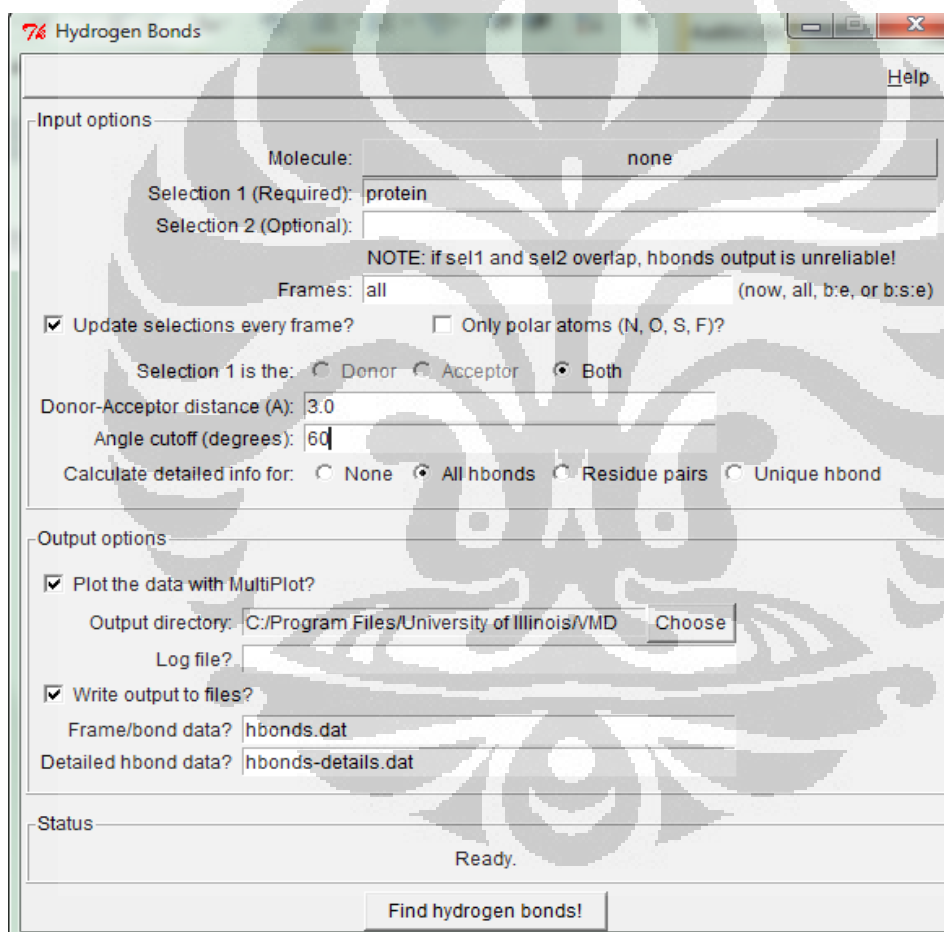
#### Lampiran 40. Berkas ptraj\_rmsf.in

```

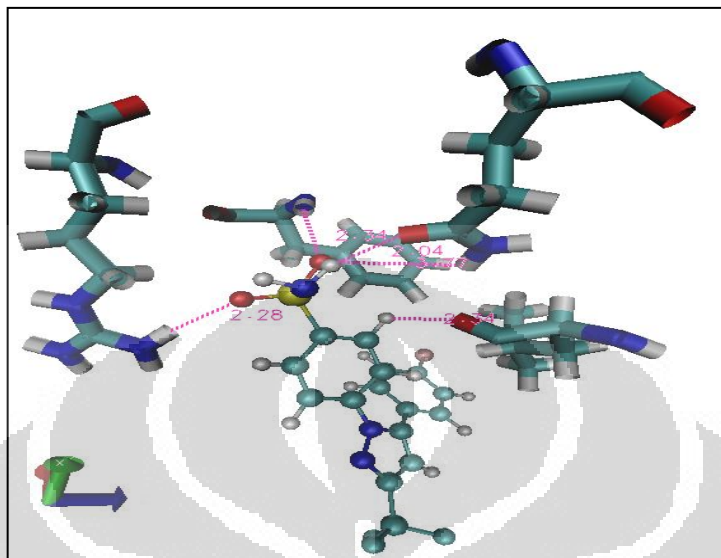
trajin 6COX_2a_solv_eq1.mdcrd
trajin 6COX_2a_solv_eq2.mdcrd
trajin 6COX_2a_solv_eq3.mdcrd
rms first out 6COX_2a_solv_eq1-3_byres_rmsf.out
:33-583@CA
atomicfluct out 6COX_2a_eq1-
3_byres_rsmf_nice.apf @CA byres
go

```

#### Lampiran 41. Tampilan piranti lunak VMD pada saat analisis ikatan hidrogen

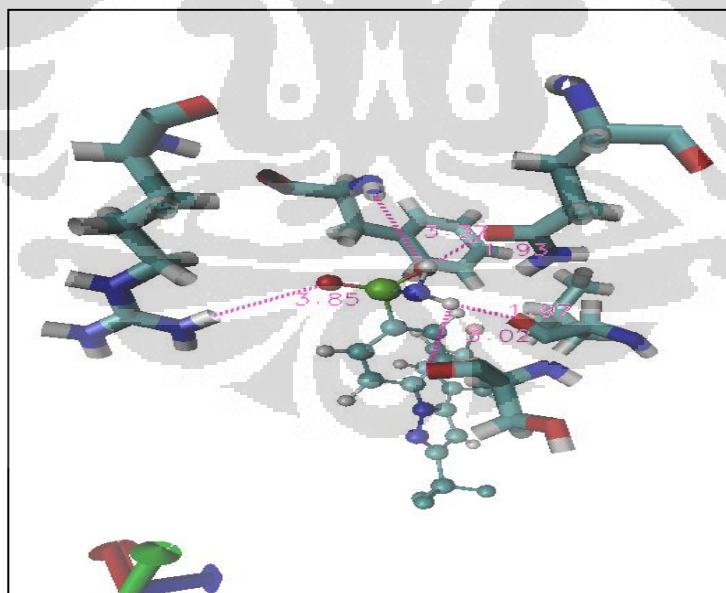


**Lampiran 42.** Interaksi ikatan hidrogen 6COX dengan senyawa S58 hasil penambatan molekuler pada waktu 1500 pikodetik hasil simulasi dinamika molekuler



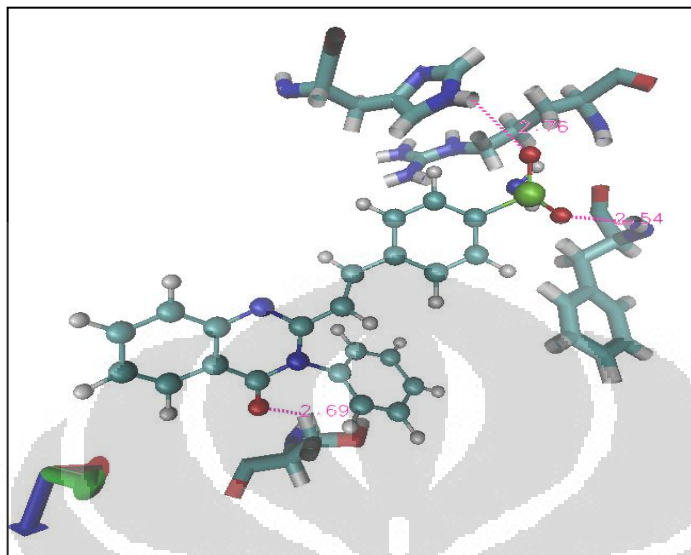
[Sumber: Olahan penulis dengan VMD]

**Lampiran 43.** Interaksi ikatan hidrogen 6COX dengan senyawa S58 kristal pada waktu 1500 pikodetik hasil simulasi dinamika molekuler



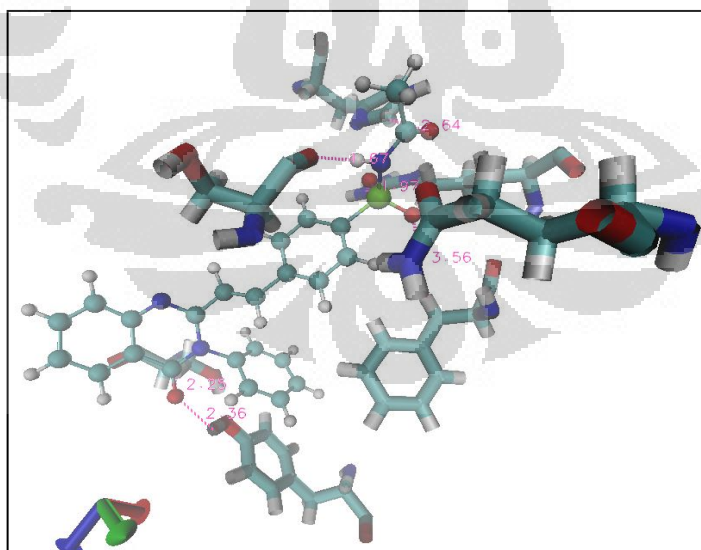
[Sumber: Olahan penulis dengan VMD]

**Lampiran 44.** Interaksi ikatan hidrogen 6COX dengan senyawa 2a pada waktu 1500 pikodetik hasil simulasi dinamika molekuler



[Sumber: Olahan penulis dengan VMD]

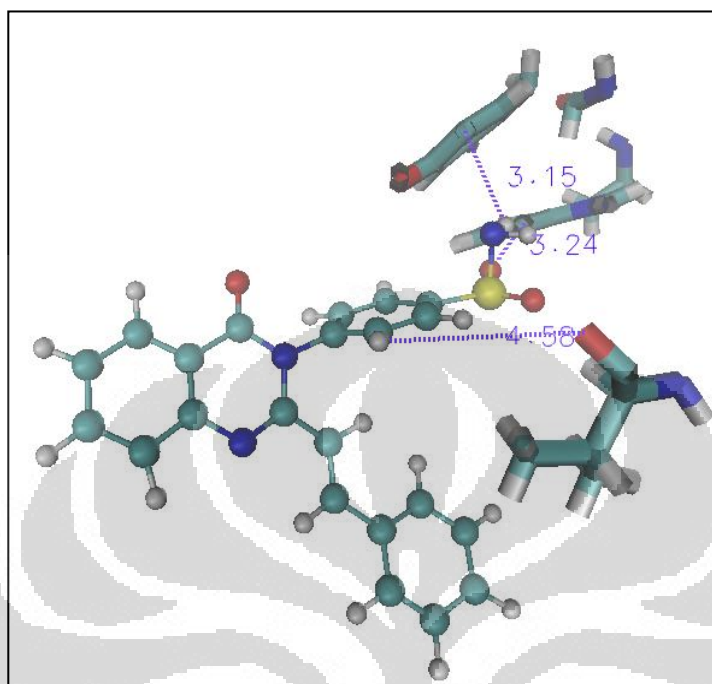
**Lampiran 45.** Interaksi ikatan hidrogen 6COX dengan senyawa 2aa pada waktu 1500 pikodetik hasil simulasi dinamika molekuler



[Sumber: Olahan penulis dengan VMD]



**Lampiran 46.** Interaksi ikatan hidrogen 6COX dengan senyawa 2i pada waktu 1500 pikodetik hasil simulasi dinamika molekuler

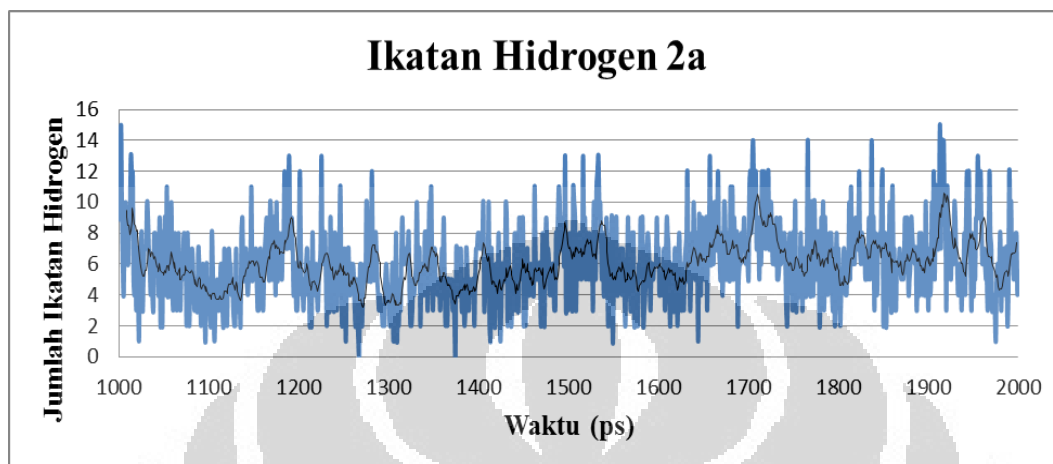


[Sumber: Olahan penulis dengan VMD]

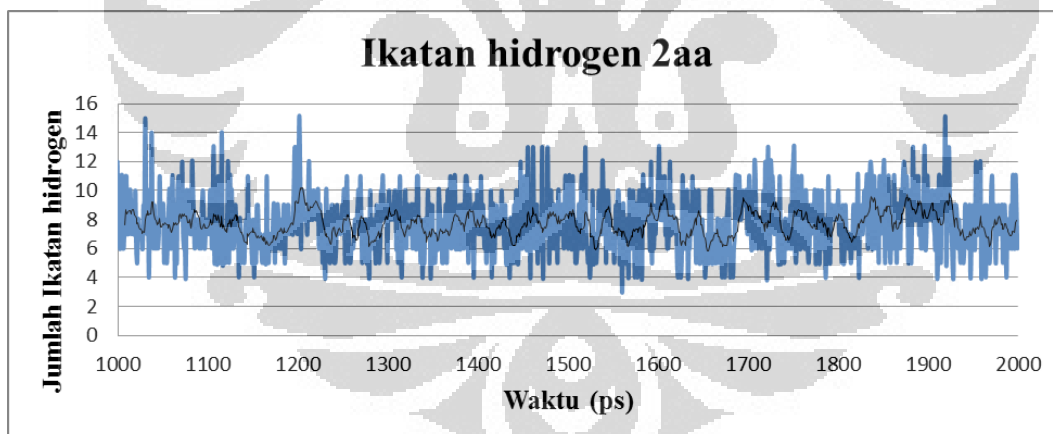
**Lampiran 47.** Tabel RMSF pada residu penting hasil simulasi dinamika molekuler pada waktu 1-2 nanodetik

	Senyawa				
	2a	2aa	2i	S58 HD	S58 Kristal
GLN 192	0,415629	0,421209	0,467854	0,505557	0,462049
ILE 517	0,391591	0,356462	0,404702	0,40022	0,433694
ALA 516	0,459995	0,436497	0,494642	0,44779	0,533623
PHE 518	0,405046	0,379893	0,419038	0,398514	0,459799
TRP 387	0,387703	0,42999	0,490834	0,463939	0,392675
LEU 352	0,402886	0,377269	0,515321	0,443231	0,411052
SER 353	0,442664	0,39597	0,564308	0,497054	0,403673
LEU 384	0,378049	0,437889	0,535784	0,406417	0,3901
MET 522	0,486769	0,441552	0,467627	0,514236	0,475076
TYR 355	0,548172	0,457379	0,596539	0,569894	0,519098
VAL 523	0,465414	0,410188	0,559598	0,45746	0,425001
GLY 526	0,544816	0,476485	0,562155	0,44984	0,437985
ALA 527	0,443798	0,461663	0,526094	0,418515	0,383219
LEU 359	0,558431	0,459756	0,491646	0,510003	0,458397
VAL 349	0,427604	0,40589	0,439715	0,451839	0,379011
ARG 513	0,434465	0,474243	0,563304	0,475057	0,511629
HIS 90	0,612596	0,603668	0,583623	0,502042	0,529494
LEU 531	0,464328	0,45055	0,522599	0,420247	0,441243
VAL 116	0,670549	0,482729	0,56696	0,698383	0,499708
MET 113	0,591063	0,462891	0,473088	0,644919	0,447159
TYR 385	0,406089	0,406767	0,508408	0,391311	0,351041

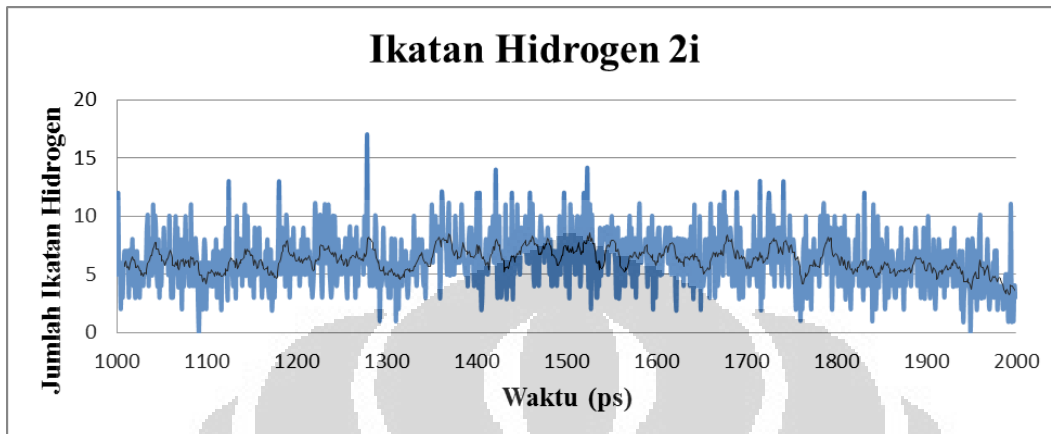
**Lampiran 48.** Grafik ikatan hidrogen 6COX dengan 2a selama simulasi dinamika molekuler pada waktu 1-2 nanodetik



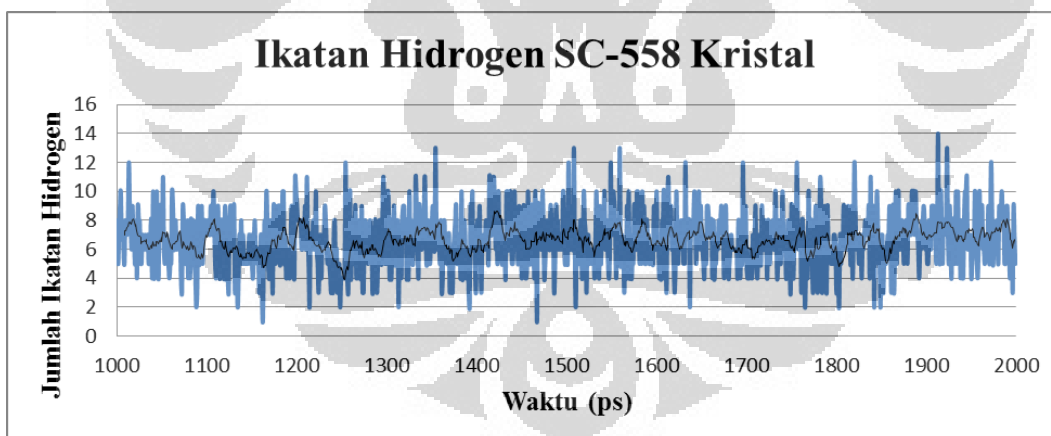
**Lampiran 49.** Grafik ikatan hidrogen 6COX dengan 2aa selama simulasi dinamika molekuler pada waktu 1-2 nanodetik



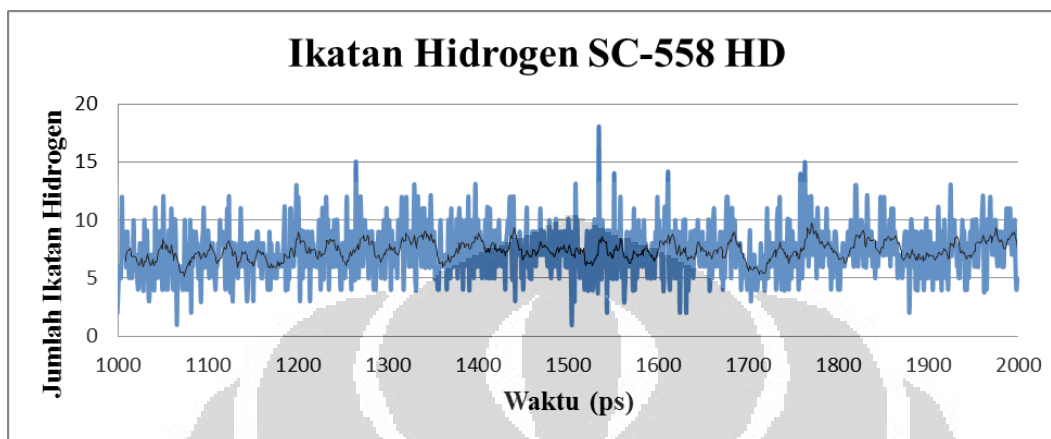
**Lampiran 50.** Grafik ikatan hidrogen 6COX dengan 2i selama simulasi dinamika molekuler pada waktu 1-2 nanodetik



**Lampiran 51.** Grafik ikatan hidrogen 6COX dengan SC-558 kristal selama simulasi dinamika molekuler pada waktu 1-2 nanodetik



**Lampiran 52.** Grafik ikatan hidrogen 6COX dengan SC-558 hasil penambatan molekul selama simulasi dinamika molekuler pada waktu 1-2 nanodetik



**Lampiran 53.** Data ikatan hidrogen hasil simulasi dinamika molekuler pada waktu 1-2 nanodetik

Inhibitor	Donor	Akseptor	<i>HB_distance</i>	<i>DA_distance</i>	Sudut	<i>Occupancy</i>
S58 HD	S58-N ; S58-H4	Gln 192-OE1	2,242 ± 0,21	3,063 ± 0,19	137,654 ± 9,59	66,10 %
	S58-N ; S58-H4	Leu 352-O	2,270 ± 0,26	3,154 ± 0,19	148,149 ± 15,57	20,60 %
	Arg 513-NH1 ; Arg 513-HH11	S58-O1	2,212 ± 0,23	3,101 ± 0,2	148,593 ± 12,71	68,10 %
	Phe 518-N; Phe 518-H	S58-O	2,267 ± 0,21	3,152 ± 0,17	147,069 ± 10,24	80,90 %
S58 Kristal	S58-N3; S58-HN32	Gln 192-OE1	2,142 ± 0,21	3,01 ± 0,19	143,569 ± 10,56	83,70 %
	S58-N3; S48-HN31	Leu 352-O	2,152 ± 0,23	3,081 ± 0,19	153,42 ± 12,01	48,30 %
	S58-N3; S58-HN31	Ser 353-O	2,115 ± 0,24	2,975 ± 0,18	143,562 ± 13,63	43,40 %
	Arg 513-NH1; Arg 513-HH11	S58-O1	2,127 ± 0,22	3,093 ± 0,22	162,047 ± 9,80	20,10 %
	Phe 518-N; Phe 518-H	S58-O1	2,409 ± 0,15	3,321 ± 0,12	151,335 ± 9,58	16,10 %
2i	Ser 530-OG; Ser 530-HG	2i-O	2,193 ± 0,25	2,975 ± 0,18	139,087 ± 10,04	2,40 %
	2i-N2; 2i-H16	Tyr 385-OH	2,402 ± 0,21	3,236 ± 0,16	149,995 ± 14,13	20,70 %
	Trp 387-CZ2; Trp 387-HZ2	2i-O1	2,421 ± 0,11	3,327 ± 0,10	143,290 ± 14,38	60,50%
	2i-C19; 2i-H8	Val 523-O	2,549 ± 0,13	3,345 ± 0,10	129,934 ± 7,61	32,80 %
	2i-N2; 2i-H16	Tyr 385-CE2	2,524 ± 0,14	3,298 ± 0,13	133,391 ± 9,26	40,70 %
2a	His 90-NE2; His 90-HE2	2a-O	1,996 ± 0,21	2,902 ± 0,16	151,801 ± 15,05	50,80 %
	Phe 518-N; Phe 518- H	2a-O1	2,194 ± 0,20	3,123 ± 0,18	153,778 ± 9,19	40,50 %
	Arg 513-NH1 ; Arg 513-HH11	2a-N2	2,172 ± 0,18	3,136 ± 0,17	161,864 ± 10,40	44,80 %
2aa	Ser 530-OG; Ser 530-HG	2aa-O	2,44 ± 0,33	3,141 ± 0,27	131,304 ± 12,33	5 %
	Arg 513- NH1; Arg 513-HH11	2aa-O1	1,891 ± 0,13	2,863 ± 0,12	16,861 ± 9,44	99,80 %
	Tyr 385-OH; Tyr 385-HH	2aa-O	2,047 ± 0,24	2,894 ± 0,21	148,480 ± 12,03	94,80 %
	2aa-N2; 2aa-H10	Ser 353-O	1,881 ± 0,12	2,852 ± 0,11	162,556 ± 9,19	100 %
	His 90-CE1; His 90-HE1	2aa-O3	2,394 ± 0,11	3,361 ± 0,09	150,779 ± 12,23	50,40 %