

**PENILAIAN HASIL *MOLECULAR DOCKING* TURUNAN
DIKETOPIPERAZIN SEBAGAI INHIBITOR HIV-1
PROTEASE**

NASKAH PUBLIKASI



Oleh:

**BAYU AJI NEGARA
K 100 090 004**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
SURAKARTA
2014**

**PENILAIAN HASIL *MOLECULAR DOCKING* TURUNAN
DIKETOPIPERAZIN SEBAGAI INHIBITOR HIV-1
PROTEASE**

NASKAH PUBLIKASI

**Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
derajat Sarjana Farmasi (S.Farm) pada Fakultas Farmasi
Universitas Muhammadiyah Surakarta
di Surakarta**

Oleh :

**BAYU AJI NEGARA
K 100 090 004**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
SURAKARTA
2014**

PENGESAHAN NASKAH PUBLIKASI

Berjudul :

PENILAIAN HASIL *MOLECULAR DOCKING* TURUNAN DIKETOPIPERAZIN SEBAGAI INHIBITOR HIV-1 PROTEASE

Oleh :

**BAYU AJI NEGARA
K 100090004**

**Dipertahankan di hadapan Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta
Pada Tanggal : 20 Januari 2014**

**Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Muhammadiyah Surakarta
Dekan,**

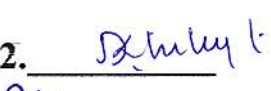
Arifah Sri Wahyuni, M.Sc., Apt.

Penguji :

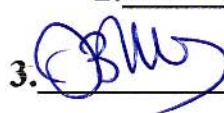
1. Dr. Muhammad Da'i, M.Si., Apt.

1. 

2. Ika Trisharyanti D. K., M. Farm., Apt.

2. 

3. Broto Santoso, M.Sc., Apt.

3. 

**PENILAIAN HASIL *MOLECULAR DOCKING* TURUNAN
DIKETOPIPERAZIN SEBAGAI INHIBITOR HIV-1
PROTEASE
*DOCKING ASESMENT DERIVATIVES OF
DIKETOPIPERAZINE AS HIV-1 PROTEASE INHIBITOR***

Bayu aji negara, Broto Santoso

Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta
Jl. A Yani Tromol Pos I, Pabelan Kartasura Surakarta 57102
bayu.ajinegara@gmail.com

Abstrak

Tantangan pengobatan terhadap *Acquired immune deficiency syndrome* (AIDS) yang disebabkan oleh *human immunodeficiency virus* (HIV) telah menjadi masalah global sejak pertama kali ditemukan pada tahun 1981. Hal ini mendorong untuk dilakukan pencarian senyawa obat baru yang lebih poten dan aman. Dalam penelitian ini digunakan turunan senyawa diketopiperazin dan protein HIV-1 protease sebagai ligan uji dan protein target. Data tersebut diolah dengan metode molecular docking dengan menggunakan program Pyrx-Autodock-Vina. Hasilnya terdapat 3 ligan uji yang mempunyai potensi berinteraksi dengan reseptor HIV-1 protease lebih baik dibanding Saquinavir.

Kata kunci: Diketopiperazin, HIV-1 Protease, *Molecular Docking*

Abstract

Challenge of treatment Acquired immune deficiency syndrome (AIDS) caused by human immunodeficiency virus (HIV) has become a global issue since it was first discovered in 1981. This research prompted to search new drug compounds performed more potent and safe. This study was used diketopiperazine derivative compounds and proteins of HIV-1 protease as a test ligand and the target protein. This research was performed with molecular docking method using Autodock-Vina-Pyrx. The results conclude three of test ligands have better interaction with HIV-1 protease than Saquinavir.

Keyword: Diketopiperazine, HIV-1 Protease, *Molecular Docking*

PENDAHULUAN

Tantangan pengobatan dan pencegahan terhadap *acquired immunodeficiency syndrome* (AIDS) telah menjadi masalah global sejak pertama kali ditemukan pada tahun 1981 di Amerika (Park *et al.*, 2002; Patel *et al.*, 1998; Gao *et al.*, 2011). Penyebab dari munculnya AIDS dikarenakan berkembangnya

human immunodeficiency virus (HIV) yang menyebabkan penurunan tingkat kekebalan tubuh (Zafir, 2010). Jumlah penderitanya saat ini telah mencapai 40 juta orang diseluruh dunia, dengan angka kematian 2 juta orang setiap tahunnya. Di Indonesia sendiri jumlah penderita HIV telah mencapai angka lebih dari 100.000 orang dengan komposisi penderita laki-laki dan perempuan 3:1. Jumlah penderita terbanyak berada di provinsi Papua dan Papua Barat (WHO, 2011).

Terapi yang dilakukan untuk mengobati HIV biasanya menggunakan obat Amprenavir, Atazanavir, Darunavir, Saquinavir, dan Indinavir yang dapat menghambat kerja enzim protease. Pasien yang menggunakan obat-obat tersebut biasanya mengalami efek samping seperti pusing, mual, muntah dan diare karena penggunaan obat dalam waktu yang panjang. Negara-negara maju seperti Amerika dan kawasan Eropa telah menemukan terjadinya penurunan aktivitas serta resistensi terhadap obat HIV yang ada. Hal ini mendorong untuk dilakukan riset lebih lanjut untuk menemukan senyawa obat baru yang poten dan aman untuk menghambat kerja enzim protease HIV.

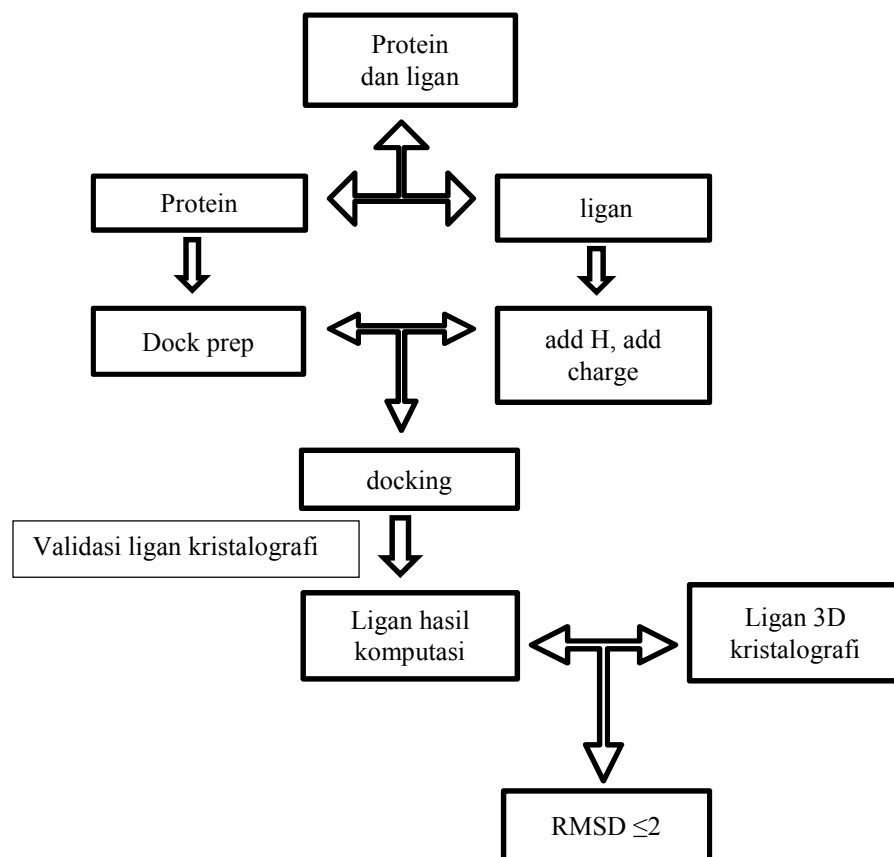
METODE

Bahan Protein target didapatkan dari pemodelan Struktur 3D protein target HIV-1 protease 3S56 dalam bentuk .pdb hasil kristalografi antara protein HIV dengan senyawa Saquinavir dengan ukuran 1,88Å. Struktur 3D diunduh dari alamat situs www.pdb.org. Ligan yang digunakan sebanyak 921 turunan senyawa DKP diunduh dari pusat data Pubchem dengan menggunakan fasilitas pencarian berdasarkan substruktur dari DKP. Molekul tersebut telah teroptimasi dalam bentuk 3D (dimensi) dengan OEChem V-2000.

Alat peralatan yang digunakan komputer dengan spesifikasi PC Intel core i7 3770 3,5 GHz, Quad Core-8 threaded, RAM 32 GB DDR3 10600. Program yang digunakan antara lain MarvinBean Suite, Open Babel, PyMOL versi 1.5.03 *Open Source*, PyRx-Autodock-Vina, Chimera, JChem for Excel.

Preparasi Protein kristalografi 3S56 yang diunduh dari protein data bank dipisahkan dari ligan Saquinavir yang menempel pada rantai protein menggunakan fasilitas dari program Chimera. Protein A dan B yang tersisa dioptimasi dengan fasilitas *dock prep* yang ada. Optimasi yang digunakan sesuai

dengan setingan *default* yang sudah disediakan berupa penambahan hidrogen, muatan dengan metode AMBER. Perbaikan residu dilakukan dengan memanfaatkan fasilitas *dunbrack rotamer library* (Dunbrack, 2002). Ligan Saquinavir (ROC) rantai A dan B yang terdapat pada protein 3S56 dipisahkan dari kedua rantai protein. Berdasarkan gambar interaksi yang didapat dari protein data bank dipilih ligan Saquinavir A sebagai ligan kristalografi yang digunakan dalam proses validasi. Ligan Saquinavir A dipreparasi dengan penambahan Hidrogen (*add H*) serta disesuaikan muatan tiap atomnya dengan *add charge*.



Gambar 1. Urutan cara kerja dalam docking molekul

Validasi Docking Protein 3S56 dan ligan kristalografi Saquinavir yang sudah dipreparasi dimasukkan kedalam program PyRx-Autodock-Vina. *Gridbox* ditempatkan pada lokasi reseptor protein dengan koordinat X:1,291 Y:7,504 Z:37,569 dan dimensi sebesar X:30,031 Y:28,790 Z:27,798. Banyaknya prosesor

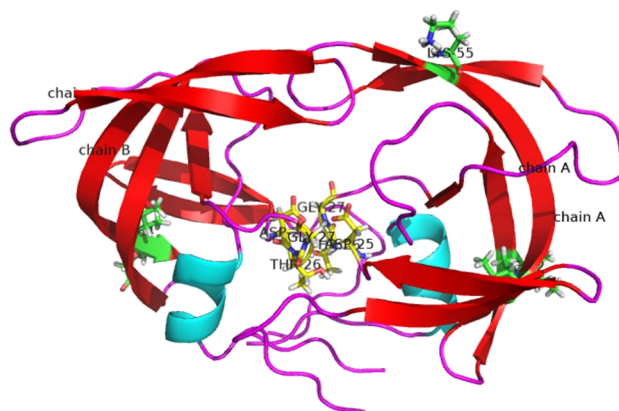
(*exhaustiveness*) yang digunakan sebanyak 4. Ligan kristalografi Saquinavir dan protein dipilih untuk menjalankan proses docking (Gambar 3). Ligan hasil proses docking (ligan validasi) disimpan dan dilakukan perbandingan dengan ligan kristalografi Saquinavir untuk melihat nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD). Hasil docking dinyatakan dapat dilanjutkan jika mempunyai nilai RMSD sebesar ≤ 2

Docking Protein dan ligan turunan DKP dimasukkan kedalam program PyRx. Prosedur yang sama dilakukan seperti pada validasi docking akan tetapi tidak dilakukan perbandingan dengan ligan kristalografi Saquinavir. Hasil yang didapat selama docking disimpan dengan format .csv dan .sdf.

Analisis dilakukan berdasarkan pada interaksi residu dengan ligan yang diamati dengan LigPlot⁺ serta besaran nilai energi ikatan (*binding affinity*) hasil perhitungan *molecular docking*.

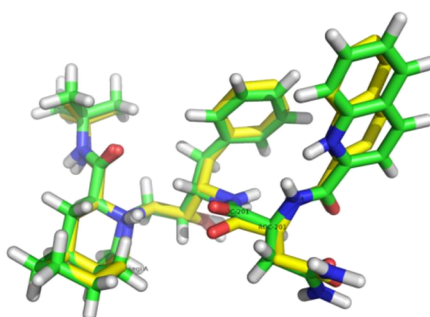
HASIL DAN PEMBAHASAN

Protein enzim HIV-1 Protease terdiri dari dua rantai dengan residu atau residu sebanyak 99 pada masing-masing rantainya. Sisi aktif atau reseptor dari enzim dibentuk dari penggabungan dua rantai yang ada dengan faktor residu utama yang berperan dalam menghasilkan aktifitas adalah Asp25 (Kent, 2009) dalam literatur lainnya Asp25-Gly27-Thr26 (Abad, 2011). Optimasi dilakukan untuk memperbaiki kekurangan yang ada dari data protein yang diunduh, antara lain perbaikan muatan dan residu serta penambahan hidrogen.



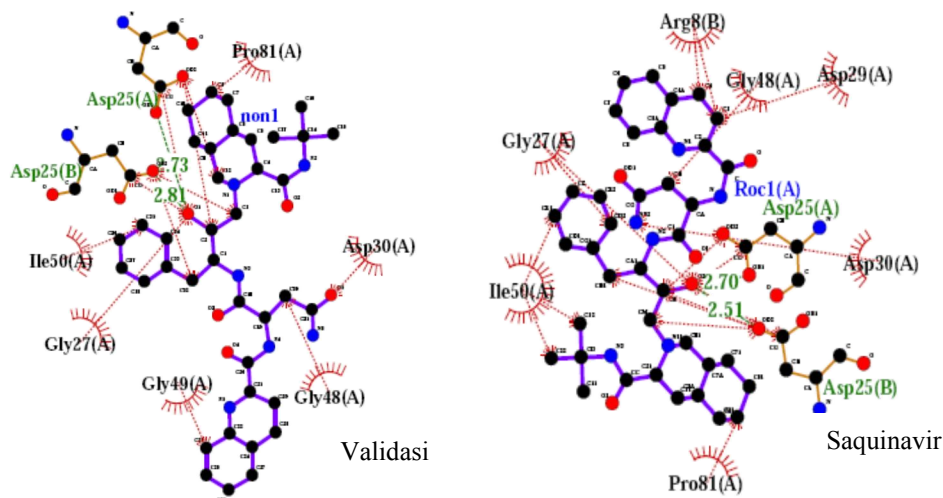
Gambar 2. Protein HIV-1 protease homodimer. Warna magenta = protein loop. Warna merah = protein Sheet. Warna biru muda = protein helix. Warna kuning = residu yang diperbaiki. Warna hijau = residu utama

Optimasi dilakukan menggunakan program Chimera dengan fasilitas *dunbrack rotamer library* berfungsi untuk memperbaiki residu dari protein yang kurang sempurna seperti Lys55A, Ile64B, Ile64A, Glu65B, Ile72A (Gambar 2). Perbaikan terhadap muatan dari residu protein juga dilakukan dengan menggunakan metode AMBER yang sudah disiapkan oleh program chimera, tujuannya kurang lebih untuk menyiapkan lingkungan muatan yang ada didalam protein agar dapat digunakan dalam simulasi biomolekul (ambermd.org, 2013).



Gambar 3. Hasil *alignment* antara ligan validasi (kuning) dengan ligan Saquinavir (hijau) nilai RMSD sebesar 0,264 Å.

Ligan 3D yang digunakan dirubah dengan fasilitas *make ligand*, hal serupa dilakukan juga kepada protein dengan fasilitas *make makromolekul*. Protein dan ligan diproses lebih lanjut dengan memasukkan koordinat lokasi dan besarnya *gridbox*. Letak *gridbox* berada dikoordinat X:1,291 Y:7,504 Z:37,569 dan dimensi sebesar X:30,031 Y:28,790 Z:27,798. Jumlah prosessor yang digunakan sebanyak 4 disesuaikan dengan kemampuan prosessor komputer yang digunakan. Data hasil docking yang didapatkan antara lain beberapa bentuk atau *pose* ligan hasil perhitungan yang disimpan dalam bentuk .sdf serta data log energi ikatanan (*Binding affinity*) dalam satuan kkal/mol dan besaran RMSD yang dihasilkan dari *pose* ligan. Bentuk ligan yang dipakai ditentukan berdasarkan besaran RMSD hasil perhitungan. Bentuk ligan dengan RMSD terkecil (0,0) digunakan sebagai representasi bentuk interaksi antara ligan uji dengan protein.



	Ikatan hidrophobik	Ikatan Hidrogen
Saquinavir	Pro81A, Ile50A, Gly27A, Gly48A, Asp25A, Asp25B, Asp30A, Arg8B, Asp29A	Asp25B (2,73 Å), Asp25A (2,81 Å)
Validasi	Pro81A, Ile50A, Gly27A, Gly48A, Asp25B, Asp25A, Asp30A, Gly49A	Asp25A (2,70 Å), Asp25B (2,51 Å)

* residu yang sama bercetak tebal

Gambar 4. Perbandingan interaksi yang residu yang terjadi antara ligan Saquinavir dan ligan Validasi. Ligan hidrophobik, interaksi hidrophobik, Atom Oksigen, Atom Nitrogen, Interaksi Hidrogen.

Hasil validasi metode didapatkan nilai RMSD sebesar 0,264 Å (Gambar 3). Hasil tersebut menunjukkan hasil perhitungan docking antara protein dan ligan memberikan hasil yang hampir serupa karena memiliki nilai ≤ 2 Å (Mihasan, 2012). Hasil pengamatan yang dilakukan dengan menggunakan program LigPlot⁺ dengan rentang jarak 2-3,5 Å dari ligan. Terlihat residu yang berinteraksi dengan ligan validasi (Gambar 4) memiliki kemiripan dengan ligan Saquinavir antara lain Pro81A, Ile50A, Gly27A, Gly48A, Asp25A, Asp25B, Asp30A (Tabel 1).

Tabel 1. Perbandingan energi ikatan ligan uji dengan ligan Saquinavir

Kode Senyawa	Energi ikatan
	Kcal/mol
16401256	-12,9
16401079	-12,6
16399855	-12,5
16403714	-11,9
397176	-11,9
Saquinavir	-12,1

Ligan uji yang diambil dari bank data PubChem dimasukkan kedalam program docking PyRx-Autodock-Vina dan diperlakukan dengan cara yang sama

dengan proses validasi. Hasil perhitungan docking didapati bentuk beberapa bentuk ligan uji, sehingga perlu dilakukan pemilihan ligan berdasarkan nilai RMSD terkecil (0,0) sampai didapatkan kembali 921 ligan dengan bentuk interaksi terbaik dengan protein. dalam penelitian ini disajikan 5 ligan dengan energi ikatan terkecil (Tabel 1).

Kode Senyawa	R1	R2	R3
16401256			H
16401079			H
16399855			H
16403714			H
397176		H	

Tabel 2. Perbedaan struktur ligan uji

Pengamatan secara visual dengan menggunakan program PyMol 5 ligan uji yang memiliki energi ikatan terkecil memiliki bentuk konformasi yang hampir mirip. Terlihat 3 ligan yaitu 16401256, 16401079, 16399855 memiliki konformasi yang sama pada gugus intinya dan rantai sampingnya hanya saja perbedaannya terletak pada gugus NO_2 dan OCH_3 , sehingga jika dilihat ketiganya

[illegible]

Pengamatan struktural terhadap 5 ligan uji terlihat ligan uji mempunyai 1 struktut inti yang sama dengan 3 rantai samping yang bervariasi (Tabel 2). Ligan 16401256, 16401079, 16399855, 16403714 mempunyai gugus R2 yang sama 1-benzylpiperidine hanya dibedakan oleh gugus R1. Ligan 397176 merupakan ligan yang paling beda karena tidak mempunyai gugus pada bagian R2 akan tetapi mempunyai gugus pada R3 berupa 3-methyl-1H-indole. Gugus R1 secara berurutan berupa asam phenilazinik untuk ligan 16401256, benzen untuk ligan

16401079, anisol untuk ligan 16399855, bromo benzen untuk ligan 16403714 dan sikloheksan untuk ligan 397176.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan Hasil Penelitian yang dilakukan bisa disimpulkan beberapa hal antara lain: terdapat tiga ligan yang berpotensi sebagai inhibitor HIV-1 Protease dilihat dari energi ikatan yaitu ligan 16401256 energi ikatan -12,9 Kcal/mol. Ligan kedua berkode 16401079 dengan nilai -12,6 Kcal/mol. Ligan terakhir berkode 16399855 dengan nilai -12,5 Kcal/mol. Residu Ile50B dan Gly49B adalah yang paling sering ditemukan berinteraksi dengan ligan.

Saran Perlu dilakukan penelitian dengan menggunakan protein HIV-1 kristalografi lainnya untuk dapat memastikan keberulangan metode yang digunakan, selain itu juga perlu dilakukan pengujian dilaboratorium terhadap 3 senyawa DKP diatas untuk memastikan potensi aktivitasnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Abad, M. J., Bedoya, L. M., & Bermejo, P., 2011. HIV-Screening Strategies for the Discovery of Novel HIV-Inhibitors, dalam Yi-Wei Tang (Ed.), Recent Translational Research in HIV/AIDS, InTech.
- Ambermd, 2013, [Http://ambermd.org](http://ambermd.org) (diakses 15 Oktober 2013)
- Caflisch A., Schrammb H. J., & Karplus M., 2000, Design of Dimerization Inhibitors of HIV-1 Aspartic Proteinase: A Computer-Based Combinatorial Approach, *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 14: 161–179.
- Dunbrack, R.L.Jr., 2002, rotamer libraries in the 21st century, *Curr. Opin. Struct. Biol.* 12, 431-440.
- Gao, B., Zhang, C., Yin, Y., Tang, L., & Liu, Z., 2011, Design and Syntesis of Potent HIV-1 Protease Inhibitors Incorporating Hydroxyprolamides as Novel P2 Ligands, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 21, 3730-3733.

- Kent, S. B. H., 2009, Chemical Protein Synthesis: Inventing New Chemistries to Reveal How Proteins Work, *Breaking Away: Proceedings of the 21st American Peptide Symposium*. American Peptide Society.
- Mihasan, M., 2012, What *in silico* molecular docking can do for the 'bench-working biologists', *J. Biosci.* 37(6)
- Park, J.C., Hur, J.M., Park, J.G., Hatano, T., Yoshida, T., Miyashiro, H., *et al.*, 2002, Inhibitory Effects of Korean Medicinal Plants and Camelliatannin H from *Camellia japonica* on Human Immunodeficiency Virus Type 1 Protease, *Phytother. Res.*, 16, 422-426.
- WHO, 2011, Global HIV/AIDS Response - Epidemic Update And Health Sector Progress Towards Universal Access - Progress Report 2011, Geneva.
- Zafir, N., 2009, 3D-QSAR Studies of N-Aryl-Oxazolidinone-5-Carboxamides as HIV-I Protease Inhibitor, *Thesis*, Department of Chemistry INHA University.