

Identifikasi *Pocket Druggable* Protein NS3 Protease Virus Dengue dan Interaksinya dengan Senyawa Inhibitor secara *In Silico*

SKRIPSI

*Diajukan untuk memenuhi syarat memperoleh gelar sarjana S-1
pada Jurusan Kimia FMIPA UNP*



Oleh:

PRIMA YULIA
1101535/2011

**PROGRAM STUDI KIMIA
JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI PADANG
2015**

PERSETUJUAN SKRIPSI

Identifikasi *Pocket Druggable* Protein NS3 Protease Virus *Dengue* dan Interaksinya dengan Senyawa Inhibitor secara *In Silico*

Nama :Prima Yulia
NIM/TM :1101535/2011
Program Studi :Kimia
Jurusan :Kimia
Fakultas :Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, Agustus 2015

Disetujui Oleh:

Dosen Pembimbing I



Dra. Iryani, M.S
NIP. 19620113 198603 2 001

Dosen Pembimbing II



Fitri Amelia, S.Si, M.Si
NIP. 19800819 200912 2 002

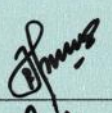
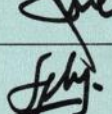
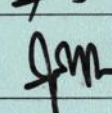
HALAMAN PENGESAHAN LULUS UJIAN SKRIPSI

*Dinyatakan Lulus Setelah Dipertahankan di Depan Tim Penguji Skripsi
Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Padang*

Judul : **Identifikasi Pocket Druggable Protein NS3 Protease
Virus Dengue dan Interaksinya dengan Senyawa
Inhibitor secara *In Silico***
Nama : Prima Yulia
TM/NIM : 2011/1101535
Program Studi : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, Agustus 2015

Tim Penguji

No	Jabatan	Nama	Tanda Tangan
1	Ketua	Dra. Iryani, M.S	1. 
2	Sekretaris	Fitri Amelia, S.Si, M.Si	2. 
3	Anggota	Drs. Iswendi, M.S	3. 
4	Anggota	Dra. Sri Benti Etika, M.Si	4. 
5	Anggota	Sherly Kasuma Warda Ningsih, S.Si, M.Si	5. 

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Prima Yulia
TM/NIM : 2011/1101535
Tempat/Tanggal Lahir : Padang/ 17 Juli 1993
Program Studi : Kimia
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Alamat : Jl. Merpati 3 No. 32 Perumnas ATB
No.Hp/Telepon : 082180032407
Judul Skripsi : **Identifikasi *Pocket Druggable Protein* NS3 Protease Virus Dengue dan Interaksinya dengan Senyawa Inhibitor secara *In Silico***

Dengan ini saya menyatakan bahwa:

1. Karya tulis/skripsi ini adalah hasil dan belum pernah diajukan untuk memperoleh gelar akademik (sarjana) baik di UNP maupun perguruan tinggi lainnya.
2. Karya tulis/skripsi ini murni gagasan, rumusan, dan penelitian saya sendiri tanpa bantuan pihak lain kecuali arahan tim pembimbing.
3. Pada karya tulis/skripsi ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain kecuali tertulis dengan jelas dicantumkan pada daftar pustaka.
4. Karya tulis/skripsi ini sah apabila telah ditandatangani **Asli** oleh tim pembimbing dan tim penguji.

Pernyataan ini saya buat dengan sungguh-sungguh dan apabila dikemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran di dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima **Sanksi Akademik** berupa pencabutan gelar akademik yang telah diperoleh karena karya tulis/skripsi ini, serta sanksi lainnya sesuai dengan norma yang berlaku di perguruan tinggi.

Padang, Agustus 2015
Yang membuat pernyataan.



Prima Yulia
NIM. 1101535

ABSTRAK

Prima Yulia (2015) : Identifikasi *Pocket Druggable* Protein NS3 Protease Virus Dengue dan Interaksinya dengan Senyawa Inhibitor Secara *In Silico*

Virus *dengue* termasuk ke dalam kelompok famili *Flaviviridae* genus *Flavivirus*. Berdasarkan penelitian sebelumnya telah diketahui bahwa senyawa 4-hidroksipanduratin A dan panduratin A memiliki daya inhibisi untuk menghambat replikasi NS3 protease, namun kantung protein yang memiliki residu asam amino yang berperan sebagai *active site (pocket druggable)* serta interaksinya dengan senyawa 4-hidroksipanduratin A dan panduratin A belum diketahui. Pada penelitian ini dilakukan penentuan residu asam amino yang berperan sebagai sisi pengikatan pada protein NS3 protease menggunakan *server metapocket* versi 2.0 dan interaksi protein NS3 protease dengan senyawa 4-hidroksipanduratin A dan panduratin A secara *in silico* menggunakan software MOE 2009.10. Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa protein NS3 protease memiliki tiga sisi pengikatan potensial yang terdiri dari asam amino polar dan asam amino non polar. Secara berturut-turut sisi pengikatan potensial pertama; kedua; dan ketiga yaitu 25 polar dan 24 non polar; 19 polar dan 21 non polar; 8 polar dan 6 non polar. Hasil interaksi menunjukkan adanya ikatan hidrogen yang umumnya berasal dari residu asam amino polar yaitu Thr 59, Lys 33, Lys 26 pada *pocket 1*; Gln27, Thr 59, Lys 26, Lys 33 pada *pocket 2*; Gln88, Lys 145, Glu143 pada *pocket 3*, sedangkan ikatan hidrogen yang berasal dari residu asam amino non polar adalah Val 57 pada *pocket 1* dan 2. Adanya ikatan hidrogen yang terbentuk antara residu asam amino yang bersifat polar pada kompleks protein-inhibitor dihasilkan kompleks yang stabil dan interaksi yang lebih baik.

Kata kunci: *Protein NS3 protease, 4-hidroksipanduratin A dan panduratin A, pocket druggable, metapocket, ikatan hidrogen*

KATA PENGANTAR

Puji serta syukur dipanjatkan atas kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya kepada penulis. Shalawat dan salam kita kirimkan untuk nabi besar Muhammad SAW yang telah memberikan tauladan dalam setiap aktivitas yang kita lalui, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi penelitian yang berjudul **“Identifikasi *Pocket Druggable* Protein NS3 Protease Virus Dengue dan Interaksinya dengan Senyawa Inhibitor Secara *In Silico*”**.

Skripsi ini diajukan untuk memenuhi persyaratan kelulusan dalam rangka untuk memperoleh gelar Sarjana S-1 pada Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang. Penulisan skripsi ini tidak terlepas dari dukungan, motivasi, bantuan, bimbingan, petunjuk, arahan, dan masukan yang berharga dari berbagai pihak. Untuk itu pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih banyak kepada:

1. Ibu Dra. Iryani, M.S selaku pembimbing I.
2. Ibu Fitri Amelia, S.Si, M.Si selaku pembimbing II dan penasehat akademik.
3. Bapak Drs. Iswendi, M.S, Ibu Dra. Sri Benti Etika, M.Si dan Ibu Sherly Kasuma Warda Ningsih, S.Si, M.Si selaku dosen penguji.
4. Ibu Dra. Andromeda, M.Si, Bapak Budhi Oktavia, S.Si., M.Si., Ph.D dan Bapak Drs. Bahrizal, M.Si selaku Ketua Jurusan, Ketua Prodi Kimia dan Sekretaris Jurusan Kimia Universitas Negeri Padang.
5. Staf Akademik Jurusan Kimia Universitas Negeri Padang.

6. Kedua Orang Tua penulis tercinta.
7. Teman-teman kimia tahun 2011 yang seperjuangan

Untuk kesempurnaan skripsi ini, maka dengan kerendahan hati penulis mengharapkan masukan dan saran yang membangun dari semua pihak. Atas masukan dan saran yang diberikan penulis haturkan terima kasih.

Padang, Agustus 2015

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN PERSETUJUAN SKRIPSI	i
HALAMAN PENGESAHAN LULUS UJIAN SKRIPSI	ii
SURAT PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
A. Virus <i>Dengue</i>	4
1. Klasifikasi Virus <i>Dengue</i>	4
2. Struktur Virus <i>Dengue</i>	4
3. Replikasi Virus <i>Dengue</i>	6
B. Enzim.....	8
C. Inhibitor Enzim.....	9

D. Sisi Pengikatan (<i>Pocket Druggable</i>)	11
E. <i>MetaPocket</i>	12
F. 4-Hidroksipanduratin A dan Panduratin A	13
G. <i>Molecular Docking</i>	14
H. <i>Metode In Silico</i>	15
BAB III METODE PENELITIAN	16
A. Waktu dan Tempat Penelitian	16
B. Jenis Penelitian	16
C. Alat dan Bahan Penelitian	16
1. Alat	16
2. Bahan	16
D. Prosedur Penelitian	17
1. Penentuan Residu Asam Amino yang Berperan sebagai <i>Active Site</i>	17
2. Penentuan Interaksi Sisi Pengikatan Protein NS3 Protease dengan Senyawa 4-Hidroksipanduratin A dan Panduratin A	17
a. Preparasi senyawa inhibitor	17
b. Preparasi Protein NS3 Protease	18
c <i>Molecular Docking</i>	19
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	20
A. Penentuan Residu Asam Amino yang Berperan sebagai <i>Active Site</i> ...	20
B. Penentuan Interaksi antara Protein NS3 Protease dengan Senyawa.....	22
4-Hidroksipanduratin A dan Panduratin A	22

BAB V SIMPULAN DAN SARAN.....	27
A. Simpulan.....	27
B. Saran	27
DAFTAR PUSTAKA	28
LAMPIRAN.....	31

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Fungsi Protein Struktural dan Non Struktural.....	5
2. Metode Penentuan Sisi Pengikatan (<i>Pocket Druggable</i>)	11
3. Pengelompokkan Residu Asam Amino Berdasarkan Sifat Kepolarannya	21
4. Jumlah ikatan hidrogen pada interaksi ezim dengan inhibitor.....	25

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur Virus <i>Dengue</i>	6
2. Siklus Replikasi Virus <i>Dengue</i>	7
3. Perbandingan keadaan transisi reaksi tanpa enzim dan dengan enzim	8
4. Inhibitor <i>reversible</i> : (a) <i>competitive</i> , (b) <i>uncompetitive</i> , (c) <i>noncompetitive</i>	10
5. Sisi pengikatan (<i>pocket</i>) yang mengandung residu asam amino potensial	13
6. Struktur senyawa inhibitor: a) 4-hidroksipandurantin A dan pandurantin A...13	13
7. <i>Docking</i> antara Enzim dengan Inhibitor	15
8. Struktur Protein Serin Protease NS3	20
9. Interaksi molekul inhibitor dengan sisi ikat protein NS3 protease	24

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Penentuan Residu Asam Amino yang Berperan sebagai <i>Active Site</i>	31
2. Prosedur penentuan interaksi sisi pengikatan protein NS3 protease dengan senyawa 4-Hidroksipanduratin A dan Panduratin A	36
3. Hasil Analisa Serin Protease NS3	42
4. Visualisasi Ikatan Hidrogen Kompleks Enzim-Inhibitor	43
5. Struktur 20 jenis asam amino berdasarkan kepolaran	46

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Virus *dengue* (DENV) merupakan kelompok *Flaviviridae* genus *Flavivirus* yang ditransmisikan melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus* kepada manusia. Infeksi yang disebabkan oleh virus *dengue* mengakibatkan gejala demam (*dengue fever*), bahkan untuk tingkatan yang lebih tinggi dapat menyebabkan *dengue hemorrhagic fever* (DHF) atau *dengue shock syndrom* (DSS) dan kematian (Qi, Zhang, and Chi, 2008). Infeksi yang disebabkan oleh virus *dengue* telah menjadi permasalahan penyakit global dan endemik di beberapa negara di dunia, seperti Indonesia, Myanmar, Thailand, Srilanka, bagian Amerika dan Afrika, Pasifik Barat dan Mediterania Timur (WHO, 2009). Virus *dengue* telah menginfeksi lebih dari 100 juta jiwa dengan korban jiwa hingga 24.000 jiwa setiap tahunnya di dunia (WHO, 2011). Di Indonesia, jumlah kasus DBD (Demam Berdarah *Dengue*) pada awal April 2014 tercatat 5,17 per 10.000 penduduk dengan angka kematian 0,84% (Aditama, 2014).

Tingginya angka kematian akibat DENV menyebabkan para ahli berusaha menemukan inhibitor (obat) yang efektif sebagai antivirus. Untuk menemukan inhibitor yang tepat, maka perlu dipelajari mengenai peranan informasi genetik dari virus tersebut. Virus *dengue* disusun oleh tiga protein struktural yaitu kapsid (C), membran (M) dan cangkang (E) yang

membentuk komponen partikel virus dan tujuh protein non struktural (NS), yaitu NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B dan NS5 (de Angel and Valle, 2013).

Peranan penting dari fungsi protein struktural dan non struktural dapat dijadikan sebagai target dalam penghambatan virus oleh inhibitor. Diantara ketujuh protein non struktural, protein NS3 protease memiliki potensi untuk dijadikan target dalam penemuan inhibitor untuk menghambat replikasi virus (Satheesh, 2010).

Penelitian yang dilakukan oleh Kiat, *et al* (2006) telah menemukan struktur senyawa inhibitor yang potensial dalam menghambat replikasi NS3 protease. Senyawa tersebut berasal dari ekstrak tumbuhan *Boesenbergia rotunda* (L) yaitu 4-hidroksipanduratin A dan panduratin A. Senyawa ini dilaporkan memiliki tipe inhibisi *competitive* dengan nilai inhibisi 21 dan 25 μ M. Pada penelitian ini, Kiat (2006) belum mengetahui sisi pengikatan (*pocket druggable*) atau kantung protein yang memiliki residu-residu asam amino yang berperan sebagai *active site* dari protein NS3 protease. Disamping itu, interaksi antara protein NS3 protease dengan senyawa inhibitor 4-Hidroksipanduratin A dan Panduratin A belum diketahui.

Berdasarkan latar belakang di atas, maka penulis melakukan penelitian mengenai penentuan sisi pengikatan (*pocket druggable*) dari protein NS3 protease dan penentuan interaksi antara protein NS3 protease virus *dengue* dengan senyawa inhibitor secara *in silico*.

B. Perumusan Masalah

Perumusan masalah pada penelitian adalah sebagai berikut.

1. Residu asam amino apakah yang berperan sebagai *active site* dalam pengikatan senyawa 4-hidroksipanduratin A dan panduratin A?
2. Bagaimanakah interaksi sisi pengikatan protein NS3 protease virus *dengue* dengan senyawa 4-hidroksipanduratin A dan panduratin A?

C. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah seperti berikut.

1. Menentukan residu asam amino yang berperan sebagai sisi pengikatan (*pocket druggable*) dari protein NS3 protease secara *in silico*.
2. Menentukan interaksi sisi pengikatan protein NS3 protease dengan senyawa 4-hidroksipanduratin A dan panduratin A.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Memberikan informasi mengenai residu asam amino yang berperan sebagai *active site* pada protein NS3 protease virus *dengue*.
2. Memberikan informasi mengenai interaksi protein NS3 protease dengan senyawa inhibitor.
3. Dapat digunakan dalam merancang derivat senyawa inhibitor dari senyawa utama (*lead compound*) untuk meningkatkan kemampuan interaksi dan inhibisi antara protein NS3 protease dengan inhibitor.

4. Dapat meningkatkan daya inhibisi terhadap replikasi protein NS3 protease virus *dengue*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Virus *Dengue*

1. Klasifikasi Virus *Dengue*

Virus *dengue* tergolong *Arthropode borne virus* (arbovirus) yaitu virus yang siklus hidupnya menggunakan artopoda dalam memperbanyak diri. Penularan virus *dengue* kepada manusia dilakukan melalui perantara nyamuk *Aedes aegypty* dan *Aedes albopictus* (Bäck, 2013). Virus *dengue* termasuk ke dalam famili *Flaviviridea*, genus *Flavivirus* termasuk juga West Nile, Japanese encephalitis, hepatitis C virus (Qi et al, 2008).

Virus *dengue* (DENV) merupakan salah satu virus yang menyebabkan banyak kematian di beberapa negara di dunia, termasuk Indonesia. Infeksi virus *dengue* dapat menimbulkan gejala demam, sakit kepala, kelelahan, muntah, nyeri otot dan timbulnya bintik merah. Bahkan untuk tingkatan lebih tinggi dapat menyebabkan *Dengue Hemorrhagic Fever* (DHF) dan *Dengue Shock Syndrome* (DSS) hingga kematian (Qi et al, 2008).

2. Struktur Virus *Dengue*

Virus *dengue* memiliki inti berupa RNA yang mengandung protein struktural dan non struktural. Protein struktural terdiri dari kapsid (C), membran (M) dan cangkang luar berupa glikoprotein (E) yang membentuk komponen partikel virus. Protein non struktural (NS) terdiri atas (NS1,

NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B dan NS5) (Back, 2013). Fungsi dari masing-masing protein struktural dan non struktural dijelaskan pada Tabel 1.

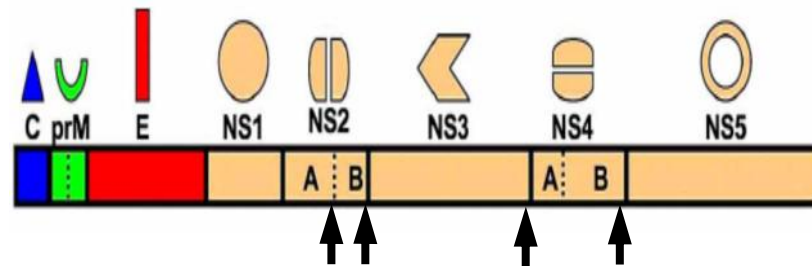
Tabel 1. Fungsi Protein Struktural dan Non Struktural

Jenis protein	Nama protein	Fungsi
Protein Struktural	C	Membungkus dan melepaskan partikel virus dari sel
	prM	Melindung protein E dari fusi prematur pada saat melintasi lingkungan asam jaringan transgolgi
	E	Berperan dalam proses fusi dan masuknya virus ke dalam sel serta penempelan partikel virus pada sel inang
Protein Non-Struktural	NS1	Berperan penting dalam pertumbuhan virus dan memicu respon imun.
	NS2A	Berperan dalam pengaturan stimulasi ekspresi gen IFN- β .
	NS2B	Bertindak sebagai aktivator protease virus (NS3)
	NS3	Merupakan protein multifungsi yang berperan dalam proses replikasi virus
	NS4A	Dibutuhkan untuk modulasi membran intraseluler
	NS4B	Mengatur signal sistem imun dan postulat virus
	NS5	Protein multifungsi yang memiliki aktivitas polimerase dan metiltransferase

(Sumber: (Kumar, 2012))

Protein non struktural NS3 protease merupakan protein multi fungsional yang berfungsi dalam proses replikasi virus. Protein NS3 protease terdiri dari 618 residu asam amino. Residu 1-180 pada N-terminal merupakan domain serin protease yang berfungsi untuk memotong unit-unit fungsional poliprotein DENV di beberapa sisi, seperti yang

ditunjukkan oleh anak panah pada Gambar 1. Aktivitas NS3 protease dibantu oleh NS2B sebagai aktivator (Tomlinson, 2009).



Gambar 1. Struktur Virus *Dengue* dan Sisi Pemotongan Serin Protease
(Tomlinson, 2009)

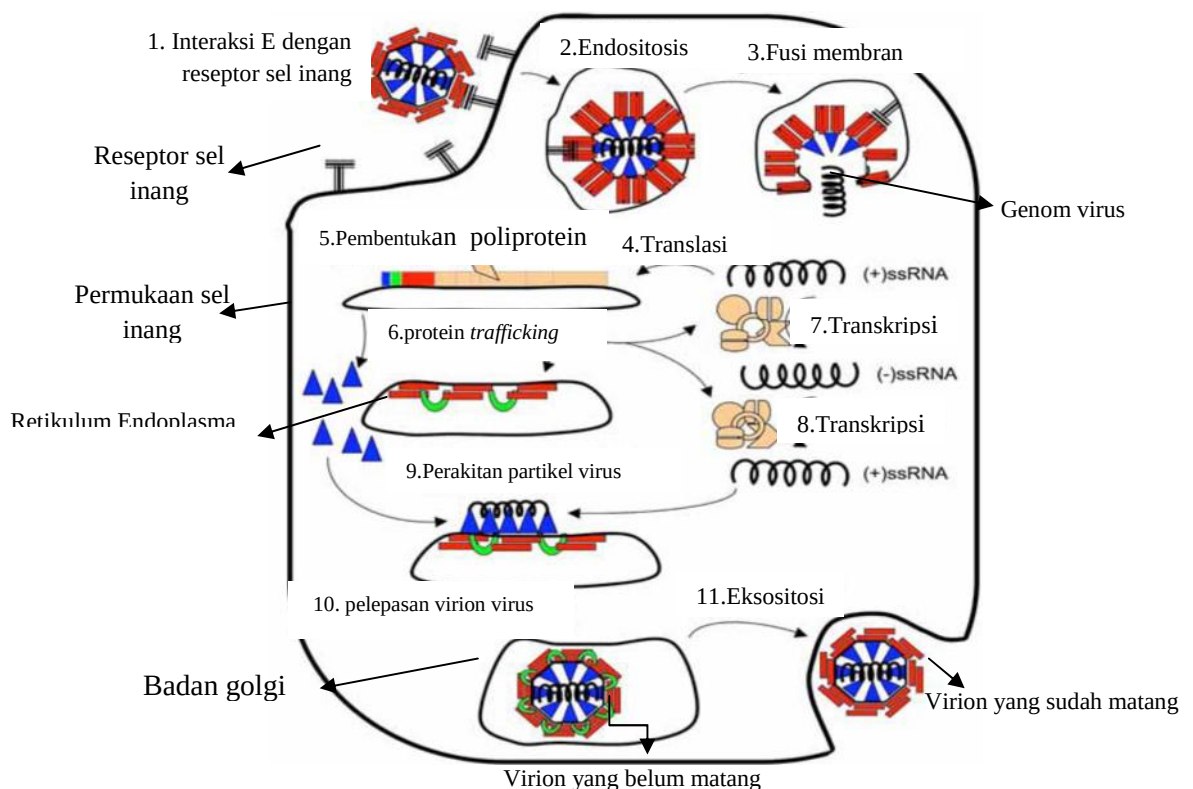
3. Replikasi Virus *Dengue*

Proses pertama replikasi virus *dengue* dimulai dengan adanya interaksi antara virus *envelope* (E) dengan reseptor permukaan sel inang virus. Selanjutnya pada tahap kedua dan ketiga partikel virus akan masuk ke dalam sel secara endositosis. Akibat pH yang rendah pada endosom terjadi fusi antara membran virus dengan membran sel inang yang diperantarai oleh perubahan struktural *envelope*, sehingga terjadi pelepasan genom (RNA) virus ke dalam sitoplasma (Sampath, 2009).

Pada tahapan keempat dan kelima, genom virus akan mengalami translasi untuk menghasilkan poliprotein tunggal. Proses *co-translasi* dan *post-translasi* oleh protease virus untuk menghasilkan unit-unit protein fungsional yang dibutuhkan pada proses replikasi dan perakitan partikel virus. Setelah terbentuknya unit-unit fungsional protein, genom virus akan mengalami replikasi dan mensintesis RNA negatif untuk membentuk viral

RNA yang baru. Proses ini berlangsung di retikulum endoplasma kasar dan membran Golgi (Sampath, 2009; Tomlinson et al, 2009).

Selanjutnya pada tahap kesembilan, terbentuk genom virus yang baru dan pembentukan protein fungsional. Pada tahap ini terjadinya perakitan protein *capsid* hasil translasi dengan RNA baru membentuk nukleokapsid. Selanjutnya virion virus yang belum matang di transpor ke jaringan trans golgi untuk pematangan. Virion virus yang telah matang akan dikeluarkan dari sel secara eksositosis (Tomlinson, 2009). Untuk lebih jelasnya, skema replikasi virus *dengue* dapat dilihat pada Gambar 2.

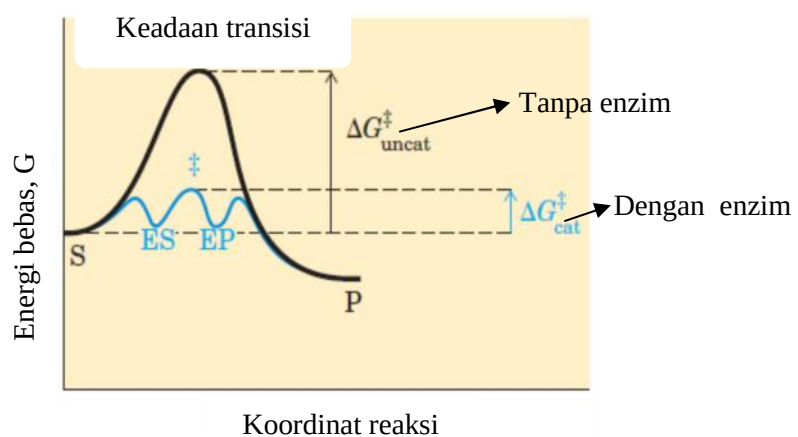


Gambar 2. Siklus Replikasi Virus Dengue
(Tomlinson, Malmstrom, and Watowich, 2009)

B. Enzim

Enzim memiliki peranan penting dalam setiap proses biokimia. Enzim merupakan suatu katalis biologi yang berfungsi mempercepat reaksi kimia dalam suatu organisme. Dengan adanya bantuan enzim, proses pembentukan keadaan transisi (energi aktivasi) suatu reaksi kimia menjadi lebih rendah dan pembentukan produk akan menjadi lebih cepat, seperti yang ditunjukkan oleh Gambar 3.

Enzim merupakan suatu protein yang membutuhkan kofaktor dan koenzim dalam menjalankan fungsinya. Kofaktor enzim berupa ion-ion seperti Fe^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} dan Zn^{2+} , sedangkan koenzim berupa kompleks molekul organik atau organometalik seperti koenzim A, biotin dan lipoat (Nelson, 2005).



Gambar 3. Perbandingan keadaan transisi reaksi tanpa enzim dan dengan enzim (Nelson, 2005)

C. Inhibitor Enzim

Kerja suatu enzim dipengaruhi oleh pH, substrat, temperatur, konsentrasi enzim serta inhibitor. Inhibitor adalah suatu senyawa yang dapat mencegah atau menghambat kerja suatu enzim secara normal. Berdasarkan mekanisme kerja, inhibitor enzim ada dua jenis yaitu inhibitor yang tidak dapat balik (*irreversible*) dan dapat balik (*reversible*).

1. Inhibitor *irreversible*

Inhibitor *irreversible* adalah inhibitor terikat dengan enzim dengan cara merusak gugus fungsional enzim yang penting bagi aktivitas katalitiknya. Inhibitor *irreversible* terikat secara permanen dengan *active site* akibat pembentukan ikatan kovalen dan interaksi non kovalen yang stabil (Nelson, 2005).

2. Inhibitor *reversible*

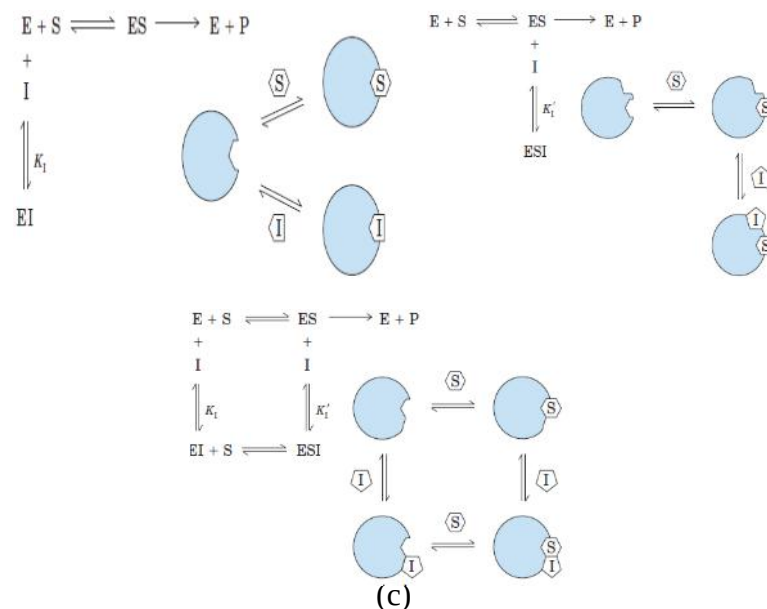
Inhibitor *reversible* adalah inhibitor yang dapat terikat pada sisi aktif enzim dan dapat dilepaskan kembali dari ikatannya. Inhibitor jenis ini dikelompokkan atas tiga, yaitu inhibitor *competitive*, *uncompetitive* dan *noncompetitive* (McKee, Trudy; James R, 2003).

Inhibitor *competitive* merupakan suatu penghambat yang bersaing dengan substrat untuk berikatan dengan sisi aktif enzim. Inhibitor *competitive* ini biasanya menyerupai substrat, seperti yang ditunjukkan oleh Gambar (4a) (McKee, Trudy; James R, 2003).

Inhibitor *uncompetitive* merupakan inhibitor yang terikat pada sisi lain dari tempat terikatnya substrat pada kompleks enzim-substrat.

Kompleks enzim-substrat-inhibitor yang terbentuk tidak dapat mengalami reaksi untuk pembentukan produk, seperti yang ditunjukkan oleh Gambar (4b) (McKee, Trudy; James R, 2003).

Inhibitor *noncompetitive* merupakan penghambat yang terikat pada sisi lain dari enzim dan dapat juga terikat dengan kompleks enzim-substrat. Inhibitor *noncompetitive* ini tidak memiliki kemiripan dengan substrat dan tidak terikat pada sisi yang sama dengan substrat. Pengikatan inhibitor pada enzim bebas akan menyebabkan perubahan pada konformasi enzim sehingga pembentukan produk tidak dapat terjadi, seperti yang ditunjukkan oleh Gambar (4c) (McKee, Trudy; James R, 2003).



Gambar 4. Inhibitor reversible: (a) competitive, (b) uncompetitive, (c) noncompetitive (Nelson, 2005)

D. Sisi Pengikatan (*Pocket Druggable*)

Kantung yang memiliki potensi sebagai sisi ikat obat (*pocket druggable*) merupakan suatu area kecil berupa kantung (*pocket*) atau benjolan (*bumps*), dimana molekul ligan atau target obat dapat berikatan dengan sisi target. Identifikasi sisi pengikatan merupakan suatu hal yang penting dalam perancangan obat berdasarkan struktur (Kalyaanamoorthy, 2011).

Identifikasi sisi pengikatan (*pocket druggable*) dapat dilakukan secara geometri, energi dan *docking* menggunakan metode *in silico* (Pérot et al, 2010). Penentuan sisi ikat suatu enzim secara geometri diasumsikan bahwa *pocket* sebagai daerah dalam ruang yang berisi penanda dalam jarak tertentu di sekitar enzim, namun penentuan secara geometri tidak dapat membedakan sifat dari ikat. Secara energi, penentuan sisi ikat ditandai dengan interaksi suatu inhibitor dengan permukaan enzim yang menghasilkan interaksi van der Waals. Secara *docking* merupakan tahapan atau langkah untuk menemukan kecocokan antara sisi ikat dengan ligan (inhibitor). Beberapa *software* dan *server* yang dapat digunakan untuk pencarian sisi ikat ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Metode Penentuan Sisi Pengikatan (*Pocket Druggable*)

No.	Nama	Metode		
		Geometri	Energi	<i>Docking</i>
1	LIGSITE ^{CS}	√		
2	SURFNET	√		
3	Q-SiteFinder		√	

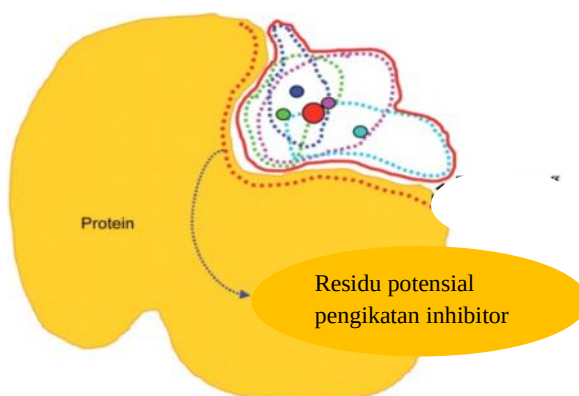
No.	Nama	Metode		
		Geometri	Energi	<i>Docking</i>
4	PASS	√		
5	POCKET	√		
6	GHECOM	√		
7	PocketPicker	√		
8	Fpocket	√		
9	CAST			
10	SITEHOUND		√	
11	MOE			√
12	MEDock			√
13	MetaPocket	√	√	

(Sumber: (Pérot et al, 2010); (Huang, 2009))

E. *MetaPocket*

MetaPocket merupakan suatu *meta server* yang menggunakan metode komputasi berdasarkan geometri dan energi yang berguna untuk menentukan sisi pengikatan (*pocket*) yang mengandung residu-residu asam amino yang potensial untuk berikatan dengan ligan. Dalam memprediksi sisi pengikatan *metaPocket* menggunakan beberapa metode tunggal, seperti *LIGSITE^{CS}*, *PASS*, *Q-SiteFinder*, *F-pocket*, *GHECOM*, *ConCavity*, *POCASA* dan *SURFNET* (Huang, 2009; Zhang, 2011). Contoh hasil analisis menggunakan server *metapocket* 2.0 seperti yang ditunjukkan oleh Gambar 5. Garis putus-putus dan bola kecil warna-warni pada Gambar 5 menunjukkan metode tunggal yang berhasil digunakan dalam analisis.

Penggunaan beberapa metode dalam sekali analisis ditujukan agar hasil analisa lebih akurat.

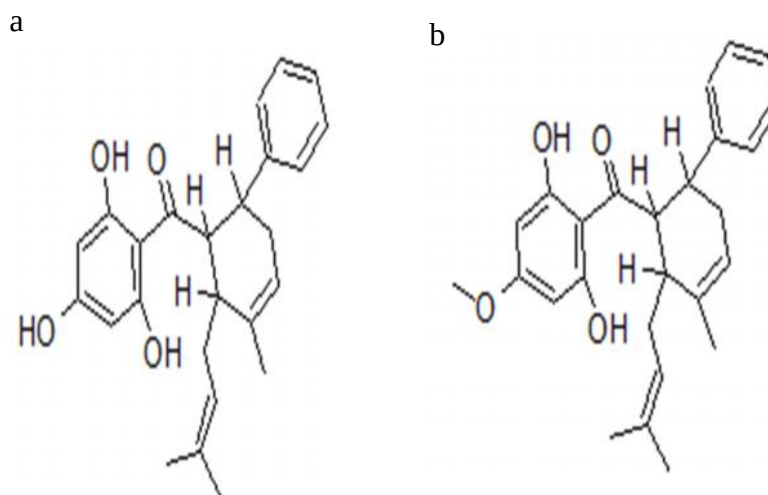


Gambar 5. Sisi pengikatan (*pocket*) yang mengandung residu asam amino potensial (Zhang, 2011)

F. 4-Hidroksipanduratin A dan Panduratin A

Senyawa 4-hidroksipanduratin A dan panduratin A merupakan senyawa tergolong ke dalam senyawa metabolit sekunder (flavonoid) sebagai kelompok *chalcone*, gambar struktur senyawa ditunjukkan oleh Gambar 6. Senyawa ini berasal dari ekstrak tumbuhan *Boesenbergia rotunda* (L) yang dilaporkan memiliki peranan penting dalam bidang farmakologi (Putra, 2014).

Penelitian (Kiat et al, 2006) yang dilakukan secara *in vitro* diketahui senyawa 4-hidroksipanduratin A dan panduratin A mempunyai aktivitas yang bagus dalam menghambat NS3 protease dengan nilai K_i 21 dan 25 μM . Senyawa ini dilaporkan memiliki mekanisme inhibisi secara *competitive*.

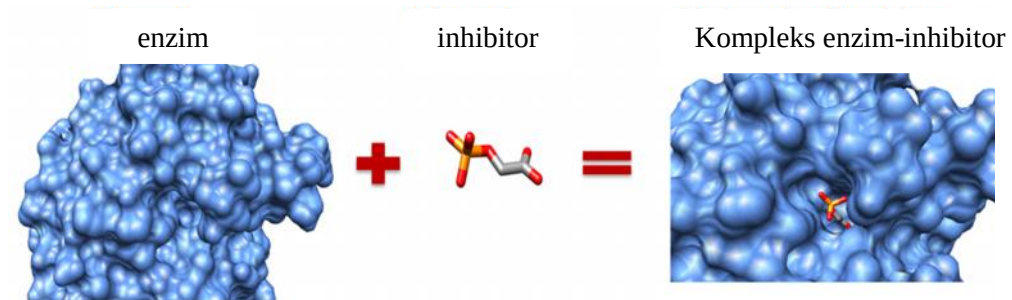


Gambar 6. Struktur Senyawa Inhibitor: a) 4-Hidroksipandurantin A dan b) Pandurantin A

G. *Molecular Docking*

Molecular docking merupakan suatu teknik yang berperan dalam studi interaksi antara sisi pengikatan dengan molekul target membentuk suatu ikatan. *Molecular docking* dapat memprediksi orientasi dari suatu molekul (inhibitor) ke molekul lain (enzim) ketika membentuk kompleks yang stabil (Henrich, 2009).

Pada *Molecular docking*, bagian pencarian meliputi semua kemungkinan orientasi dan konformasi dari enzim yang dipasangkan dengan ligan. *Molecular docking* menggunakan fleksibilitas inhibitor sebagai dasar pencarian interaksi yang sesuai antara sisi aktif enzim dengan gugus fungsional inhibitor, seperti halnya kecocokan lubang kunci dan anak kunci (*lock-and-key*) (Henrich, 2009), seperti yang ditunjukkan pada Gambar 7.



Gambar 7. Docking antara Enzim dengan Inhibitor (Santoyo, 2013)

H. Metode *In Silico*

Metode *in silico* merupakan suatu metode yang memanfaatkan komputer dalam penemuan suatu obat sebagai komplemen dari *in vitro* dan *in vivo*. Pemanfaatan metode *in silico* dalam perancangan suatu obat memberikan suatu efisiensi dari segi waktu dan biaya, mengingat proses perancangan suatu obat hingga menghasilkan suatu obat membutuhkan waktu yang lama dan biaya dengan jumlah yang banyak (Pranowo, 2009). Kelebihan dari metode *in silico* ini mampu membedakan senyawa aktif dan inaktif dalam suatu senyawa, dapat memprediksi aktivitas dan toksisitas senyawa calon obat (Istyastono, 2011).

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Residu asam amino dari protein NS3 protease yang berperan sebagai *active site* pada pengikatan senyawa 4-hidroksipandurantin A dan pandurantin A terdiri dari 25 residu asam amino polar dan 24 non polar pada sisi pertama; 19 residu asam amino polar dan 21 non polar pada sisi kedua; 8 residu asam amino polar dan 6 non polar pada sisi ketiga.
2. Interaksi antara sisi ikat protein NS3 protease dengan molekul inhibitor 4-hidroksipandurantin A dan pandurantin A yaitu berupa ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen pada sisi ikat pertama yaitu Val57, Thr59, Lys33, Lys26: sisi ikat kedua yaitu Gln27, Thr59, Lys26, Lys33, Val57, Thr59 dan sisi ikat ketiga yaitu Gln27, Thr59, Glu143.

B. Saran

Disarankan untuk penelitian selanjutnya dapat dilakukan modifikasi substituen senyawa utama (*lead compound*) yang dapat meningkatkan interaksi antara protein-inhibitor dan meningkatkan daya inhibisi protein.

DAFTAR PUSTAKA

- Aditama, Tjandra Yoga. 2014. "Penyakit Yang Disebabkan Oleh Nyamuk Dan Cara Pencegahannya Serta Target Yang Akan Dicapai Oleh Pemerintah." Retrieved May 19, 2015 (<http://pppl.depkes.go.id/focus?id=1374>).
- Amelia, Fitri. 2014. "Studi Interaksi Ligan Peptidoid Dan Peptida Dengan Enzim Protease NS3/NS2B Virus Degue." *Saintek* 4(1):24–29.
- Amelia, Fitri dan Iryani. 2015. "Analisis Sifat Dan Penghambatan Aktivitas Kerja Enzim Protein NS2B/NS3 Dengue Virus Terhadap Inhibisi Senyawa 4-Hidroksipandurantin Tersubstitusi Flourin." *Saintek* 7 No.1.
- De Angel, Rosa Maríal, and Jorge Reyes del Valle. 2013. "Dengue Vaccines: Strongly Sought but Not a Reality Just Yet." *PLoS Pathogens* 9(10).
- Back, Anne Tuiskunen. 2013. "Dengue Viruses Á an Overview °." *COACTION* 1:1–21.
- Henrich, Stefan; Outi M. H. Salo-Ahen; Bingding Huang; Friedrich F. Rippmann; Gabriele Cruciani; Rebecca C. Wade. 2009. "Computational Approaches to Identifying and Characterizing Protein Binding Sites for Ligand Design." *Journal of Molecular Recognition* 1–11.
- Huang, Bingding. 2009. "MetaPocket: A Meta Approach to Improve Protein Ligand Binding Site Prediction." *Omics: a journal of integrative biology* 13(4):325–330. Retrieved (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19645590>).
- Istyastono, Enade Perdana. 2011. "Peranan Komputer Dalam Penemuan Obat." *Artikel Komputasi LIPI*.
- Kalyaanamoorthy, Subha; Yi-Ping Phoebe Chen. 2011. "Structure-Based Drug Design to Augment Hit Discovery." *Drug discovery today* 16(17/18):831–839.
- Keller, Thomas H; Pichota, Arkadius and Zheng Yin. 2006. "A Practical View of 'druggability.'" *Current Opinion in Chemical Biology* 10:357–361.
- Kiat, Tan Siew et al. 2006. "Inhibitory Activity of Cyclohexenyl Chalcone Derivatives and Flavonoids of Fingerroot, Boesenbergia Rotunda (L.), towards Dengue-2 Virus NS3 Protease." *Bioorganic & medicinal chemistry letters* 16(12):3337–3340. Retrieved June 27, 2015 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16621533>).