

Analisis HKSA dan *Docking* Aktivitas Inhibisi Turunan HEPT terhadap Enzim *Reverse Transcriptase* HIV (*QSAR and Docking of Inhibition Activity of HEPT Derivatives Against Enzym Reverse Transcriptase HIV*)

Ani Riani Hasana, Ayik Rosita, Fifteen Aprila Fajrin
Fakultas Farmasi Universitas Jember
e-mail korespondensi: aixrose_pec@yahoo.co.id

Abstract

This study describes the analysis of QSAR and Docking based on the inhibition activity of the enzyme Reverse Transcriptase HIV by 1-[(2-hydroxyethoxy) metil]-6-(phenylthio) timin (HEPT) derivatives. QSAR modeling using 85 compounds HEPT derivatives have calculated the value of biological activity in vitro inhibition of the value of log1/C, then made a linear regression equation against QSAR parameters like as lipophilic, electronic and steric to obtained maximum results correlation r^2 by method Multiple Linear Regression (MLR). Docking used to determine the predictive ability of the inhibitor affinity value when HEPT derivatives interacting with the enzyme Reverse Transcriptase HIV. QSAR study results that play a role in the activity is the refractive index parameter (η), molar volume (MV), Parachor (Pc), I_2 (parameter which indicates the presence of Sulphur in position R_2) and I_{SP} (parameter which indicates the presence of Sulphur in position X). Best equation obtained with compound 75 has a value of $R=0.9135$, $R^2_{adj}=0.8064$, $RMSE=0.5104$, and $F=69.4881$. Docking study results indicate derivatives with the number 80 has the smallest affinity by -11.3 kcal / mol.

Keywords: *docking, reverse transcriptase enzyme , HEPT, MLR, QSAR.*

Abstrak

AIDS adalah kumpulan penyakit yang disebabkan oleh menurunnya sistem kekebalan tubuh akibat infeksi HIV. Enzim *reverse transcriptase* (RT) HIV memainkan peran penting dalam replikasi membalikkan transkripsi RNA genom virus ke dalam DNA *double helix*, sehingga enzim RT HIV telah muncul sebagai target utama untuk pengembangan obat untuk terapi HIV. Penelitian ini menggunakan analisis HKSA dan *Docking* berdasarkan aktivitas penghambatan enzim RT HIV oleh turunan senyawa 1-[(2-hydroxyethoxy) metil]-6-(phenylthio) timin (HEPT). Pemodelan HKSA menggunakan 85 senyawa turunan HEPT yang telah dihitung aktivitas biologis dalam penghambatan *in vitro* dengan nilai log1/C, kemudian membuat persamaan regresi linier terhadap parameter HKSA yaitu lipofilik, elektronik, dan sterik hingga diperoleh hasil maksimum korelasi r^2 dengan metode *Multiple Linear Regression* (MLR). *Docking* digunakan untuk menentukan kemampuan prediksi nilai afinitas saat senyawa turunan HEPT berinteraksi dengan enzim RT HIV. Hasil penelitian HKSA yang berperan dalam aktivitas adalah parameter *indeks bias* (η), *Molar Volume* (MV), *Parachor* (Pc), I_2 (parameter yang menunjukkan kehadiran Sulphur dalam posisi R_2), dan I_{SP} (parameter yang menunjukkan adanya Sulphur dalam posisi X). Persamaan diperoleh dengan 75 senyawa memiliki nilai $R=0.9135$, $R^2_{adj}=0.8064$, $RMSE=0.5104$, dan $F=69.4881$. Hasil penelitian *Docking* menunjukkan senyawa turunan nomor 80 memiliki afinitas terkecil yaitu $-11,3$ kcal/mol.

Kata kunci: *docking, enzim reverse transcriptase, HEPT, HKSA, MLR.*

Pendahuluan

AIDS (*Acquired Immunodeficiency Syndrome*) adalah kumpulan gejala atau

penyakit yang disebabkan oleh menurunnya sistem kekebalan tubuh akibat infeksi oleh *Human Immunodeficiency Virus* (HIV). Penyakit

ini disebabkan oleh retrovirus dari keluarga Lentiviridae dengan *single helix* RNA yang disebut *Human Immunodeficiency Virus – HIV* [1]. Enzim *reverse transcriptase* (Enzim RT) HIV memainkan peran penting dalam replikasi membalikkan transkripsi *single helix* RNA virus ke dalam DNA *double helix*. Oleh karena itu, enzim RT-HIV telah muncul sebagai target utama untuk pengembangan obat untuk terapi HIV / AIDS [2]-[4]. Senyawa induk 1-[(2-hydroxyethoxy) metil]-6-(phenylthio) timin (HEPT) beserta turunannya termasuk *Non-Nucleosidic Reverse Transcriptase Inhibitor* (NNRTI) yang merupakan salah satu obat inhibitor enzim RT-HIV yang dikembangkan dan cukup memberikan harapan. Pada jurnal penelitian telah dilakukan modifikasi terhadap gugus-gugus turunan HEPT dengan tujuan untuk mendapatkan struktur baru yang diharapkan memiliki kemampuan inhibisi enzim RT HIV lebih baik melalui pendekatan molekuler dan hubungan kuantitatif struktur aktivitas (HKSA) secara komputasi menggunakan program 2D dan 3D QSAR [5]. Penelitian HKSA ini dilakukan untuk menentukan parameter-parameter kimia fisika apakah yang memiliki pengaruh aktivitas inhibisi paling kuat dari senyawa turunan HEPT terhadap enzim RT HIV. *Docking* digunakan untuk mengetahui kemampuan prediksi dalam nilai energi inhibisinya dari inhibitor saat berinteraksi dengan enzim RT HIV sehingga didapatkan nilai afinitas sebagai *output*.

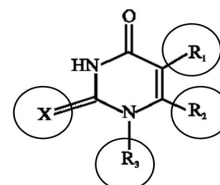
Metode Penelitian

Bahan

Senyawa penuntun yang digunakan dalam penelitian ini adalah HEPT yang dimodifikasi strukturnya sehingga didapat 85 senyawa yang telah diketahui nilai aktivitasnya (nilai log 1/C) oleh Thakur *et al.* pada 2007 dalam *Asian Journal of Biochemistry* 2 (2): 84-100. Modifikasi turunan HEPT (1 - [(2-hydroxyethoxy) metil] -6 - (phenylthio) timin) dilakukan pada empat daerah (Gambar 1) yaitu dengan mengganti gugus-gugus tersebut dengan gugus-gugus tertentu [5]. Serta nilai parameter-parameter sifat fisika kimia yang dimiliki senyawa HEPT tersebut, parameter yang digunakan antara lain parameter sifat fisika kimia non-konvensional seperti *Approximate Surface Area* (ASA), *Surface Area Grid* (SAG), *Hydration Energy* (HE); parameter sifat fisika kimia klasik seperti *Molar Refractivity* (MR), *Molar Volume* (MV), *Parachor* (Pc), *Refractive Index* (η), *Surface Tension* (ST), *density* (d),

Polarizability (α) dan parameter hidrofobik seperti log P enam jenis parameter indikator.

Enzim RT yang digunakan diambil dari *Protein Data Bank* yaitu kode 1RT1, berisi kompleks enzim RT HIV dengan MKC-442 [7]. Senyawa MKC-442 merupakan senyawa turunan HEPT dengan nama struktur 6-(cyclohexylmethyl)-1-(ethoxymethyl)-5-isopropyl-hexahydropyrimidine-2,4-diol.



Gambar 1 Daerah modifikasi senyawa induk HEPT

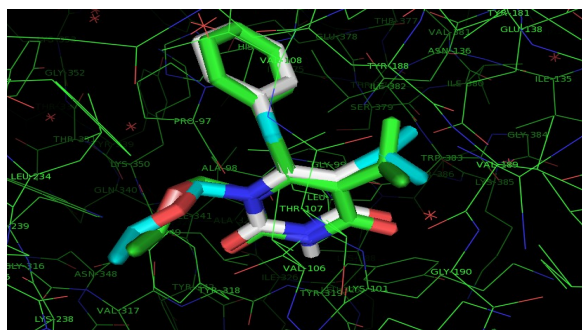
Alat

Analisis HKSA menggunakan program *Unscrambler* dan *IBM SPSS Statistics 19 trial version*, data aktivitas biologis ditetapkan sebagai variabel terikat dan parameter-parameter sifat fisika kimia senyawa ditetapkan sebagai variabel bebas, selanjutnya dibuat persamaan regresi linier versus parameter-parameter HKSA yang menghasilkan hubungan korelasi r^2 maksimal dengan metode *Multiple Linear Regression* (MLR) [6]. *Docking* digunakan untuk mengetahui kemampuan prediksi dalam nilai energi inhibisinya dari inhibitor saat berinteraksi dengan enzim RT sehingga didapatkan nilai afinitas sebagai *output*. Analisis prediksi program *Docking* menggunakan program *Autodock vina*. Preparasi pembuatan ligan senyawa uji menggunakan *ChemOffice 2004 trial version*.

Hasil Penelitian

Hasil analisa HKSA menjelaskan hubungan antara aktivitas biologis log 1/C berbanding lurus dengan sifat fisika kimia *indeks refraksi* (η), *Molar Volume* (MV), *Parachor* (Pc), I_2 (parameter yang menunjukkan keberadaan Sulphur pada posisi R₂) dan I_{SP} (parameter yang menunjukkan keberadaan Sulphur pada posisi X). Nilai aktivitas (log 1/C)_{eksperimental} dan nilai aktivitas (log 1/C)_{prediksi} merupakan nilai aktivitas yang diperoleh jika nilai parameter MV, Pc, η , I_2 , dan I_{SP} dimasukkan sesuai persamaan. Data residual merupakan selisih nilai aktivitas aktual (log 1/C)_{eksperimental} dengan nilai aktivitas (log 1/C)_{prediksi}. Nilai aktivitas senyawa inhibitor enzim RT HIV turunan HEPT dan nilai afinitas hasil *docking* menggunakan *Autodock vina* tidak ditunjukkan.

Hasil penelitian *docking* menunjukkan senyawa turunan nomor 80 memiliki dengan afinitas terkecil sebesar -11.3 kcal/mol. Berdasarkan Gambar 2, diketahui bahwa posisi inhibitor senyawa nomor 66 (ligan warna warni) dari hasil menggambar sendiri berhimpit dengan posisi inhibitor MKC-442 (ligan warna hijau) yang telah terikat dengan enzim RT (dari literatur). Hal ini juga dibuktikan dari hasil *log docking* yang menunjukkan nilai RMSD 0.000, bahwa grid box yang telah ditentukan merupakan posisi yang paling tepat untuk melihat *binding site pocket* enzim RT.



Gambar 2 Perbandingan posisi struktur senyawa nomor 66 (warna warni) dengan struktur MKC-442 (hijau) pada HIV-1 RT (PDB code: 1rt1)

Pembahasan

Analisa HKSA menjelaskan hubungan antara struktur dan aktivitas dari suatu senyawa yang dinyatakan secara matematis. Untuk mendapatkan suatu persamaan regresi multilinear data aktivitas biologis yaitu log 1/C ditetapkan sebagai variabel terikat dan sifat fisika kimia senyawa ditetapkan sebagai variabel bebas. Penentuan persamaan regresi dilakukan dengan menggunakan program statistik *Unscrambler X.1* dan *IBM SPSS Statistics 19 trial version*. Berdasarkan 85 senyawa turunan HEPT dari 17 parameter bebas dipilih lima parameter menggunakan bantuan program *IBM SPSS Statistics 19 trial version* metode *univariate correlation* dan *stepwise*, kemudian menggunakan program statistik *Unscrambler* metode *Multiple Linier Regression* (MLR) diperoleh beberapa persamaan dengan nilai regresi yang berbeda-beda dan dipilih persamaan yang menunjukkan nilai regresi terbaik yang mendekati satu.

Langkah pertama membuat korelasi matriks antar delapan belas parameter menggunakan program *Unscrambler* metode *descriptive statistics*. Data korelasi ditampilkan

dalam bentuk Tabel, seperti yang ditunjukkan pada Tabel 1. Koefisien korelasi menunjukkan kekuatan hubungan linear dan arah hubungan antara variabel terikat dan variabel bebas. Jika koefisien korelasi positif, maka kedua variabel memiliki hubungan searah. Sebaliknya jika koefisien korelasi negatif, maka kedua variabel memiliki hubungan terbalik [8].

Tabel 1. Tabel korelasi matriks antar tujuh belas parameter dan aktivitas biologi dari senyawa HEPT dan turunannya menggunakan program *unscrambler* metode *descriptive statistics*.

Variable Cor	log 1/C	HE	ASA	SAG	ITC	IAC	I6	ISP	IOH	I2	MR	IV	Pc	η	ST	D	α	log ²
log 1/C	1	0.6442	0.3356	0.3658	0.3097	0.0918	-0.2874	0.0445	-0.5643	0.4966	0.2998	0.5019	0.3152	-0.2895	-0.4687	-0.4634	0.2997	0.6674
HE	2	0.6442	1	0.0372	0.0344	0.3082	0.0532	-0.2577	-0.1562	-0.8776	0.147	-0.0049	0.2686	-0.0031	-0.5163	-0.7271	-0.635	-0.005
ASA	3	0.3356	0.0372	1	0.7907	0.3049	0.1188	0.0546	0.4135	0.0181	0.3711	0.5919	0.5999	0.626	0.1406	0.1956	-0.0131	0.5918
SAG	4	0.3658	0.0344	0.7907	1	0.5652	0.5652	0.1322	0.1426	-0.0789	0.3943	0.9017	0.8791	0.8216	0.2784	0.1463	-0.0669	0.9027
ITC	5	0.3097	0.3082	0.3049	0.5652	1	0.6295	0.18	-0.159	-0.4699	0.3327	0.6033	0.5838	0.5821	0.1862	-0.0629	-0.1453	0.6033
IAC	6	0.0918	0.0532	0.1188	0.5652	0.6295	1	0.2544	-0.366	0.261	0.7258	0.5957	0.6009	0.4181	0.2155	-0.026	0.7258	0.4071
I6	7	-0.2874	-0.2577	0.0546	0.1322	0.18	0.2544	1	0.0625	0.1111	0.263	0.3157	0.0532	0.2441	0.7822	0.7881	0.5476	0.3157
ISP	8	0.0445	-0.1562	0.4135	0.1426	-0.159	-0.366	0.0625	1	0.1175	-0.0034	-0.0014	0.0034	0.0499	0.0231	0.153	0.2151	-0.0014
IOH	9	-0.5643	-0.8776	0.0181	-0.0789	-0.4699	-0.2577	0.1111	0.1175	1	-0.2284	-0.0867	-0.261	-0.0558	0.3172	0.5733	0.5514	-0.0867
I2	10	0.4966	0.147	0.3711	0.3943	0.3327	0.361	0.2463	-0.0034	-0.2284	1	0.461	0.3297	0.4171	0.3671	0.2293	0.0634	0.4609
MR	11	0.2998	-0.0049	0.5919	0.9017	0.6033	0.7258	0.3157	-0.0014	-0.0867	0.461	1	0.8829	0.9075	0.4752	0.2929	0.0526	1
IV	12	0.5019	0.2686	0.5999	0.8791	0.5838	0.5957	0.0532	0.0034	-0.261	0.3287	0.8829	1	0.5066	0.0087	-0.1613	-0.3437	0.8829
Pc	13	0.3152	-0.0031	0.626	0.0216	0.5821	0.6009	0.2941	0.0499	-0.0558	0.4171	0.9075	0.5066	1	0.3687	0.2184	-0.0219	0.9075
η	14	-0.2895	-0.4687	0.1406	0.2784	0.1862	0.0181	0.7822	0.0231	0.3172	0.3671	0.4752	0.0087	0.3687	1	0.9597	0.7795	-0.4751
ST	15	-0.4687	-0.7271	0.1956	0.1463	-0.0269	0.2155	0.7881	0.153	0.5733	0.2293	0.2929	-0.1613	0.2184	0.9597	1	0.6577	0.2929
D	16	-0.4634	-0.635	-0.0131	-0.0669	-0.1453	-0.026	0.5476	0.2151	0.5514	0.0634	0.0526	-0.3437	-0.0219	0.7795	0.6577	1	0.0526
α	17	0.2997	-0.005	0.5918	0.9017	0.6033	0.7258	0.3157	-0.0014	-0.0867	0.4609	1	0.8829	0.9075	0.4751	0.2929	0.0526	1
log ²	18	0.6674	0.7197	0.3239	0.5315	0.5905	0.4871	-0.0377	-0.1637	-0.7397	0.4639	0.5835	0.7095	-0.0914	-0.3755	-0.4632	-0.5835	1

Senyawa dikatakan semakin aktif sebagai inhibitor enzim RT HIV apabila koefisien variabel terikat berupa log 1/C semakin tinggi atau harga C semakin rendah. Koefisien dengan nilai positif akan meningkatkan nilai log 1/C dan koefisien dengan nilai negatif akan menurunkan nilai log 1/C. Tabel 3 menunjukkan bahwa tidak ada nilai koefisien korelasi antara R>0.75-0.99, dengan kata lain tidak ada parameter yang menunjukkan korelasi yang sangat kuat dengan aktifitas log 1/C. Untuk memperoleh pemodelan atau persamaan dengan tingkat korelasi yang sangat kuat (R>0.75-0.99) diperlukan kombinasi multi variat.

Kombinasi multi variat dilakukan dengan pengembangan tahap awal yaitu pemodelan metode koefisien korelasi pada beberapa parameter. Model terbaik HKSA dengan program *unscrambler* dengan metode MLR dihasilkan kombinasi parameter SAG, I₂, I₆, I_{SP} dan IOH. Pemodelan kombinasi lima parameter ini disajikan pada persamaan 1.

$$\text{Log } 1/C = 0.0055 \text{ SAG} + 1.2431 \text{ I}_2 - 1.2962 \text{ I}_6 + 0.5231 \text{ I}_{SP} - 1.2389 \text{ IOH} + 4.5839$$

N=85, RMSE=0.7557, R=0.8109, R²_{adj}=0.5978, F=30.3402
persamaan 1

Persamaan 1 menunjukkan bahwa koefisien positif yang ditunjukkan oleh parameter I₂ (adanya keberadaan penambahan atom Sulfur posisi RX cincin senyawa utama) dan parameter I_{SP} (adanya keberadaannya cincin fenil pada posisi R₂ cincin senyawa utama) meningkatkan aktivitas biologis log 1/C.

Koefisien negatif pada parameter I_6 (adanya keberadaan penambahan atom Sulfur posisi R_2 cincin senyawa utama) dan parameter I_{OH} (penambahan atom OH pada posisi R_3 cincin senyawa utama) menunjukkan hubungan yang menurunkan aktivitas biologis $\log 1/C$. Parameter SAG pada variabel bebas persamaan 1 menunjukkan koefisien sebesar 0.0055, hal ini menunjukkan SAG hanya memberikan pengaruh yang rendah dalam meningkatkan variabel terikat aktivitas biologis $\log 1/C$.

Hasil yang serupa juga ditunjukkan pada persamaan 2, dengan pemodelan lima kombinasi yaitu parameter I_2 , I_6 , I_{SP} dan I_{OH} dan parameter hidrofobik $\log P$. Parameter I_2 dan I_{SP} menunjukkan koefisien positif maka variabel I_2 dan I_{SP} memiliki hubungan searah dengan $\log 1/C$, sedangkan parameter I_6 dan I_{OH} menunjukkan koefisien negatif maka variabel I_6 dan I_{OH} memiliki hubungan terbalik dengan $\log 1/C$.

$$\log 1/C = 0.2748 \log P + 1.1612 I_2 - 1.2247 I_6 + 0.5572 I_{SP} - 0.7246 I_{OH} + 6.74$$

N=85, RMSE=0.7517, R=0.8132, R^2_{adj} =0.6035, F=30.8347
persamaan 2

Koefisien positif parameter $\log P$ pada persamaan 2 menunjukkan kedua variabel memiliki hubungan searah. Jika nilai variabel *hidrofobik* tinggi, maka nilai variabel aktifitas $\log 1/C$ akan tinggi pula. Koefisien $\log P$ (0.2678) yang ditunjukkan pada persamaan 2 lebih besar daripada koefisien SAG (0.0055) yang ditunjukkan pada persamaan 1, sehingga SAG dikeluarkan dari pemilihan model. Namun Tabel koefisien korelasi matriks yang ditunjukkan pada Tabel 3, bahwa parameter MV terhadap $\log 1/C$ juga menunjukkan korelasi yang kuat sebesar 0.5019. Selanjutnya dilakukan metode *stepwise linear regression* menggunakan program *IBM SPSS Statistics 19 trial version* pada sekelompok parameter sifat fisika kimia klasik seperti *Molar Volume* (MV), *Parachor* (Pc), *Refractive Index* (η), *Surface Tension* (ST), *density* (d), *Polarizability* (α) yang memberikan beberapa hasil signifikan. Metode *stepwise* ini menghasilkan kombinasi MV, Pc dan η dimana hasil korelasinya paling tinggi sehingga dijadikan sebagai pemodelan selanjutnya. Kemudian dilakukan kombinasi pemodelan parameter MV, Pc dan η dengan parameter I_2 dan I_{SP} . Persamaan 3 kemudian digunakan untuk menentukan $\log (1/C)_{prediksi}$ dari inhibitor turunan HEPT seperti pada Tabel 1. Model regresi linear dapat dikatakan baik, jika nilai residual kecil [9].

$$\log 1/C = 1.5101 I_2 + 0.4602 I_{SP} + 0.1618 MV - 0.0557 Pc + 22.4748 \eta + 32.6771$$

N=85, RMSE=0.6834, R=0.8485, R^2_{adj} =0.6794, F=40.6166
persamaan 3

Persamaan 3 merupakan kombinasi pemodelan yang paling baik dibandingkan kombinasi pemodelan dari persamaan sebelumnya, ditunjukkan oleh nilai regresi (R), koefisien determinasi (R^2_{adj}), dan nilai F paling tinggi diantara kombinasi persamaan lainnya. Koefisien parameter MV, Pc dan η pada persamaan ini menunjukkan parameter sterik berperan dalam aktifitas inhibisi oleh turunan HEPT melawan enzim RT HIV. Selain itu, parameter I_2 dan I_{SP} juga menunjukkan peran parameter elektronik. Jadi untuk mendapatkan aktivitas paling baik diperlukan parameter elektronik dan sterik.

Setelah dilakukan analisis regresi lebih dalam berdasarkan persamaan 3, dengan melihat Tabel 1 terdapat pengamatan yang tidak biasa pada model yang disebut *outlier*. *Outlier* merupakan data dengan nilai residual di luar interval atau residual terlalu besar [9]. Senyawa diurutkan dari residual yang paling besar sehingga data senyawa dengan kode 2, 14, 18, 45, 46, 78, 79, 80, 81 dan 83 dikeluarkan, penghilangan ini memberikan model dengan statistik lebih baik, lihat persamaan (5). Umumnya dinyatakan setiap variabel bebas sebaiknya terdapat lima hingga dua puluh data sampel. Dengan demikian, jika ada lima variabel bebas, seharusnya ada minimal 25 sampel [8]. Jumlah minimal komponen sudah terpenuhi sesuai jumlah variabel bebas sehingga model dapat diterima.

$$\log 1/C = 1.5672 I_2 + 0.5785 I_{SP} + 0.1507 MV - 0.0509 Pc + 19.4485 \eta + 28.3571$$

N=80, RMSE=0.5815, R=0.8903, R^2_{adj} =0.7578, F=56.6244
persamaan4

$$\log 1/C = 1.7429 I_2 + 0.4843 I_{SP} + 0.1470 MV - 0.0503 Pc + 17.6145 \eta + 24.8466$$

N=75, RMSE=0.5104, R=0.9135, R^2_{adj} =0.8064, F=69.4881
persamaan 5

Perbandingan dari persamaan 3 hingga persamaan 5 menunjukkan bahwa model yang diperoleh untuk 75 senyawa memberikan statistik yang lebih baik dan paling cocok untuk prediksi aktivitas inhibisi Enzim RT HIV. Hal ini jelas bahwa pengurangan ukuran data senyawa dalam pemodelan meningkatkan nilai regresi (R), menurunkan nilai RMSE, selain itu dalam kasus ini juga peningkatan besar data statistik F bersamaan dengan peningkatan nilai R^2_{adj} [10]. $R^2_{adjusted}$ atau koefisien determinasi berfungsi

untuk melihat sejauh mana keseluruhan variabel bebas dapat menjelaskan variabel terikat. Angka koefisien determinasi yang nilainya semakin mendekati 1 pengaruh variabel bebas terhadap variabel terikat adalah semakin kuat, yang berarti variabel-variabel bebas memberikan hampir semua informasi yang dibutuhkan untuk memprediksi variasi variabel terikat [10].

Root Mean Square Error (RMSE) menunjukkan nilai variasi kesalahan dalam percobaan. Sedangkan F menunjukkan bahwa hubungan yang dinyatakan oleh persamaan yang didapat adalah benar. Semakin tinggi nilai F menunjukkan semakin kecil kemungkinan hubungan tersebut adalah kebetulan [6]. Duda-Seiman (2007:216) mengemukakan dalam penelitian *QSAR Modelling of Anti-Hiv Activity With HEPT Derivatives* diperoleh hasil persamaan $r=0.888$ telah dianggap bernilai bagus, begitu pula dengan persamaan 5 yang digunakan memiliki nilai $r=0.9135$ dapat dianggap memenuhi kelayakan dari model [1].

Pada penelitian ini proses analisis *docking* molekulnya menggunakan program *Autodock Vina*. Program ini merupakan perbaikan dari edisi sebelumnya yaitu *Autodock 4*.

Autodock Vina merupakan sebuah program baru untuk *docking molekul* dan penyaringan virtual yang memiliki kecepatan dua kali lebih besar daripada *Autodock 4*. Selain itu, akurasi prediksi modus pengikat juga lebih meningkat atau lebih baik. Penyiapan ligan uji senyawa HEPT dan turunannya menggunakan program *ChemOffice 2004 trial version*. Penyiapan ligan uji diawali dengan menggambar struktur senyawa menggunakan program *ChemDraw Ultra 8.0*, kemudian dilanjutkan membuat bentuk struktur bangun ruang senyawa menggunakan program *Chem3D Ultra 8.0*. Selain itu pada pembuatan bentuk struktur bangun ruang dilakukan minimasi energi dengan *Molecular Mechanical MM2 Methods* dengan pencarian konformasi untuk menghasilkan posisi ligan yang stabil sehingga diharapkan dapat terikat dengan *binding site* dari protein (enzim RT HIV). Pemilihan model MM2 ini karena parameter yang digunakan dalam optimasi selain berdasarkan konformasi dari struktur ligan uji, tetapi juga berdasarkan perhitungan energi titik tunggal untuk membandingkan konformasi dari molekul yang sama, dan mencari ruang konformasi dengan memvariasikan sudut dihedral tunggal [11].

Penyiapan yang dilakukan terhadap protein sebelum dilakukan *docking* diantaranya

adalah penghilangan air, penambahan atom H, penambahan muatan dan penghapusan ligan atau kofaktor yang tidak terkait. Protein yang digunakan diambil dari *Protein Data Bank* (www.pdb.org) yaitu kode 1RT1 berisi kompleks enzim RT HIV dengan MKC-442 dan air [7]. Senyawa MKC-442 merupakan senyawa turunan HEPT dengan nama struktur 6-(cyclohexylmethyl)-1-(ethoxymethyl)-5-isopropyl-hexahydropyrimidine-2,4-diol, Senyawa MKC-442 merupakan salah satu senyawa turunan HEPT yang energi dan afinitas diakui dalam *docking* molekulnya. Oleh karena itu dalam penyiapannya pertama-tama penghilangan air dan penghapusan senyawa MKC-442, kemudian penambahan atom H dan muatan. Pemilihan pdb kode 1RT1 ini karena senyawa MKC-442 digunakan sebagai validasi. Hasil keluaran *docking* yaitu *output* berupa posisi senyawa ligan inhibitor turunan HEPT yang berikatan dengan protein. Selanjutnya digunakan *software* PyMOL untuk melihat posisi senyawa ini dibandingkan dengan posisi MKC-442 apakah posisi berhimpit dan konfirmasi mirip [12].

Setelah protein dikondisikan murni atau bebas dari senyawa-senyawa pengotor seperti air dan inhibitor, kemudian diatur posisi grid yang sesuai dengan tempat inhibitor turunan HEPT terikat (*binding site pocket*). Setelah dilakukan analisis, didapatkan posisi grid dari enzim RT yaitu $center_x=4.67189$; $center_y=-40$; $center_z=-30.5172$ dengan besar volume grid box 30x30x30. Jarak grid box ini menggunakan ukuran yang sama agar perhitungan RMSD terpusat [13]. Untuk validasi bahwa posisi tersebut merupakan *binding site pocket* dari enzim RT maka dilakukan *docking* terhadap inhibitor turunan HEPT senyawa nomor 66 yang strukturnya mirip MKC-442 dari hasil menggambar sendiri dengan MKC-442 yang sudah terikat pada enzim RT. Hasil yang diperoleh dari analisis tersebut diketahui seperti Gambar 2.

Berdasarkan Gambar 2, diketahui bahwa posisi inhibitor senyawa nomor 66 (ligan warna warni) dari hasil menggambar sendiri berhimpit dengan posisi inhibitor MKC-442 (ligan warna hijau) yang telah terikat dengan enzim RT (dari literatur). Hal ini juga dibuktikan dari hasil *log docking* yang menunjukkan nilai RMSD 0.000, bahwa grid box yang telah ditentukan merupakan posisi yang paling tepat untuk melihat *binding site pocket* enzim RT. Metode yang digunakan dikatakan valid jika harga RMSD yang diperoleh kurang dari 2 artinya

posisi ligan baru semakin dekat posisinya menduduki ligan literatur sehingga metode yang digunakan akan lebih akurat. Validasi dilakukan pada *binding site pocket* ligan dengan 10 kali replikasi [14].

Docking dilakukan dengan *exhaustiveness* 60, karena semakin besar angka *exhaustiveness* kemungkinan senyawa hasil *docking* semakin berimpit atau mendekati sisi aktif atau *binding site pocket* semakin besar [14]. Selanjutnya dilakukan replikasi *docking* sebanyak 10 kali pada senyawa nomor 66 dengan enzim RT menggunakan grid box yang telah ditentukan tersebut. Validasi senyawa nomor 66 dilakukan replikasi sebanyak 10 kali menghasilkan nilai afinitas yang sama sebesar -10,4 kcal/mol dengan RMSD sebesar 0,000. Hal ini menunjukkan bahwa valid metode *docking* dengan RMSD < 2 [15].

Docking terhadap senyawa ligan uji yang diperoleh dari hasil eksperimen beberapa peneliti terhadap protein enzim RT dengan program *Autodock vina* untuk mengetahui interaksi antara keduanya sehingga didapatkan nilai afinitas sebagai *output*. Semakin rendah afinitas atau energi bebas yang dihasilkan maka kompleks inhibitor ligan dengan enzim semakin cepat terbentuk atau dengan kata lain inhibisi inhibitor terhadap enzim RT HIV akan semakin bagus jika afinitas nilainya besar jika dibandingkan dengan inhibisi inhibitor terhadap enzim RT HIV jika afinitas yang nilainya kecil. Afinitas yang satuannya digambarkan dengan besaran kcal/mol juga dapat disebut energi bebas (ΔG_{obs}) [16]. Tabel 2 menunjukkan nilai aktivitas senyawa inhibitor enzim RT HIV turunan HEPT dan nilai afinitas hasil *docking* menggunakan *Autodock vina*. Afinitas atau energi hasil data *docking* menggunakan *Autodock Vina* diperoleh senyawa no. 80 dengan afinitas terkecil sebesar -11.3 kcal/mol.

Simpulan dan Saran

Berdasarkan hasil analisis menunjukkan bahwa menurut HKSA yang berperan dalam aktifitas inhibisi oleh turunan HEPT sebagai NNRTI melawan enzim RT HIV adalah parameter *indeks refraksi* (η), *Molar Volume* (MV), *Parachor* (Pc), I_2 (parameter yang menunjukkan keberadaan Sulphur pada posisi R_2) dan I_{SP} (parameter yang menunjukkan keberadaan Sulphur pada posisi X). Persamaan terbaik yang diperoleh dengan 75 senyawa memiliki nilai $R=0.9135$, $R^2_{adj}=0.8064$, $RMSE=0.5104$, dan $F=69.4881$. Hasil penelitian *docking* menunjukkan senyawa turunan nomor

80 dengan struktur nama 1-(benzyloxymethyl)-6-(3,5-dimethylphenylthio)-5-ethylpyrimidine-2,4(1H,3H)-dione memiliki dengan afinitas terkecil sebesar -11.3 kcal/mol. Saran dari penelitian ini adalah perlu adanya uji lebih lanjut seperti uji secara in vivo untuk benar-benar membuktikan kemampuan inhibisi senyawa turunan HEPT sebagai NNRTI terhadap enzim RT HIV.

Daftar Pustaka

1. Duda-Seiman, C., Duda-Seiman D., Putz M. V., and Ciubotariu, D. 2007. QSAR Modelling of Anti-Hiv Activity With HEPT Derivatives. *Digest J. of Nanomaterials and Biostructures*, Vol. 2 (2) :207-219.
2. De Clercq, E. 1994. HIV Resistance to Reverse Transcriptase Inhibitors. *Biochem. Pharmacol.* (47):155-169.
3. De Clercq, E. 2002. Strategies in the Design of Antiviral Drugs. *Nat Rev Drug Discov.* (1):13-25.
4. De Clercq E. 2004. Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors (Nnrtis): Past, Present, and Future. *Chem Biodivers.* (1):44-64.
5. Thakur, A., Tiwari, B.K., Thakur, M., Thakur, S., Pandey, N.D., & Narvi, S.S. 2007. 2D, 3D Modelling of Inhibition Activity of Reverse Transcriptase-1 by HEPT Derivatives. *Asian J. of Biochemistry*, Vol. 2 (2): 84-100.
6. CAMO. 2006. *The Unscrambler Methods*. CAMO Software AS.
7. Hopkins, A.L., Ren, J., Esnouf, R.M., Willcox, B.E., Jones, E.Y., Ross, C., Miyasaka, T., Walker, R.T., Tanaka, H., Stammers, D.K., and Stuart, D.I. Complexes of HIV-1 reverse transcriptase with inhibitors of the HEPT series reveal conformational changes relevant to the design of potent non-nucleoside inhibitors. <http://www.rcsb.org/pdb/explore.do?pdbId=1rt1>. PUBMED [serial on line].
8. Santoso, S. 2012. *Aplikasi SPSS pada Statistik Multivariat*. Jakarta : Penerbit Elex Media Komputindo.
9. Suwanda, M.S. 2011. *Desain Eksperimen untuk Penelitian Ilmiah*. Bandung: Penerbit Alfabeta.
10. Arikunto, Suharsimi. 2002. *Prosedur Penelitian Suatu Pendekatan Praktek Edisi Revisi V*. Jakarta: PT Rineka Cipta

11. Cambridgesoft. 2003. *CS Chem3D 8.0 for Windows*. United States of America: Cambridgesoft Corporation.
12. Rizzo, R. C., Tirado-Rives, J. and Jorgensen, W. L. 2001. Computational Advances in Structure Based Drug Design with Applications to HIV-1 Reverse Transcriptase. *J. Med. Chem*, Vol. 44:145-154. Armougom, Fabrice., Moretti, Sébastien., Keduas, Vladimir., and Notredame, Cedric. 2006. The iRMSD: a local measure of sequence alignment accuracy using structural information. *Bioinformatics*. Vol. 22 (14).
13. Huey, R., Garrett, M., Morris, and Forli, S. 2011. Using AutoDock 4 and Vina with AutoDockTools: A Tutorial. *The Scripps Research Institute Molecular Graphics Laborator*. California. USA.
14. Kramer, B., Rarey, M., and Lengauer, T. 1999. Evaluation of the FLEXX incremental construction algorithm for protein–ligand docking. *Proteins*. Vol. 37.
15. Morris, Goodsell, Halliday, Huey, Hart, Belew, and Olson. 1998. Automated Docking Using a Lamarkian Genetic Alogaritm and an Empirical Binding Free Energy Function. *J. Comp. Chem*. 19:1.639-1.662. Nasr, J. M., Craddock, M. & Johnston. 1993. *Drug News & Perspectives* 6. <http://www.niaid.nih.gov/daids/dtpdb/virpage1.asp>.