

Studi Penambatan Molekul Senyawa Turunan Saquinavir Terhadap Enzim Protease Inhibitor HIV-1

Risky Agung Idwar Pratama, Marsah Rahmawati Utami, Vesara Ardhe Gatara

Program Studi Farmasi Universitas Singaperbangsa Karawang

Riskyagungidwar17@gmail.com

Abstrak

Human Immunodeficiency Virus (HIV) adalah virus merusak kekebalan tubuh. Tingginya kasus penderita HIV di Indonesia dari tahun ke tahun maka diperlukannya pengembangan obat baru yang memiliki target spesifik dan selektivitas yang tinggi terhadap terapi HIV. Sampai sekarang terapi menggunakan antiretroviral merupakan pengobatan paling efektif dalam menghambat infeksi virus pada tubuh tetapi tidak menyembuhkan HIV. Saquinavir merupakan salah satu obat antiretroviral jenis protease inhibitor yang digunakan dalam pengobatan infeksi yang disebabkan oleh HIV. Saquinavir bekerja memperlambat replikasi HIV dalam tubuh dengan cara mencegah enzim protease yang berperan sebagai pemotong sehingga proses replikasi virus bisa dihambat. Pada penelitian dilakukan untuk memprediksi potensi senyawa obat baru yang berasal dari turunan obat saquinavir sebagai antivirus HIV-1. Metode yang digunakan untuk mengetahui potensi senyawa obat baru maka dilakukan penelitian pra-experimental yaitu dengan kimia komputasi meliputi prediksi sifat fisikokimia berdasarkan kaidah Hukum Lima Lipinski memanfaatkan situs online *SwissADME* dan penambatan molekuler menggunakan *Autodock Vina*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa turunan saquinavir tidak memenuhi kaidah Hukum Lima Lipinski. Hasil penambatan molekuler menunjukkan bahwa senyawa turunan saquinavir tidak lebih spesifik dan selektivitas terhadap enzim protease HIV jika dibandingkan dengan ligan aslinya yaitu saquinavir. Berdasarkan hal tersebut senyawa turunan saquinavir diprediksi tidak memiliki potensi menghambat enzim protease pada HIV-1 sebaik ligan asli

Kata kunci: HIV-1, HIV Protease Inhibitors, Saquinavir.

Abstract

Human Immunodeficiency Virus (HIV) is a retrovirus that attacks cells of the immune system. The high number of cases of HIV patient in Indonesia from year to year requires the development of new drugs that have specific targets and high selectivity for HIV therapy. Until now, therapy using antiretroviral is the most effective treatment in inhibiting viral infection in the body but does not cure HIV. Saquinavir is a protease inhibitor type of antiretroviral drug used in the treatment of infections caused by HIV. Saquinavir works by slowing down the replication of HIV in the body by preventing the protease enzyme that acts as a cutter so that the viral replication process can be inhibited. This study aims to determine the potential of saquinavir derivatives as an HIV-1 antiviral. To determine the potential, an *in silico* study was carried out including prediction of physicochemical properties referring to Lipinski's Five Laws on the SwissADME site and molecular anchoring using Autodock Vina. The results showed that saquinavir derivative compounds did not comply with Lipinski's Five Laws. The results of molecular docking showed that saquinavir derivative compounds were not more specific and selective for HIV protease enzymes when compared to the original ligan, namely saquinavir. Based on this, it is predicted that saquinavir-derived compounds do not have the potential to inhibit protease enzymes in HIV-1 as well as native ligan.

Keywords : HIV-1, HIV Protease Inhibitors, Saquinavir

PENDAHULUAN

Human immunodeficiency virus (HIV) adalah virus RNA dengan berantai tunggal yang menghambat *leukosit* yang mengakibatkan terganggunya sistem ketahanan tubuh inang yang diserang. Acquired immunodeficiency syndrome ialah gejala penyakit yang muncul karena berkurangnya kemampuan sistem kekebalan tubuh manusia yang disebabkan infeksi HIV. Akibat turunya kekebalan tubuh maka penderita sangat rentan terkena berbagai infeksi penyakit yang sangat fatal (1). HIV/AIDS merupakan masalah kesehatan masyarakat terbesar di dunia penyakit ini terdapat hampir di semua negara di dunia tanpa terkecuali termasuk Indonesia (2). WHO mempublikasikan data HIV/AIDS sejak tahun 1981 hingga 2015 terdapat 36.9 juta penderita HIV dan sebanyak 1.2 juta korban meninggal karena AIDS. Jumlah kasus baru HIV positif dilaporkan dari tahun ketahun meningkat sedangkan kasus AIDS terlihat adanya kecenderungan penurunan (3).

Saquinavir merupakan obat yang digunakan sebagai terapi HIV. Saquinavir adalah turunan peptida yang bekerja menghambat kerja enzim protease HIV yang bertindak sebagai pemotong, mencegah pemrosesan polyprotein virus

pasca translasi. Saquinavir merupakan lini pertama yang tersedia untuk pengobatan infeksi HIV (4). Protease inhibitor dapat merusak enzim protease yang berperan sebagai gunting atau pemotong bahan baku HIV. Penggunaan terapi menggunakan Saquinavir bertujuan menurunkan kadar infeksi virus HIV pada darah yang sangat tinggi sehingga mengembalikan kualitas sistem kekebalan tubuh (5).

Penelitian ini bertujuan mencari obat baru yang memiliki potensi lebih baik guna menekan angka penderita HIV. Proses penemuan obat baru meliputi proses sintesis dari beberapa struktur kimia yang dilakukan menggunakan metode komputasi. Metode ini digunakan dalam memprediksi afinitas dan aktivitas dari suatu molekul obat serta melihat geometri tiga dimensidari senyawa yang terikat pada sisi aktif protein yaitu docking molekul (6).

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian yang menggunakan studi kasus pre-experimental berbasis komputer dengan menggunakan *in silico* atau penambatan molekul. Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui interaksi antara ligan-reseptor untuk menemukan kandidat senyawa yang berpotensi sebagai obat HIV-1.

Alat

Perangkat keras berupa personal komputer serta perangkat lunak berupa aplikasi penunjang seperti *autodock Tools versi 1.5.7*, *Avogadro versi 1.2.0*, *Chem Draw Pro versi 12.0*, *Chem 3D Pro versi 12.0*, *Discovery Studio Visualizer versi 21.1.0.20.298*, *SwissADME*.

Bahan

Bahan yang digunakan yaitu struktur 3D protein dengan (PDB id: 4QGI) yang diperoleh dari webserver <http://www.rscb.org>, struktur 3D Senyawa saquinavir dan senyawa turunan saquinavir.

Tahapan

Skrining Sifat Fisikokimia Senyawa

Skrining dilakukan pada setiap senyawa inhibitor untuk mengetahui informasi mengenai bioavailabilitas oral, permeabilitas sel, metabolisme dan eliminasi menggunakan kaidah *lipinski rule of five*. Skrining dilakukan dengan memanfaatkan aplikasi penunjang berupa *SwissADME*.

Preparasi Protein Target

Struktur 3D protein dengan kode PDB id: 4QGI dipreparasi untuk menghilangkan molekul- molekul yang tidak diperlukan menggunakan aplikasi penunjang berupa *Biovia Discovery Studio* dan *AutodockTools*. Hasil dari tahapan ini berupa struktur protein murni yang

disimpan dalam format .pdbqt.

Preparasi Senyawa Inhibitor

Struktur 3D saquinavir yang merupakan *ligan complex* dari protein 4QGI dibuat senyawa turunannya dengan menggunakan aplikasi *chemdraw*. Setiap senyawa inhibitor dipreparasi dihilangkan molekul yang tidak diperlukan menggunakan aplikasi *Biovia Discovery Studio* dan *AutodockTools*. Kemudian dilakukan energi minimalisasi menggunakan aplikasi *Avogadro*. Dari tahap ini diperoleh berupa senyawa inhibitor murni dengan format .pdbqt.

Penentuan Grid Box

Penentuan grid box dilakukan secara otomatis dengan menggunakan aplikasi penunjang *AutodockTools* yang dijalankan dengan bantuan *Command Prompt* dengan cara memasukan kode kode perintah yang diinginkan. Hasil *Autogrid* berupa file dengan format *extension .txt* yang dapat dibuka menggunakan notepad pada komputer.

Validasi Metode Docking

File hasil preparasi protein dan ligan asli kemudian dilakukan docking menggunakan *Autodock Tools* yang dijalankan dengan *command prompt*. Dari sini akan dihasilkan besarnya nilai *Root Mean Square Deviation (RMSD)*. Metode docking dikatakan baik

jika nilai RMSD-nya kurang dari sama dengan 2 ($\text{RMSD} \leq 2\text{\AA}$). Perhitungan nilai RMSD dapat menggunakan aplikasi pembantu *Biovia Discover Studio*.

Penambatan Senyawa Inhibitor Terhadap Protein Target

Selanjutnya dilakukan docking dari masing-masing ligan uji, baik ligan saquinavir ataupun turunannya dengan menggunakan *Autodock Tools* yang dijalankan menggunakan *Command Prompt*. Dari hasil penambatan ini akan diperoleh nilai terbaik ligan uji, nilai ini menunjukkan bahwa senyawa inhibitor dengan bentuk konformasi struktur dan energi ikatan (*binding affinity*) terendah untuk dapat berikatan dengan protein target. Nilai tersebut yang akan dibandingkan dengan nilai terbaik ligan asli (7).

Analisa Data

Analisis yang dilakukan pada penelitian ini adalah sifat fisikokimia

senyawa berdasarkan kaidah *Lipinski Rule of Five*, validasi antara senyawa inhibitor dengan protein target dengan target nilai *Root Mean Square Deviation* $\text{RMSD} \leq 2\text{\AA}$. Setelah itu dilakukan analisis penambatan molekul yakni interaksi senyawa inhibitor dengan protein target yang diukur dengan nilai *binding affinity*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penambatan molekul senyawa inhibitor terhadap protein target 4QGI didapatkan hasil sifat fisikokimia dengan parameter *Lipinski rule of five* nilai *root mean square deviation* (RMSD) dan hasil penambatan molekul antara senyawa inhibitor yang merupakan turunan dari senyawa saquinavir dengan protein target yakni protein dengan kode PDB id : 4QGI berdasarkan nilai *binding affinity*. Berikut merupakan beberapa tabel hasil penelitian ;

Tabel 1. Hasil Prediksi Sifat fisikokimia Berdasarkan Kaidah *Lipinski Rule of Five*

Sampel	BM (g/mol)	Log P	HBA	HBD	Torsion
Saqui navir	670.84	1.4	5	7	16
1	705.29	1.8	5	7	16
2	739.73	2.2	5	7	16

3	713.91	1.2	5	7	17
4	686.84	0.9	6	8	16
5	773.28	2.5	5	10	17
6	714.89	1.2	5	8	17
7	715.84	0.6	5	9	17
8	685.86	0.9	6	7	16
9	783.84	1.3	5	12	18
10	739.73	2.2	5	7	16
11	695.85	0.7	5	8	16
12	700.87	1.0	5	8	17
13	715.84	0.6	5	9	17
14	740.74	2.0	5	7	17
15	684.87	1.5	5	7	16
16	700.87	1.0	5	8	17
17	739.73	2.2	5	7	16

tabel 1 merupakan prediksi sifat fisikokimia awal senyawa potensial obat baru. Pada tahap ini digunakan aturan *lipinski rule of five* yang terdiri atas 5. Berat molekul ≤ 500 merupakan parameter yang mengukur kemampuan molekul obat berdifusi menembus membran sel. Nilai $\log P \leq 5$ menyatakan kemampuan molekul obat terlarut dalam air. Ikatan hidrogen donor ≤ 5 dan ikatan hidrogen aseptor ≤ 10 merupakan parameter yang menyatakan banyaknya ikatan hidrogen yang terjadi

dari suatu senyawa obat serta torsion ≤ 10 menyatakan jumlah putaran atom suatu struktur(8). Pada tabel di atas menjelaskan bahwa senyawa inhibitor baik *native ligan* dan turunannya tidak memenuhi kaidah *lipinski rule of five*. Suatu senyawa dinyatakan tidak memenuhi parameter *lipinski* apabila terdapat lebih dari satu penyimpangan (9). Akan tetapi, senyawa turunan memiliki kemiripan sifat fisikokimia dengan senyawa *native ligan*.

Tabel 2. Hasil *Root Mean SquereDeviation (RMSD)*

Nama Protein	Center	Grid Box	RMSD
PDBid : 4QGI	X : 15.281 Y : -8.169 Z : -9.857	X : 42 Y : 40 Z : 40	0.5027

tabel 2 merupakan tabel pengujian nilai RMSD yakni sebagai parameter yang digunakan dalam proses validasi metode *docking*. Dimana besaran nilai $RMSD \leq 2 \text{ \AA}$ yang umumnya digunakan sebagai acuan dasar dalam dockingmolekul (10). Semakin kecil nilai RMSD haltersebut menandakan letak senyawa inhibitor yang diprediksi semakin baik hal ini dikaenakan konformasinya semakin mirip dengan *native ligan*(11). Validasi metode dilakukan

dengan cara re- *docking* senyawa inhibitor saquinavir dengan protein target 4QGI (12). Validasi dilakukan dengan aplikasi *Autodock* yang dijalankan menggunakan bantuan *command prompt*. Pada tahap validasi metode didapati nilai RMSD 0.5027 Å, hal ini berarti pengaturan ukuran *grid center* dan *grid size* dikatakan valid dan dapat digunakan untuk penambatan senyawa turunan saquinavir pada protein 4QGI.

Tabel 3. Penambatan Molekul SenyawaUji

Sampel	Binding Affinity
Saquinavir	-12.6
1	-10.74
2	-9.32
3	-9.562
4	-9.707
5	-7.6
6	-8.899
7	-9.192
8	-10.61
9	-7.487
10	-7.172

11	-8.948
12	-8.042
13	-7.11
14	-7.475
15	-7.337
16	-9.441
17	-6.779

paling stabil (14). Apabila terdapat nilai *binding affinity* senyawa uji yang lebih negatif dibandingkan dengan ligan pembandingnya maka memiliki selektivitas yang lebih baik terhadap protein uji (15). Berdasarkan Tabel 3 nilai terendah dari *native ligan* dengan tiga kali pengulangan adalah -12.6 kcal/mol. Sedangkan senyawa turunan dengan nilai terendah yakni terdapat pada senyawa turunan 1 yakni -11.36 kcal/mol.

SIMPULAN

Senyawa inhibitor yang merupakan senyawa turunan dari saquinavir tidak memenuhi kaidah *lipinski rule of five*. Metode penambatan molekul yang digunakan sudah valid hal ini dibuktikan dengan nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) diperoleh nilai RMSD 0.5027. Hasil penambatan molekul tujuh belas (17) senyawa uji dari turunan ligan asli saquinavir tidak berpotensi sebagai obat

baru, hal ini dinyatakan dengan nilai energy ikat antara ligan dan reseptor tidak lebih negative atau lebih kecil dari ligan asli. Turunan 1 merupakan turunan dengan nilai *binding affinity* terendah yaitu -11.36 kcal/mol sedangkan ligan asli memiliki nilai -12.6 kcal/mol.

Penambatan molekul dilakukan dengan menggunakan aplikasi *AutodockTools* yang dijalankan menggunakan bantuan *command prompt*. Penambatan molekul dilakukan dengan menentukan letak terbaik dari suatu mikro molekul yakni ligan dengan suatu makromolekul yakni reseptor, penentuan penambatan molekul obat berdasarkan struktur ligan yang memiliki energi ikatan (*binding affinity*) yang paling rendah (13). Berdasarkan penambatan molekul nilai *binding affinity* didapatkan hasil bahwa baik senyawa uji dan *native ligan* memiliki nilai *binding affinity* yang negative (<0) terhadap

protein PDB id: 4QGI. Nilai *binding affinity* berada <0 menandakan bahwa hasil penambatan berada pada sisi aktif dari reseptor. Hasil *binding affinity* dipilih dari hasil yang paling negatif. Nilai negatif menunjukkan konformasi ligan dengan reseptor

DAFTAR PUSTAKA

1. Leleury, Z. A., Rumlawang, F. Y., & Naraha AG. Analisis Stabilitas dan Simulasi Model Penyebaran Penyakit HIV/AIDS Tipe SIA (Susceptible, Infected, Abstained). *TensorPure Appl Math J.* 2020;1(1):31–40.
2. Yulianingsih E. Faktor – Faktor yang Berhubungan dengan Tindakan Berisiko Tertular HIV / AIDS pada Siswa SMA Negeri di Kota Gorontalo. *Jikmu.* 2015;5(2a):311–21.
3. Mansur Sididi Rahman dan Yusriani. High Risk Behaviour tertular hiv/aids pada anak nuaah kapal. *Angew Chemie Int Ed* 6(11), 951–952. 2020;2:5–24.
4. Noble S, Faulds D. Saquinavir. *Drugs* [Internet]. 1996;52(1):93–112. Available from: <https://doi.org/10.2165/00003495-199652010-00007>
5. Amin S. Docking Amprenavir Dan Senyawa Turunannya Sebagai Anti-Hiv (Human Immunodeficiency Virus). *J Kesehat Bakti Tunas Husada J Ilmu-ilmu Keperawatan, Anal Kesehat dan Farm.* 2015;9(1):67.
6. Pratama AA, Rifai Y, Marzuki A. Docking Molekuler Senyawa 5,5'-Dibromometilsesamin. *Maj Farm dan Farmakol.* 2017;21(3):67–9.
7. Sukmawaty E, Susanti S, Masriany M. Penambatan Molekuler Senyawa Cendawan Endofit *Trichoderma sp.* Sebagai Inhibitor Protein Low Density Lipoprotein, Enzim Lanasterol 14 Demetilase dan Lipase Yang Bertanggung Jawab Dalam Dermatitis Sebroik. *J Ilm Ibnu Sina Ilmu Farm dan Kesehat.* 2021;6(1):98–107.
8. Nusantoro YR, Fadlan A. Analisis Sifat Mirip Obat, Prediksi ADMET, dan Penambatan Molekuler Isatinil-2-Aminobenzoilhidrazon dan kompleks logam transisi Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II) Terhadap BCL2-XL. *Akta Kim Indones.* 2020;5(2):114.
9. Ami Fini Faqiha, Indrawijaya YYA, SuryadinataA, Amiruddin M, Mutiah R. Potensi Senyawa Nitazoxanide dan Arbidol sebagai Antivirus SARS-CoV-2 terhadap Reseptor NSP5 (7BQY dan 2GZ7) dan ACE2 (3D0G dan 1R4L). *J Food Pharm Sci.* 2022;5(1):570–83.
10. Mardianingrum R, Herlina T, Supratman U. ISOLASI DAN MOLECULAR DOCKING SENYAWA 6,7-DIHIDRO-17- HIDROKSIERISOTRIN

- DARI DAUN DADAP BELENDUNG (Erythrina poeppigiana) TERHADAP AKTIVITAS SITOTOKSIK ANTIKANKER PAYUDARA MCF-7. *Chim Nat Acta*. 2015;3(3):90–3.
11. Docking SM, Dynamic M, Prediksi DAN, Muttaqin FZ, Ismail H, Muhammad HN, et al. TOKSISITAS SENYAWA TURUNAN ALKALOID NAFTIRIDIN SEBAGAI INHIBITOR PROTEIN KASEIN KINASE 2- α PADA KANKER LEUKEMIA. 2019;2.
12. Ngurah G, Candra H, Adnyana IM, Wijaya P. Molecular Docking Kaempferol sebagai Antiinflamasi pada Aterosklerosis secara In Silico Molecular Docking Kaempferol asAnti-Inflammatory in Atherosclerosis in Silico. 2021;7(1):13–8.