

Desain dan Studi *In Silico* Senyawa Turunan Kuwanon-H sebagai Kandidat Obat Anti-HIV

Design and *In Silico* Study of Kuwanon-H as Anti-HIV Drug Candidate

Ruswanto¹, Tita Nofianti¹, Richa Mardianingrum², Tresna Lestari¹, Ardelia Sepriyani¹

¹Prodi Farmasi, STIKes Bakti Tunas Husada, Tasikmalaya 46115, Indonesia

²Prodi Farmasi, Universitas Perjuangan, Tasikmalaya 46115, Indonesia

Email: ruswanto@stikes-bth.ac.id

Received: January 2018; Revised: February 2018; Accepted: February 2018; Available Online: May 2018

Abstrak

Kuwanon-H merupakan senyawa flavonoid dari kulit akar murbei (*Morus alba* L) yang secara *in vitro* berpotensi sebagai anti-HIV dibanding senyawa flavonoid lainnya yang terkandung dalam kulit akar murbei seperti morusin dan morusin 4'-glukosida. Telah dilakukan penelitian desain senyawa, penambatan molekular menggunakan *ArgusLab 4.0.1* dengan metode *ArgusDock*, penerapan aturan *Lipinski's Rule of Five* menggunakan *Marvin Sketch 5.2.5.1* dan uji toksisitas menggunakan aplikasi *Toxtree* secara *in silico* terhadap turunan senyawa kuwanon-H. Desain enam puluh senyawa turunan kuwanon-H dilakukan dengan cara model pendekatan Topliss pada rantai samping alifatiknya. Hasil penambatan ke-60 turunan senyawa pada reseptor HIV-1 *Reverse Transcriptase* (1REV) menunjukkan bahwa senyawa terbaik yaitu 3-[(2Z)-3-(siklopropilmetil)but-2-en-1-il]-8-[6-({3-[(2Z)-3-(siklopropilmetil)but-2-en-1-il]-2,4-dihidroksifenil} karbonil)-5-(2,4-dihidroksifenil)-3-metilsikloheks-2-en-1-il]-2-(2,4-dihidroksifenil),7-dihidroksi-4H-kromen-4-on dengan nilai energi bebas yang lebih rendah (-12.5798 kkal/mol) dibandingkan ligan asli (-11.0445 kkal/mol) dan kuwanon-H (-11.0189 kkal/mol). Senyawa terbaik ini tidak memenuhi aturan *Lipinski's Rule of Five*. Hasil prediksi uji toksisitas senyawa terbaik menurut parameter *Cramer Rules* termasuk kategori III, yaitu diprediksi memiliki toksisitas tinggi, menurut parameter *Benigni/Bossa Rulebase* diprediksi senyawa yang diuji tidak bersifat karsinogenik, genotoksik, dan nongenotoksik, sedangkan menurut parameter *Kroes TTC decision tree* diprediksi senyawa uji berpotensi toksik.

Kata kunci: Anti HIV-1 *Reverse Transcriptase*, *in silico*, Kuwanon-H.

Abstract

Kuwanon-H is a flavonoid compound from the root bark of the mulberry (*Morus alba* L) which is potentially acts as an anti-HIV. We have performed molecular docking using *ArgusLab 4.0.1* with *ArgusDock* method, the application of *Lipinski's Rule of Five* using *MarvinSketch 5.2.5.1* and toxicity prediction test has been performed by *Toxtree* for Kuwanon-H derivatives compound. The sixty of kuwanon-H derivatives compound were done by Topliss model in an aliphatic side chain. From the molecular docking results were showed that the best interaction with HIV-1 *Reverse Transcriptase* receptor (1REV) namely the 3-[(2Z)-3-(cyclopropylmethyl)but-2-en-1-yl]-8-[6-({3-[(2Z)-3-(cyclopropylmethyl) but-2-en-1-yl]-2,4-dihydroxyphenyl} carbonyl)-5-(2,4-dihydroxyphenyl)-3-methyl cyclohex-2-en-1-yl]-2-(2,4-dihydroxyphenyl),7-dihydroxy-4H-chromen-4-one compound with free energy (-12.5798 kcal/mol) and it was lower than native ligand (-11.0445 kcal/mol) and kuwanon-H (-11.0189 kcal/mol). The best compound was not qualified *Lipinski's Rule of Five*. According to the parameters *cramer rules* in the third category, it was predicted has of its high toxicity, according to the *Benigni/Bossa Rulebase*, it was predicted negative for genotoxic and nongenotoxic carcinogenicity, according to the *Kroes TTC decision Tree* parameters, it was predicted to be potentially toxic.

Keyword : Anti HIV-1 *Reverse Transcriptase*, *in silico*, Kuwanon-H

DOI: <http://dx.doi.org/10.15408/jkv.v4i1.6867>

1. PENDAHULUAN

Pada tahun 2016, 1 juta orang meninggal karena penyebab HIV secara global. Ada sekitar 36.7 juta orang yang hidup dengan HIV pada akhir 2016 dengan 1,8 juta orang menjadi baru terinfeksi pada tahun 2016 secara global. Sebanyak 54% orang dewasa dan 43% anak-anak yang hidup dengan HIV saat ini menerima terapi antiretroviral (ART) seumur hidup (WHO, 2016).

Adanya terapi antiretrovirus yang tidak efektif mengakibatkan munculnya resistensi terhadap virus. *Reverse Transcriptase* HIV yang secara alami akan mendorong terjadinya evolusi keragaman genetik yang cepat serta kecenderungan berkembangnya resistensi terhadap obat antiretrovirus (Stephen dan Ghilman, 2012). Oleh karena itu, penemuan dan pengembangan senyawa baru anti HIV dengan modifikasi molekul telah banyak dilakukan sampai sekarang dengan target berbagai enzim virus HIV terutama enzim vital untuk reproduksi virus seperti *Reverse Transcriptase*, integrase, dan protease (Callies *et al.*, 2015; Feng *et al.*, 2009; Gu *et al.*, 2015; Imai *et al.*, 2011; Vijayakumar *et al.*, 2017).

Salah satu upaya penemuan senyawa obat anti HIV diantaranya, Shi De *et al.* (1995) telah melakukan pengujian anti-HIV dari kulit akar murbei (*M. Alba*). Terdapat tiga senyawa yang menunjukkan aktivitas sebagai anti-HIV secara *in vitro* yaitu senyawa morusin, kuwanon-H dan morusin 4'-glukosida dengan kuwanon-H yang memiliki nilai IC_{50} terendah yaitu 1.34 $\mu\text{g/mL}$ dibanding dengan morusin (8.18 $\mu\text{g/mL}$) dan morusin 4'-glukosida (2.29 $\mu\text{g/mL}$). Dalam basis data tanaman obat juga telah informasikan bahwa buah merah Papua yang dipercaya dapat menghambat HIV (AIDS) (Parikesit *et al.*, 2017).

Langkah awal dalam upaya merancang dan mengembangkan obat baru sebagai anti-HIV ini yaitu dengan mengembangkan kandidat obat yang telah ada dan yang sudah diketahui aktivitas biologisnya untuk dijadikan sebagai senyawa penuntun (Firdayani, 2012). Salah satunya yaitu pendekatan secara *in silico* seperti penambatan molekul (Ruswanto, 2015). Pendekatan ini dipilih karena memiliki keuntungan tersendiri dibandingkan pendekatan *in vivo* maupun *in vitro*, antara lain hanya membutuhkan waktu yang cepat dan biaya yang lebih murah (Ekins *et al.*, 2002).

Tujuan penelitian ini adalah untuk menerapkan *Lipinski's Rule of Five* yaitu untuk

membedakan antara molekul *drug-like* dan *non drug-like* dengan memperhatikan tingkat absorpsi terhadap lipid bilayer yang terdapat di dalam tubuh manusia dan uji toksisitas secara *in silico* sehingga sebagai salah satu pengembangan perancangan obat dapat ditemukan senyawa baru yang diharapkan mempunyai aktivitas anti-HIV lebih baik daripada senyawa pada penelitian-penelitian sebelumnya dan diketahui juga mengenai toksisitasnya.

2. METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan berupa perangkat keras dan lunak komputer. Perangkat tersebut berupa personal komputer dengan spesifikasi RAM 2048MB, Intel(R) Core(TM) i3-2328M CPU @ 2.20GHz (4 CPUs), ~2.2GHz system windows 7 Ultimate Service Pack 1 dan perangkat lunak berupa *ArgusLab* 4.0.1, *MarvinSketch* 5.2.5.1., *Molecular Operating Environment (MOE)*, *Molegro Molecular Viewer (MMV)* dan *ToxTree*.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu reseptor HIV-1 *Reverse Transcriptase* (1REV) (Ren *et al.*, 1995) dan struktur senyawa kuwanon-H serta turunannya sebanyak 60 senyawa.

Preparasi Ligan Kuwanon-H dan Turunannya

Ligan digambar menggunakan *software MarvinSketch* kemudian dilakukan optimasi geometri dengan melakukan protonasi pada pH 7,4. Selanjutnya dilakukan *Conformational search* (Ruswanto *et al.*, 2015; Ruswanto *et al.*, 2017). Prosedur di atas dilakukan untuk setiap ligan turunan kuwanon-H dan disimpan dengan format mol2. Preparasi ligan dilakukan dengan optimasi geometri pada struktur yang terbentuk untuk memperoleh konformasi molekul yang stabil dan memiliki energi potensial rendah yang disesuaikan dengan kondisi tubuh.

Preparasi Reseptor

Reseptor *HIV-1 Reverse Transcriptase* diunduh dari *Protein Data Bank (PDB)* dengan kode 1REV dan disimpan dalam format pdb. Kemudian dilakukan preparasi yaitu pemisahan dari ligan alaminya, penghapusan molekul pelarut dan penambahan hidrogen (Syahdi *et al.*, 2012).

Validasi Metode Penambatan

Validasi metode penambatan menggunakan *ArgusLab 4.0.1* dengan *4-chloro-8-methyl-7-(3-methyl-but-2-enyl)-6,7,8,9-tetrahydro-2h-2,7,9a-tri-aza-benzo[cd]azulene-1-thione* (TB9) sebagai *native* ligan (pembanding) sedangkan ligan *copy* ditambatkan pada reseptor IREV. Pada *ArgusLab* terdapat 2 metode yang dapat digunakan untuk penambatan yaitu *ArgusDock* dan *GADock* sehingga validasi dilakukan pada kedua metode tersebut (Thompson, 2004; Hafeez et al., 2013). Penambatan molekul dilakukan menggunakan *ArgusLab* karena dalam prosesnya aplikasi ini sangat mudah, cepat dan telah banyak digunakan untuk proses penambatan molekul. Metode penambatan molekul dikatakan baik jika nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*) ligan dengan ligan *copy* lebih kecil atau sama dengan dua (Kartasmita et al., 2009).

Desain Senyawa Turunan Kuwanon-H

Desain senyawa dilakukan pada struktur kuwanon-H sebagai struktur induknya menggunakan modifikasi struktur model pendekatan Topliss, dengan memodifikasi 60 senyawa pada rantai samping alifatiknya. Penentuan posisi pemasukkan substituen pada struktur senyawa induk berdasarkan hasil optimasi hasil penambatan molekul dengan menggunakan metode yang valid. Posisi dengan nilai energi bebas (ΔG) terendah inilah yang selanjutnya digunakan untuk modifikasi senyawa induk lainnya.

Penambatan Ligan Uji Terhadap Reseptor

Ligan uji dan protein yang telah dipreparasi kemudian dilakukan penambatan menggunakan metode yang valid dengan langkah yang sama seperti pada tahap validasi penambatan namun tanpa dilakukan *copy* ligan, melainkan memasukkan ligan yang akan diuji. Dari hasil penambatan diperoleh nilai energi bebas (ΔG) senyawa uji yang kemudian dibandingkan dengan ΔG *native* ligan.

Visualisasi dan Analisis Hasil Penambatan

Hasil penambatan kemudian divisualisasi menggunakan *software Molecular Operating Environment* (MOE) dalam bentuk 2 Dimensi dan *Molegro Molecular Viewer* (MMV) dalam bentuk 3 Dimensi dan dianalisis interaksinya.

Screening Ligand Based Drug Likeness (Drug Scan)

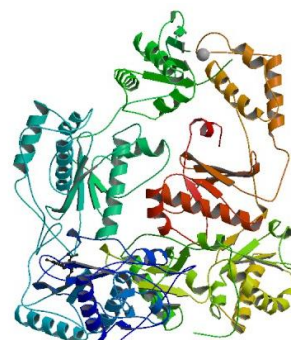
Pengamatan obat dilakukan pada senyawa kuwanon-H dan turunannya yang memiliki energi bebas lebih rendah dari energi bebas *native* ligan. Analisis pengamatan obat dilakukan dengan mempertimbangkan aturan *Lipinski's rule of five*. Parameter aturan ini dapat ditentukan dengan *software MarvinSketch* (Tambunan et al., 2012; Athar et al., 2017; Choy et al., 2011).

Uji Toksisitas

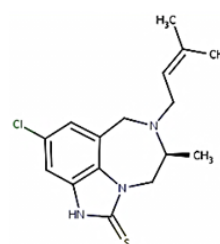
Uji toksisitas dilakukan terhadap senyawa kuwanon-H dan turunannya yang memiliki energi bebas lebih rendah dari energi bebas *native* ligan menggunakan *software ToxTree*. Parameter yang dilihat pada uji toksisitas ini adalah prediksi parameter *Cramer Rules*, *Benigni/Bossa rulebase*, dan *Kroes TTC decision tree* (Tambunan et al., 2012; Patlewicz et al., 2008; Contrera, 2013; Bhatarai et al., 2016; Bhatia et al., 2015).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Di bawah ini adalah struktur reseptor berupa enzim *HIV-1 reverse transcriptase* yang digunakan sebagai target dalam penelitian dan inhibitorynya berupa ligan TB9 (4-chloro-8-methyl-7-(3-methyl-but-2-enyl)-6,7,8,9-tetrahydro-2h-2,7,9a-triaza-enzo[cd]azulene-1-thione).



Gambar 1. Reseptor *HIV-1 RT* dengan ligan TB9



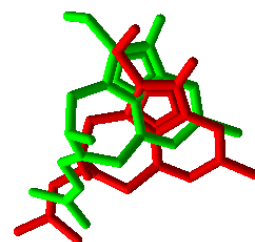
Gambar 2. Struktur ligan TB9

Hasil Validasi Metode Penambatan

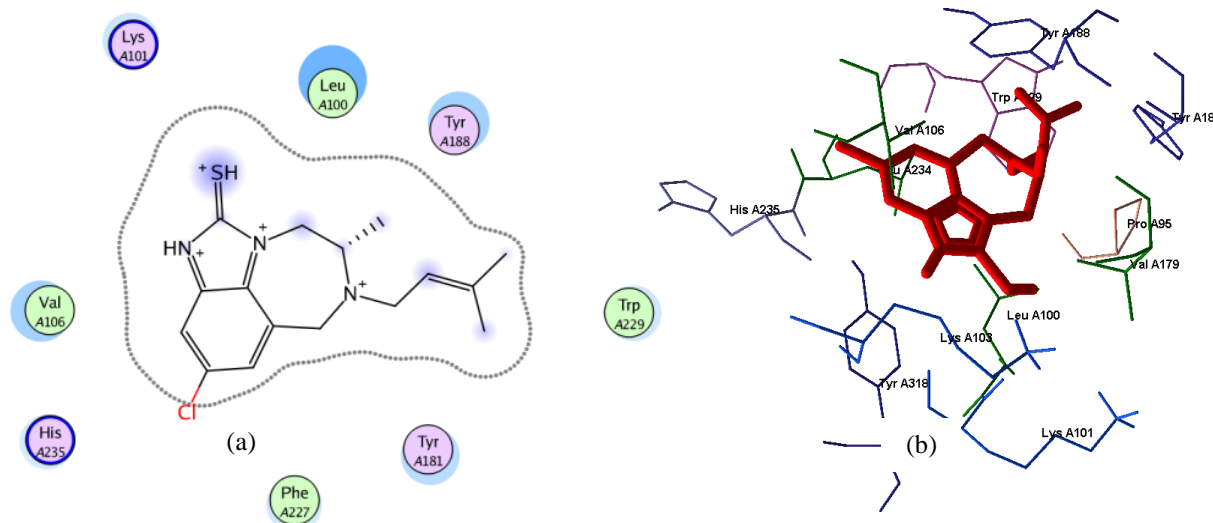
Validasi metode *penambatan* dilakukan dengan cara *me-repenambatan* kembali *native* ligan pada reseptor *HIV-1 reverse transcriptase*. Validasi ini bertujuan untuk mengetahui apakah reseptor yang diunduh dari PDB dapat digunakan kembali untuk *penambatan* senyawa turunan kuwanon-H yang diujikan. Sebelum *penambatan*, *binding site bounding box* perlu diatur sedemikian rupa sehingga ligan dan reseptor dapat berinteraksi dan menghasilkan nilai energi bebas (ΔG). *Binding site bounding box* diatur pada 37.25 (x), 39.50 (y) dan 44.75 (z). *Binding site* dari reseptor *HIV-1 Reverse Transcriptase (IREV)* berupa residu asam-asam amino yang berada pada jarak 5 Å dari *native ligand* yaitu Gly A190, His A235, Ile A180, Leu A100, Leu A234, Lys A101, Lys A103, Phe A227, Pro A95, Pro A236, Tyr A181, Tyr A188, Tyr A318, Val A106, Val A179, Val A189, dan Trp A229. Karena pada *ArgusLab* terdapat 2 *penambatan engine* yang dapat digunakan untuk *penambatan* yaitu *ArgusDock* dan *GADock* maka validasi dilakukan pada kedua *penambatan engine* tersebut. Pemilihan metode

ditentukan oleh nilai *RMSD (Root Mean Square Deviation)* antara *native* ligan dengan ligan *copy*.

Hasil validasi dengan metode *ArgusDock* menunjukkan nilai *RMSD* kurang dari 2.0 Å yaitu 1.942 Å. Perbandingan konformasi struktur ligan TB9 dengan ligan TB9 *copy* hasil simulasi *penambatan* tersebut dapat dilihat pada **Gambar 3**. Sedangkan hasil validasi dengan metode *GADock* menunjukkan nilai *RMSD* lebih dari 2.0 Å yaitu 15.717 Å. Berdasarkan hasil tersebut maka metode *penambatan* yang valid adalah *ArgusDock*.



Gambar 3. Perbandingan konformasi struktur ligan TB9 (hijau) dengan ligan TB9 *copy* hasil simulasi *penambatan* dengan metode *ArgusDock* (merah).

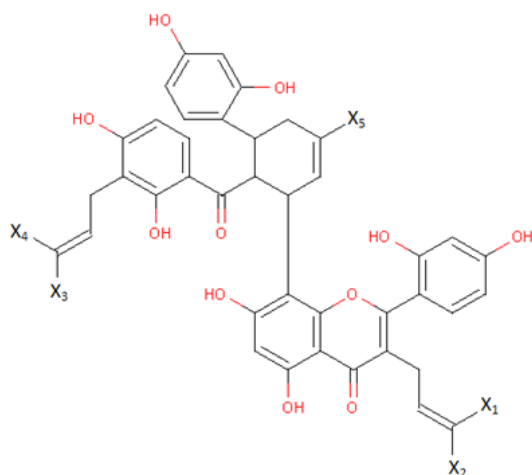


Gambar 4. (a) Visualisasi 2D interaksi *penambatan* pada simulasi *penambatan* dengan reseptor HIV-1 RT (IREV) menggunakan *Molecular Operating Environment*; (b) Visualisasi 3D interaksi *penambatan* simulasi *penambatan* dengan reseptor IREV menggunakan *Molegro Molecular Viewer*

Desain Senyawa Turunan Kuwanon-H

Terdapat 5 posisi yang memungkinkan adanya modifikasi struktur pada rantai samping alifatik senyawa induk yang dapat dilihat pada **Gambar 5**. Berdasarkan hasil *penambatan*, posisi substituen untuk modifikasi struktur senyawa induk yaitu pada posisi X₁ dan X₄

dengan nilai energi bebas yang rendah dibanding dengan posisi lainnya yaitu -10.0014 kkal/mol dan -10.9701 kkal/mol. Pada penelitian, desain senyawa turunan kuwanon-H ini dilakukan pada posisi X₁, X₄ dan kedua posisi tersebut.



Gambar 5. Kuwanon H, X₁, X₂, X₃, X₄, X₅ adalah substituen (*Marvin Sketch*)

Visualisasi dan Analisa Hasil Penambatan

Nilai energi bebas (ΔG) ligan uji hasil penambatan antara ligan uji dengan reseptor *HIV-1 RT* (1REV) yang diperoleh dibandingkan dengan ΔG native ligan. Semakin kecil nilai energi bebas maka semakin tinggi afinitas ligan tersebut terhadap reseptornya, artinya semakin stabil kompleks ligan-reseptor tersebut. Pada **Tabel 1** menunjukkan terdapat 18 ligan yang memiliki energi bebas lebih baik daripada native ligan dan senyawa induk yang menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki afinitas ligan terhadap reseptor yang lebih baik dibanding native ligan dan senyawa induk serta

lebih berpotensi sebagai anti-HIV dibanding *native* ligan sebagai pembanding. Energi bebas terendah ditunjukkan oleh ligan dengan substituen CH_2 -siklo- C_3H_5 pada posisi 1 dan 4 yaitu -12.5798 kkal/mol.

Interaksi antara ligan dengan residu-residu asam amino pada reseptor diantaranya melalui ikatan hidrogen intermolekular yaitu ikatan hidrogen yang terjadi antara senyawa turunan kuwanon-H dengan residu asam amino dari reseptor. Senyawa *4-chloro-8-methyl-7-(3-methyl-but-2-enyl)-6,7,8,9-tetrahydro-2h-2,7,9a-tri-aza-benzo[cd]azulene-1-thione* (TB9) dengan reseptor *HIV-1 RT* tidak terjadi ikatan hidrogen dan residu asam amino yang berinteraksi pada ikatan ligan reseptor sebanyak 8 residu. Interaksi antara senyawa induk kuwanon-H dengan reseptor *HIV-1 RT* yaitu terjadi ikatan hidrogen diantara atom O(8) dengan Arg A172 dimana jarak keduanya 2.9003 Å sedangkan residu asam amino yang berinteraksi pada ikatan ligan reseptor sebanyak 13 residu. Untuk senyawa turunan kuwanon-H terbaik juga berinteraksi dengan reseptor *HIV-1 RT* dan terjadi delapan ikatan hidrogen yaitu diantara atom O(8) dengan Lys A101, Thr B675, Ser B670, Glu B674, Thr B675, Thr B675, Glu B564, dan Lys B568. Sedangkan residu asam amino yang berinteraksi pada ikatan ligan reseptor sebanyak 18 residu.

Tabel 1. Data energi bebas senyawa desain

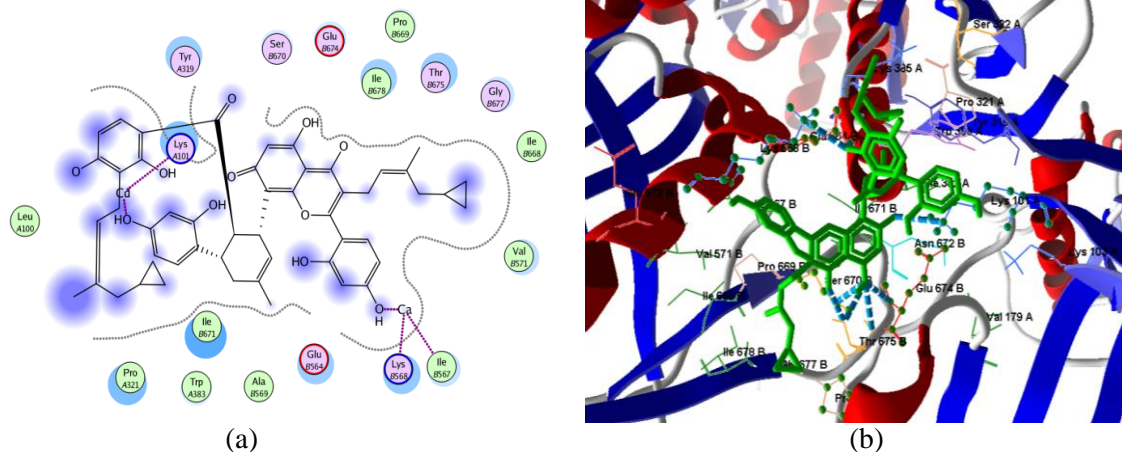
Kode Substituen	Substituen	Energi bebas (ΔG) (kkal/mol)		
		Posisi X ₁	Posisi X ₄	Posisi X ₁ dan X ₄
-	TB9	-11.0445	-11.0445	-11.0445
-	Senyawa induk	-11.0189	-11.0189	-11.0189
1	i- C_3H_7	-10.0014	-10.9701	-11.289
2	siklo- C_5H_9	-9.70644	-8.34525	-8.7438
3	siklo- C_6H_{11}	-10.1076	-10.9745	-10.8431
4	$\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$	-11.1571	-8.74602	-9.6529
5	$(\text{CH}_2)_2\text{-C}_6\text{H}_5$	-10.2943	-12.2223	-12.42
6	siklo- C_4H_7	-9.69428	-11.7986	-10.8399
7	CH_2 -siklo- C_3H_5	-9.06539	-11.9138	-12.5798
8	t- C_4H_9	-9.12259	-10.2455	-11.3334
9	C_2H_5	-11.3971	-10.4101	-9.61754
10	CHCl_2	-11.3608	-11.3207	-11.8471
11	CF_3	-10.4187	-10.6217	-10.5337
12	$\text{CH}_2\text{-CF}_3$	-11.8376	-11.4353	-9.8297
13	$\text{CH}_2\text{-SCH}_3$	-11.7566	-11.4173	-10.2462
14	C_6H_5	-10.0422	-11.2908	-10.5239
15	H	-10.9628	-9.68545	-9.68545
16	$\text{CH}_2\text{-OH}$	-11.1955	-9.73485	-9.70412
17	$(\text{CH}_2)_2\text{-OH}$	-7.15892	-8.3595	-8.96254
18	$\text{CH}_2\text{-OCH}_3$	-9.33541	-8.3764	-9.33541
19	$(\text{CH}_2)_2\text{-OCH}_3$	-9.42104	-8.76046	-9.56441
20	$\text{CH}_2\text{-SO}_2\text{CH}_3$	-8.85123	-10.7487	-9.69612

Tabel 2. Interaksi ligan (energi bebasnya lebih rendah dari native ligan maupun senyawa induk) dengan residu asam amino dari reseptor *HIV-1 RT* (1REV)

Ligan	Kontak Residu	Ikatan Hidrogen	Jarak ikatan (Å)
Native ligan	Lys A101, Leu A100, Tyr A181, Tyr A188, Trp A229, Val A106, His A235 dan Phe A227	-	-
Senyawa induk	Arg A172, Thr A165, Ile B678, Lys B585, Gly B677, Ser B670, Lys B568, Pro B669, Ile B671, Ile B567, Glu B572, Glu B564, Val B571	Arg A172(O)	2.9003
K1-4	Pro 243, Gln 242, Leu 228, Tyr 183, Asp 185, Tyr 188, Trp 229, Met 184, Lys 223	Leu A228(O) Tyr A183(O)	2.03244 3.07649
K1-9	Arg A172, Val B571, Glu B572, Ile B567, Glu B564, Ile B671, Pro B669, Lys B568, Ser B670, Ile B678, Lys B585, Gly B677, Thr A165	Arg A172(O) Pro B669(O)	2.88113 3.59725
K1-10	Glu A169, Lys B585, Thr B675, Ile B668, Lys B568, Ile B671, Glu B564, Ser B670, Pro B669, Ile B567, Ile B678, Val B571	Glu A169(O) Lys B585(O) Thr B675(O) Ile 6B71(O)	2.34501 2.82837 2.59473 2.87685
K1-12	Arg A172, Lys B585, Val B571, Ile B567, Glu B564, Ile B564, Ser B670, Lys B568, Pro B669, Ile B678, Gly B677	Arg A172(O)	3.47099
K1-13	Ile B671, Glu B674, Ser B670, Thr B675, Pro B669, Pro B676, Gly B677, Ile B668, Ile B678, Val B571, Ala B569, Ile B567, Lys B568, Trp A383, Glu B564, Lue A100, Pro A321, Lys A101, Tyr A319	Lys A101(O) Thr B675(O) Ser B670(O) Glu B674(O) Thr B675(O) Thr B675(O) Glu B564(O) Lys B568(O) Pro B669(O)	3.40191 2.32587 3.15443 3.33555 3.36754 2.99145 2.89952 3.09353 2.89999
K1-16	Arg A172, Thr A165, Gly B677, Arg B679, Lys B585, Ile B678, Pro B669, Val B571, Ile B671, Ile B567, Ser B670, Lys B568, Glu B564	Pro B669(O)	2.89999
K4-5	Phe 87, Lys 154, Glu 89, Val 90, Tyr 115, Gln 151, Met 184, Tyr 183, Asp 185	Lys A154 (O)	2.89287
K4-6	Val B571, Pro B669, Ile B678, Ile B567, Lys B568, Glu B564, Ile B671, Ile 668, Thr B675, Ser B670, Glu A169, Pro A170, Lys A173	Glu B564 (O) Ile B671 (O)	3.10329 2.89174
K4-7	Arg A172, Gly B677, Thr A165, Arg B679, Lys B585, Pro B669, Ile B678, Glu B564, Ser B670, Ile B567, Ile B671, Lys B568, Val B571	Pro B669 (O)	2.89911
K4-10	Ile B567, Pro B669, Ser B670, Val B571, Ile B671, Thr B675, Ile B678, Lys B585, Thr A165, Lys A173, Glu A169, Pro A170	Glu A169 (O) Lys B585 (O) Thr B675 (O) Ile B671 (O)	2.7728 2.97952 2.89787 3.48443
K4-12	Lys B585, Val B571, Glu B564, Ile B567, Pro B669, Ile B671, Ile B678, Ser B670, Thr A165, Gly B677, Arg B679, Glu A169, Lys B585, Arg A172	Pro B669 (O)	2.90007
K4-13	Val B571, Arg B679, Gly B677, Ile B668, Pro B669, Ile B671, Ile B567, Ile B678, Ser B670, Val A179, Thr B675, Arg A172, Lys B585	Thr B675 (O) Thr B675 (O) Lys B585 (O)	3.28332 2.90603 3.32865
K4-14	Thr B675, Val B571, Lys B568, Pro B669, Glu B564, Ile B567, Ser B670, Ile B671, Ile B678, Lys B585, Gly B677, Thr A165	Thr B675 (O)	2.89938
K14-1	Val A381, Ser B670, Asn B673, Asn B672, Ile A380, Ile A94, Pro B561, Met A230, Trp A266, Tyr A232, Leu A92, Glu A378, Thr A377	Leu A92(O) Ile A94(O) Val A381(O) Asn B672(O) Asn B673(O)	3.09303 3.09367 2.86115 3.39549 3.37408
K14-5	Ile B567, Lys B568, Val B571, Ile B671, Glu B674, Val A179, Lys A101, Lys A103, Lys A102, Leu A193, Ser A191, Arg A192, Asp A177	Lys A101 (O) Lys A103 (O) Ile B671 (O) Glu B674 (O)	3.50083 3.29927 3.21151 2.44487
K14-7	Leu A100, Lys A101, Tyr A319, Ser B670, Glu B674, Ile B678, Pro B669, Thr B675, Gly B677, Ile B668, Val B571, Ile B567, Lys B568, Glu B564, Ala B569, Ile B671, Trp A383, Pro A321	Lys A101(O) Thr B675(O) Ser B670(O) Glu B674(O) Thr B675(O) Thr B675(O)	3.46608 2.31257 3.22883 3.43008 3.36311 2.90568

		Glu B564(O)	2.84749
		Lys B568(O)	3.0566
K14-8	Ile B567, Ser B670, Glu B674, Lys B568, Val B571, Ile B678, Thr B675, Pro B669, Glu A169, Ile B668, Lys B585, Arg A172, Ile B571	Thr B675 (O)	2.90311
K14-10	Val B571, Glu B572, Glu B564, Ile B567, Ile B671, Pro B669, Lys B68, Ile B678, Ser B760, Lys B585, Arg B679, Gly B677, Thr A165, Arg A172	Arg A172 (O) Pro B669 (O)	2.89986 3.47699

Keterangan : K = Kuwanon ; 1 = Modifikasi pada posisi X₁; 4 = Modifikasi pada posisi X₄; 1-20 =Substituen



Gambar 6. (a) Visualisasi 2D interaksi penambatan pada senyawa terbaik (substitusi CH₂-siklo-C₃H₅ pada posisi 1 dan 4) dengan reseptor HIV-1 RT (IREV) menggunakan *Molecular Operating Environment*; (b) Visualisasi 3D interaksi penambatan pada senyawa terbaik (substitusi CH₂-siklo-C₃H₅ pada posisi 1 dan 4) dengan reseptor HIV-1 RT (IREV) menggunakan *Molegro Molecular Viewer*

Penerapan Aturan Lipinski

Senyawa dikatakan memiliki absorpsi atau permeabilitas tinggi apabila memenuhi 2 atau lebih kriteria di bawah ini (Athar *et al.*, 2017; Choy *et al.*, 2011); bobot molekul tidak lebih dari 500, koefisien partisi oktanol/air (Log P) terhitung kurang dari 5, donor ikatan hidrogen tidak lebih dari 5, akseptor ikatan hidrogen tidak lebih dari 10 dan refraktivitas molar diantara 40-130.

Hasil penapisan yang dapat dilihat pada **Tabel 3** menunjukkan bahwa senyawa-senyawa turunan kuwanon-H terbaik tidak memenuhi aturan Lipinski dalam semua parameter yang digunakan. Hal ini menunjukkan bahwa semua senyawa turunan kuwanon-H tidak memiliki profil seperti *drug likeness* yang diharapkan. Artinya dengan adanya modifikasi struktur tidak mengubah profil dari senyawa tersebut.

Hasil Prediksi Toksisitas

Uji toksisitas dilakukan dengan menggunakan aplikasi *Toxtree* terhadap semua senyawa turunan kuwanon-H yang memiliki

energi lebih rendah dari native ligan dan hasil uji toksisitasnya dapat dilihat pada **Tabel 4**. Menurut parameter *Cramer Rules*, semua senyawa turunan kuwanon-H termasuk ke dalam kategori tiga yaitu toksisitas tinggi (*High Class*). Hal ini menunjukkan bahwa senyawa turunan kuwanon-H termasuk senyawa dengan struktur kimia yang dianggap tidak terjamin keamanannya atau memungkinkan terjadi toksisitas yang signifikan atau mempunyai gugus fungsional yang reaktif.

Menurut parameter *Benigni/Bossa rulebase*, semua senyawa turunan kuwanon-H kecuali senyawa dengan substituen CHCl₂ tidak bersifat karsinogenik karena hasil pengamatan menunjukkan negatif terhadap genotoksik maupun nongenotoksik karsinogenik. Sedangkan resiko mutagenisitas tidak ditunjukkan oleh parameter ini. Untuk senyawa dengan substituen CHCl₂ menunjukkan positif terhadap genotoksik karsinogenik. Selain itu, menurut parameter *Kroes TTC decision tree*, semua senyawa turunan kuwanon-H kecuali senyawa dengan substituen CHCl₂ termasuk kategori 1 yaitu senyawa diduga tidak aman dan memiliki resiko bagi kesehatan.

Sedangkan senyawa turunan dengan substituen CHCl_2 termasuk kategori 2 yaitu menunjukkan

bahwa resiko toksisitas dari senyawa dapat diabaikan.

Tabel 3. Hasil penapisan menurut aturan lipinski

Ligan	Berat Molekul	Log P	Donor Ikatan Hidrogen	Akseptor Ikatan Hidrogen	Refraktivitas Molar
Senyawa induk	760.288	9.57	8	11	216.91
K1-4	836.9202	11.15	8	11	241.61
K1-9	774.8508	10.02	8	11	221.51
K1-10	829.714	10.31	8	13	226.79
K1-12	828.8222	10.21	8	14	222.30
K1-13	806.916	9.93	8	11	229.37
K1-16	776.8237	8.29	9	12	218.69
K4-5	850.9468	11.60	8	11	246.21
K4-6	800.8881	10.28	8	11	228.86
K4-7	800.8881	10.28	8	11	228.86
K4-10	829.714	10.31	8	13	226.79
K4-12	828.8222	10.21	8	14	222.30
K4-13	806.916	9.93	8	11	229.37
K4-14	822.8936	10.84	8	11	237.01
K14-1	816.9306	11.04	8	11	235.21
K14-5	941.0693	13.62	8	11	275.50
K14-7	840.9520	11.00	8	11	240.81
K14-8	844.9837	11.64	8	11	244.16
K14-10	898.604	11.06	8	15	236.67

Tabel 4. Hasil prediksi toksisitas *toxtree*

Ligan	Substituen	Parameter		
		Cramer Rules	Benigni/Bosa Rulebase	Kroes TTC Decision tree
K1-4	$\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$	3	8.9	1
K1-9	C_2H_5	3	8.9	1
K1-10	CHCl_2	3	1.9	2
K1-12	$\text{CH}_2\text{-CF}_3$	3	8.9	1
K1-13	$\text{CH}_2\text{-SCH}_3$	3	8.9	1
K1-16	$\text{CH}_2\text{-OH}$	3	8.9	1
K4-5	$(\text{CH}_2)_2\text{-C}_6\text{H}_5$	3	8.9	1
K4-6	siklo- C_4H_7	3	8.9	1
K4-7	$\text{CH}_2\text{-siklo-C}_3\text{H}_5$	3	8.9	1
K4-10	CHCl_2	3	1.9	2
K4-12	$\text{CH}_2\text{-CF}_3$	3	8.9	1
K4-13	$\text{CH}_2\text{-SCH}_3$	3	8.9	1
K4-14	C_6H_5	3	8.9	1
K14-1	i- C_3H_7	3	8.9	1
K14-5	$(\text{CH}_2)_2\text{-C}_6\text{H}_5$	3	8.9	1
K14-7	$\text{CH}_2\text{-siklo-C}_3\text{H}_5$	3	8.9	1
K14-8	t- C_4H_9	3	8.9	1
K14-10	CHCl_2	3	1.9	2

Keterangan :

Cramer rules

= 3(High (Class 3))

Benigni/Bosa rulebase

= 1 (Structural alerts for genotoxic carcinogenicity); 8 (Negatif for genotoxic carcinogenicity); 9 (Negatif for nongenotoxic carcinogenicity)

Kroes TTC decision tree

= 1 (Substance would not expected to be safety concern); 2 (Negligible risk (low probability of a life-time cancer risk greater than 1 in 10^6))

4. SIMPULAN

Berdasarkan hasil *penambatan* dapat disimpulkan bahwa senyawa turunan kuwanon secara *in silico* mampu berinteraksi dengan reseptor *HIV-1 Reverse Transcriptase* (1REV) dan senyawa yang terbaik adalah senyawa turunan kuwanon-H yang dimodifikasi pada posisi 1 dan 4 (substituen CH₂-siklo-CH₃) dengan nilai energi bebas yaitu -12.5798 kkal/mol. Kemudian berdasarkan uji toksisitas menunjukkan bahwa semua senyawa uji terkecuali senyawa dengan substituent CHCl₂ cukup berpotensi menimbulkan toksisitas tetapi tidak berpotensi menimbulkan efek karsinogenik atau mutagenik.

DAFTAR PUSTAKA

- Athar M, Lone MY, Jha PC. 2017. First protein drug target's appraisal of lead-likeness descriptors to unfold the intervening chemical space. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*. 72: 272–282.
- Benigni R, Bossa C. 2008. The benign/bossa rulebase for mutagenicity and carcinogenicity a module of toxtree. *JRC Scientific and Technical Reports*. European Commission Joint Research Center.
- Bhatarai B, Wilson DM, Parks AK, Carney EW, Spencer PJ. 2016. Evaluation of TOPKAT, toxtree, and derek nexus in silico models for ocular irritation and development of a knowledge-based framework to improve the prediction of severe irritation. *Chemical Research in Toxicology*. 29.
- Bhatia S, Schultz T, Roberts D, Shen J, Kromidas L, Marie AA. 2015. Comparison of cramer classification between toxtree, the OECD QSAR toolbox and expert judgment. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 71(1): 52–62.
- Callies O, Bedoya LM, Beltrán M, Muñoz A, Calderón PO, Osorio AA, Jimenez IA, Alcami J, Bazzocchi IL. (2015). Isolation, structural modification, and HIV inhibition of pentacyclic lupane-type triterpenoids from *Cassine xylocarpa* and *Maytenus cuzcoina*. *Journal of Natural Products*. 78(5): 1045–1055.
- Choy Y, Bin, Prausnitz MR. 2011. The rule of five for non-oral routes of drug delivery: ophthalmic, inhalation, and transdermal. *Pharmaceutical Research*. 28(5): 943–948.
- Contrera JF. 2013. Validation of toxtree and SciQSAR in silico predictive software using a publicly available benchmark mutagenicity database and their applicability for the qualification of impurities in pharmaceuticals. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 67(2): 285–293.
- Ekins S, Mestres J, Testa B. 2002. *In silico* pharmacology for drug discovery: application to targets and beyond. *British Journal of Pharmacology Review*. 152: 21-37.
- Feng XQ, Liang YH, Zeng Z, Sen, Chen FE, Balzarini J, Pannecouque C, De Clercq E. 2009. Structural modifications of DAPY analogues with potent anti-HIV-1 activity. *ChemMedChem*. 4(2): 219–224.
- Firdayani. 2012. Pengembangan Kandidat Senyawa Obat Turunan Naftokuinon Sebagai Inhibitor Virus Hepatitis B. *Prosiding InSINas* : 35-39.
- Gu SX, Zhu YY, Chen FE, De Clercq E, Balzarini J, Pannecouque C. 2015. Structural modification of diarylpyrimidine derivatives as HIV-1 reverse transcriptase inhibitors. *Medicinal Chemistry Research*. 24(1).
- Hafeez A, Saify ZS, Naz A, Yasmin F, Akhtar N. 2013. Molecular *penambatan* study on the interaction of riboflavin (vitamin B2) and cyanocobalamin (vitamin B12) coenzymes. *Journal of Computational Medicine*. 2013: 1–5.
- <http://www.who.int/hiv/en/>. [diakses 25 Maret 2018].
- <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs360/en/>. [diakses 25 Maret 2018].
- Imai K, Ochiai K. 2011. Role of histone modification on transcriptional regulation and HIV-1 gene expression: possible mechanisms of periodontal diseases in AIDS progression. *Journal of Oral Science*. 53(1): 1–13.
- Kancev, Angel. 2009. *Toxtree User Manual*, Bulgaria: Idea Consult Ltd.
- Kartasmita RE, Herowati R, Harmastuti N, Gusdinar T. 2009. Quercetin derivatives *penambatan* based on study of flavonoids interaction to cyclooxygenase-2 *penambatan* turunan kuersetin berdasarkan studi interaksi flavonoid terhadap enzim. *Indo. J.chem*. 9(2): 297–302.

- Nursalam, Kurniawati ND. 2009. Asuhan Keperawatan pada Pasien Terinfeksi HIV/AIDS. Jakarta (ID): *Salemba Medika*.
- Parikesit AA, Nurdiansyah R, Agustriawan D. 2018. Telaah sistematis terhadap basis data bahan alam untuk pengembangan produk suplemen herbal. *Pros. SEMNASTAN* 0:62–68. [accessed 2018 Jan 28].
- Patlewicz G, Jeliaskova N, Safford RJ, Worth AP, Aleksiev B. 2008. An evaluation of the implementation of the Cramer classification scheme in the Toxtree software. *SAR and QSAR in Environmental Research*. 19(5–6): 495–524.
- Ren J, Esnouf R, Hopkins A, Ross C, Jones Y, Stammers D, Stuart D. 1995. The structure of HIV-1 reverse transcriptase complexed with 9-chloro-TIBO: lessons for inhibitor design. *Structure*. 3(9): 915–926.
- Ruswanto. 2015. Molekular docking empat turunan isonicotinohydrazide pada *Mycobacterium tuberculosis* enoyl-acyl carrier reductase (InhA). *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*. 13: 213–227.
- Ruswanto, Siswandono, Richa M, Tita N, Tresna L. 2017. Molecular penambatan of 1-benzoyl-3-methylthiourea as anti cancer candidate and its absorption, distribution, and toxicity prediction. *J. Pharm. Sci. & Res*. 9(5): 680-684.
- Shi D, Nemeč J, Bing M, Ning. 1995. Anti HIV flavonoid from *Morus alba*. *Acta Botanica Yunnanica*. 17: 89-95.
- Stephen, Gilman AG. 2012. Dasar Farmakologi Terapi, edisi 10 volume 3. Jakarta (ID): *EGC*.
- Syahdi RR, Mumin A, Suhartanto H, Yanuar A. 2012. Virtual screening of Indonesian herbal database as HIV-1 reverse transcriptase inhibitor. *Biomedical Informatics*. 8: 1206-1210.
- Tambunan USF, Harganingtyas R, Harganingt R, Parikesit AA. 2012. In silico modification of (1R, 2R, 3R, 5S)-(-)- isopinocampheylamine as inhibitors of M2 proton channel in influenza A virus subtype H1N1, using the molecular docking approach. *Trends Bioinforma*. 5: 25–46.
- Tambunan USF, Amri N, Parikesit AA. 2012. In silico design of cyclic peptide as influenza virus, a subtype H1N1 neuraminidase inhibitor. *African Journal of Biotechnology* 11(52): p11474-11491.
- Thompson M. 2004. *ArgusLab 4.0.1*, Planaria Software LLC., Seattle, Wash, USA.
- Vijayakumar R, Senbagam R, Rajarajan M, Manikandan V, Balaji S, Vanangamudi G, Thirunarayanan G. 2017. Synthesis, study of structure activity relationship and evaluation of biological activities of substituted (E)-2-benzylidene-N-methylhydrazinecarbothioamides. 12(4): 130–137.
- Zukhrullah, Mukhtasyam, Aswad M, Subehan. 2012. Kajian beberapa Senyawa antiinflamasi: penambatan terhadap siklooksigenase-2 secara *in silico*. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. 16: 37-44.