

**DOCKING SENYAWA HEPARIN 2S DAN 2SNS 2-12 SAKARIDA  
KONFORMASI IDS <sup>4</sup>C<sub>1</sub> PADA KOMPLEKS PROTEIN FGF2-FGFR1  
SEBAGAI ANTIKANKER MENGGUNAKAN AUTODOCK**

**SKRIPSI**

**Oleh:  
FAJRUL HARIR  
NIM. 17630068**



**PROGRAM STUDI KIMIA  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2022**

**DOCKING SENYAWA HEPARIN 2S dan 2SNS 2-12 SAKARIDA  
KONFORMASI IDS <sup>4</sup>C<sub>1</sub> PADA KOMPLEKS PROTEIN FGF2-FGFR1  
SEBAGAI ANTIKANKER MENGGUNAKAN AUTODOCK**

**SKRIPSI**

**Oleh:  
FAJRUL HARIR  
NIM. 17630068**

**Diajukan Kepada:  
Fakultas Sains dan Teknologi  
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang  
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam  
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**PROGRAM STUDI KIMIA  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2022**

**DOCKING SENYAWA HEPARIN 2S dan 2SNS 2-12 SAKARIDA  
KONFORMASI IDS  $^4C_1$  PADA KOMPLEKS PROTEIN FGF2-FGFR1  
SEBAGAI ANTIKANKER MENGGUNAKAN AUTODOCK**

**SKRIPSI**

Oleh :  
**FAJRUL HARIR**  
NIM. 17630068

**Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji**

**Malang, 17 Juni 2022**

**Pembimbing I**



**Himmatul Barroroh, M.Si**  
NIP. 19750730 200312 2 001

**Pembimbing II**



**Ahmad Hanapi, M.Sc**  
NIDT. 19851225 20160801 1 069

**Mengesahkan,  
Ketua Program Studi**



**Rachmawati Ningsih, M.Si**  
NIP. 198109011 200801 2 010

**DOCKING SENYAWA HEPARIN 2S DAN 2SNS 2-12 SAKARIDA  
KONFORMASI IDS <sup>4</sup>C<sub>1</sub> PADA KOMPLEKS PROTEIN FGF2-FGFR1  
SEBAGAI ANTIKANKER MENGGUNAKAN AUTODOCK**

**SKRIPSI**

**Oleh:  
FAJRUL HARIR  
NIM. 17630068**

**Telah Dipertahankan di Depan Penguji Skripsi  
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan  
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)  
Tanggal: 17 Juni 2022**

<b>Ketua Penguji</b>	<b>: Elok Kamilah Hayati, M.Si</b> NIP. 19790920 200604 2 2002	(.....)
<b>Anggota penguji I</b>	<b>: Lilik Miftahul Khoiroh, M.Si</b> NIP. 19831226 201903 2 008	(.....)
<b>Anggota Penguji II</b>	<b>: Himmatul Barroroh, M.Si</b> NIP. 19750730 200312 2 001	(.....)
<b>Anggota Penguji III</b>	<b>: Ahmad Hanapi, M.Sc</b> NIDT. 19851225 20160801 1 069	(.....)

**Mengesahkan,  
Ketua Program Studi**



**Rachmawati Ningsih, M.Si**  
NIP. 198109201 200801 2 010

## PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Fajrul Harir

NIM : 17630068

Jurusan : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Docking Senyawa Heparin 2S dan 2SNS 2-12 Sakarida  
Konformasi IDS  $^4C_1$  Pada Kompleks Protein FGF2-  
FGFR1 Sebagai Antikanker Menggunakan Autodock

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 17 Mei 2022

Yang membuat pernyataan,



Fajrul Harir  
NIM.17630068

## **PERSEMBAHAN**

Alhamdulillahirabbil' alamin dengan mengucapkan syukur kepada Allah Swt. saya persembahkan skripsi ini kepada:

### **Ayah dan ibukku tercinta, terbaik, tersayang, terpengertian dan terhebat**

Karya ini kupersembahkan untuk sepasang malaikatku yang setiap sujud panjangnya selalu berdo'a untuk kebikan dan kelancaranku. Orang tua yang selalu senantiasa mendengarkan keluh kesahku dengan penuh kesabaran. Mungkin lidahku terlalu kelu untuk mengucapkan terima kasih, tapi akan ku buktikan rasa terima kasihku dengan kesuksesanku suatu saat nanti, aamiin.

### **Dosen-dosen yang mengajariku, dosen wali, dosen pembimbing dan pengujiku**

Karya ini kupersembahkan kepada kalian semua yang telah banyak membimbing dan memberikan ilmu baru kepada saya, terkhusus Ibu Himmatul Barroroh, M.Si selaku dospem, bapak Ahmad Hanapi, M.Sc selaku dospem agama, Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si dan Ibu Lilik Miftahul Khoiroh, M.Si selaku penguji, yang begitu sabar membimbing, mengarahkan, dan memberikan saran dalam penyusunan dan penulisan skripsi ini. Semoga ilmu yang diberikan menjadi berkah dan bermanfaat untuk kedepannya.

### **Teman-teman dan sahabatku yang terbaik**

Karya ini kupersembahkan kepada kalian yang senantiasa memberikan bantuan, dukungan, semangat, dan saran-saran untuk terus berjuang dalam penulisan skripsi ini. yang dapat memberikan motivasi dan selalu kurepotin dengan pertanyaan-pertanyaan. Mbak Nilna sebagai pendulu di bidang komputasi dari awal mengajarkan mengenai aplikasi komputasi.

## MOTTO

### Q.S Ar-Ra'ad: 11

لَهُ مُعَقِّبَاتٌ مِّنْ بَيْنِ يَدَيْهِ وَمِنْ خَلْفِهِ يَحْفَظُونَهُ مِنْ أَمْرِ اللَّهِ إِنَّ اللَّهَ لَا يُعَيِّرُ مَا بِقَوْمٍ حَتَّىٰ يُعَيِّرُوا مَا بِأَنفُسِهِمْ وَإِذَا أَرَادَ اللَّهُ بِقَوْمٍ سُوءًا فَلَا مَرَدَّ لَهُ وَمَا لَهُمْ مِنْ دُونِهِ مِنْ وَالٍ

*Baginya (manusia) ada malaikat-malaikat yang selalu menjaganya bergiliran, dari depan dan belakangnya. Mereka menjaganya atas perintah Allah. Sesungguhnya Allah tidak akan mengubah keadaan suatu kaum sebelum mereka mengubah keadaan diri mereka sendiri. Dan apabila Allah menghendaki keburukan terhadap suatu kaum, maka tak ada yang dapat menolaknya dan tidak ada pelindung bagi mereka selain Dia.*

“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai kesanggupannya”.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penyusun panjatkan kehadirat Allah SWT Yang Maha Pengasih dan Yang Maha Penyayang, atas limpah rahmat, taufiq, dan hidayah-Nya penyusun dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Docking Senyawa Heparin 2S dan 2SNS 2-12 Sakarida Konformasi IDS <sup>4</sup>C<sub>1</sub> Pada Kompleks Protein FGF2-FGFR1 Sebagai Antikanker Menggunakan Autodock”** dengan baik.

Sholawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW yang telah membimbing kita ke jalan yang di ridhai Allah SWT. Skripsi merupakan salah satu tugas akhir studi yang harus ditempuh sebagai syarat menyelesaikan program S1 (Strata-1) di Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Penyusunan skripsi ini tidak luput dari bantuan, bimbingan, nasehat dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penyusun mengucapkan terima kasih kepada:

1. Allah SWT atas limpahan rahmat taufik serta hidayah-nya sehingga penyusun dapat menyelesaikan Skripsi dengan baik.
2. Orang tua penyusun yang telah banyak memberikan perhatian, nasihat, doa, dan dukungan baik moril maupun materil yang tak mungkin terbalaskan, serta keluarga besar penyusun.
3. Bapak Prof. Dr. M. Zainuddin, MA selaku Rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
5. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
6. Ibu Himmatul Barroroh, M.Si selaku dosen pembimbing skripsi yang telah memberikan bimbingan, pengarahan dan nasehat kepada penyusun dalam menyelesaikan laporan dengan baik.

7. Bapak Ahmad Hanapi, M.Sc selaku dosen agama yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, dan nasehat kepada penyusun dalam menyelesaikan laporan.
8. Seluruh dosen Kimia UIN Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah mengalirkan ilmu, pengetahuan, wacana, dan wawasannya sebagai pedoman dan bekal bagi penyusun guna menyelesaikan laporan. Teriring doa dan harapan semoga apa yang telah mereka berikan kepada penyusun mendapatkan balasan yang baik dari Allah SWT. Aamiin.
9. Semua pihak yang secara langsung maupun tidak langsung telah ikut memberikan kontribusi dan motivasi selama penyusunan skripsi.

Dengan menyadari atas terbatasnya ilmu yang penyusun miliki skripsi ini tentu jauh dari kesempurnaan, untuk itu penyusun dengan senang hati mengharapkan kritik dan saran untuk perbaikan dalam penyusunan dengan senang hati mengharapkan kritik dan saran untuk perbaikan dalam penyusunan selanjutnya. Terlepas dari segala kekurangan semoga skripsi ini dapat memberikan informasi dan kontribusi positif serta bermanfaat bagi kita semua. Aamiin.

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PERSETUJUAN .....	ii
HALAMAN PENGESAHAN .....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN .....	iv
PERSEMBAHAN.....	v
MOTTO .....	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR TABEL .....	x
DAFTAR PERSAMAAN.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN .....	xii
DAFTAR ISTILAH .....	xiii
ABSTRAK .....	xiv
ABSTRACT .....	xv
مستخلص البحث.....	xvi
<b>BAB I. PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	5
1.3 Tujuan .....	6
1.4 Manfaat .....	6
1.5 Batasan Masalah.....	7
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Kanker .....	8
2.2 Reseptor FGF2-FGFR1 .....	11
2.3 Pengertian Heparin.....	15
2.3.1 Struktur Heparin.....	16
2.4 Konformasi <sup>4</sup> C <sub>1</sub> .....	19
2.5 Protein dan Asam Amino .....	23
2.6 Penambatan Molekul atau <i>Molecular Docking</i> .....	26
2.7 Database.....	43
2.7.1 Protein Data Bank (PDB).....	43
2.7.2 PubChem.....	43
2.7.3 PASS Online .....	44
2.7.4 SwissADME.....	45
2.8 Perangkat Lunak.....	46
2.8.1 Autodock.....	46
2.8.2 UCSF CHIMERA .....	47
2.8.3 Discovery Studio Visualization .....	47

2.8.4 YASARA .....	48
<b>BAB III. METODOLOGI</b>	
3.1 Pelaksanaan Penelitian .....	49
3.2 Alat dan Bahan .....	49
3.2.1 Alat .....	49
3.2.2 Bahan.....	50
3.3 Rancangan Penelitian .....	50
3.4 Tahapan Penelitian .....	51
3.5 Prosedur Penelitian.....	52
3.5.1 Preparasi Ligan .....	52
3.5.2 Preparasi Protein Reseptor .....	52
3.5.3 Penambatan Molekuler ( <i>Molecular Docking</i> ).....	52
3.5.4 Uji Kemiripan Obat dengan SwissADME .....	54
3.5.5 Prediksi Aktivitas Anticancer Menggunakan PASS Online .....	55
3.5.6 Visualisasi Hasil Docking .....	56
3.5.7 Optimasi Molekul Docking.....	56
3.5.8 Analisis Data .....	57
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1 Persiapan Makromolekul FGF2-FGFR1 .....	58
4.1.1 Pengunduhan Makromolekul .....	58
4.1.2 Pemisahan Rantai FGF2-FGFR1.....	58
4.1.3 Preparasi Makromolekul FGFR1-FGF2.....	59
4.2 Preparasi Ligan Heparin.....	61
4.3 Penambatan Molekuler ( <i>Molecular Docking</i> ).....	64
4.4 Redocking Heparin Natif.....	66
4.5 Visualisasi Interaksi <i>Molecular Docking</i> .....	67
4.6 Analisis Energi Binding dan $K_i$ .....	87
4.7 Optimasi Molekul Docking .....	90
4.8 Prediksi ADME menggunakan web SwissADME.....	95
4.9 Uji Aktivitas Biologi Senyawa Heparin dengan PassOnline .....	98
4.10 Heparin Senyawa Antikanker dalam Perspektif Islam.....	100
<b>BAB V PENUTUP</b>	
5.1 Kesimpulan.....	103
5.2 Saran.....	104
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>105</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>111</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Skema pertumbuhan pembelahan sel .....	9
Gambar 2.2	Struktur kristal protein FGF2-FGFR1 .....	12
Gambar 2.3	Struktur senyawa heparin .....	17
Gambar 2.4	Keluarga GAG .....	18
Gambar 2.5	Struktur terkait dengan konformasi residu IdoA2S .....	22
Gambar 2.6	Struktur rantai heparin dengan konformasi asam iduronat ${}^1C_4$ , ${}^2S_0$ , dan ${}^4C_1$ .....	23
Gambar 2.7	Hubungan struktural antara asam amino, peptide dan protein .....	24
Gambar 2.8	Nonpolar, kelompok <i>R</i> alifatik .....	25
Gambar 2.9	Polar, kelompok <i>R</i> tidak bermuatan .....	25
Gambar 2.10	Kelompok <i>R</i> aromatik .....	25
Gambar 2.11	Kelompok <i>R</i> bermuatan positif .....	26
Gambar 2.12	Kelompok <i>R</i> bermuatan negatif .....	26
Gambar 2.13	Ilustrasi proses penambatan ligan pada protein .....	32
Gambar 2.14	Interaksi <i>Unfavorable</i> .....	34
Gambar 2.15	Ikatan Hidrogen antarmolekul dengan asam amino .....	35
Gambar 2.16	Ikatan Hidrogen antara (a) molekul dengan asam amino, (b) antar asam amino .....	35
Gambar 2.17	Interaksi Salt-Bridge .....	36
Gambar 2.18	Ikatan Hidrogen karbon .....	36
Gambar 2.19	Ikatan Hidrogen $\pi$ -donor .....	37
Gambar 2.20	Interaksi muatan tarik-menarik .....	37
Gambar 2.21	Interaksi $\pi$ -anion dan $\pi$ -kation .....	38
Gambar 2.22	Interaksi $\pi$ - $\pi$ Tumpuk .....	39
Gambar 2.23	Interaksi $\pi$ - $\pi$ Bentuk T .....	39
Gambar 2.24	Interaksi $\pi$ -amida Tumpuk .....	40
Gambar 2.25	Interaksi $\pi$ - $\sigma$ .....	40
Gambar 2.26	Interaksi $\pi$ -alkil .....	41
Gambar 2.27	Interaksi Halogen .....	41
Gambar 2.28	Interaksi logam-akseptor antara alizarin dengan lapisan Ag .....	42
Gambar 2.29	Interaksi $\pi$ -sulfur .....	42
Gambar 2.30	Close Contact (a) 4EM1 (b) 4AJA .....	43
Gambar 3.1	FGF2:FGFR1:heparin terner kompleks .....	54
Gambar 4.1	(a) FGF2-FGFR1 terikat ligan (b) FGF2-FGFR1 .....	59
Gambar 4.2	Molekul FGF2-FGFR1 setelah preparasi .....	61
Gambar 4.3	(a) Heparin Konformasi ${}^1C_4$ (b) Heparin konformasi ${}^2S_0$ (c) Heparin konformasi ${}^4C_1$ .....	62
Gambar 4.4	Visualisasi interaksi heparin 8 sakarida natif pada DSV .....	71
Gambar 4.5	Visualisasi interaksi 5 sakarida ${}^2S_0$ pada DSV .....	82
Gambar 4.6	Visualisasi interaksi 5 sakarida ${}^2S$ pada DSV .....	86
Gambar 4.7	Visualisasi ligan dalam situs aktif dengan Program PyMOL .....	87

Gambar 4.8 Superimpose molekul Menggunakan Program Chimera .....	92
Gambar 4.9 Visualisasi sequence molekul asli dan molekul optimasi menggunakan Program DSV (Discovery Video Visualizer) .....	93
Gambar 4.10 Visualisasi heparin tumpang tindih antara 1FQ9 (ungu) dan a) C1K1 (merah muda) b) C2K1 (birumuda).....	94
Gambar 4.11 Visualisasi heparin tumpang tindih antara 1FQ9 (putih) dan a) C1K1 b) C2K1 (ungu) menggunakan Program PyMOL .....	95

## DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Parameter Uji Fisikokimia .....	56
Tabel 4.1 Struktur FGFR1-FGF2.....	58
Tabel 4.2 Hasil file DLG heparin 8 sakarida natif .....	67
Tabel 4.3 Interaksi heparin 5 sakarida natif dan FGFR1-FGF2.....	68
Tabel 4.4 Interaksi heparin sulfasi 2S dan 2SNS 2-12 sakarida .....	72
Tabel 4.5 Hasil energi <i>binding</i> heparin sulfasi 2S dan 2SNS.....	87
Tabel 4.6 Nilai konstanta inhibisi heparin sulfasi 2S dan 2SNS.....	90
Tabel 4.7 Energi heparin 5 sakarida 2SNS dan 2S dengan Yasara.....	91
Tabel 4.8 Nilai Pa (Probable activity) dan Pi (Probable inactivity).....	99

## DAFTAR PERSAMAAN

Persamaan 2.1 Perhitungan nilai $\Delta G$ .....	30
Persamaan 2.2 Entropi Torsional .....	31
Persamaan 4.1 Nilai Konstanta Inhibisi .....	89

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian .....	107
Lampiran 2. Diagram Alir.....	108
Lampiran 3. Manual <i>Docking</i> .....	111
Lampiran 4. File <i>autodock</i> heparin 8 sakarida 2SNS dan FGFR1-FGF2.....	115
Lampiran 5. Energi <i>binding</i> 10 kluster terendah heparin 2-12 sakarida 2S dan 2SNS.....	119
Lampiran 6. Visualisasi interaksi heparin 2S dan 2SNS oleh FGFR1-FG2 .....	112
Lampiran 7. Visualisasi molekul <i>docking</i> 8 sakarida sebelum dan setelah optimasi YASARA .....	124
Lampiran 8 Hasil Prediksi Sifat Fisikokimia.....	125

## DAFTAR SINGKATAN

Simbol/Singkat	Keterangan
AMBER	Assisted Model Building with Energy Refinement
AT	antithrombin
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
DSV	Discovery Video Visualizer
FGF	Fibroblast Growth Factor
FGFR	Fibroblast Growth Factor Receptor
GA	Genetic Algorithm
GAG	Glikosaminoglikan
GIG	Glukosamina-Iduronat-Glukosamina
GlcA	D-asam glukuronat
GlcN	D-glukosamin
GLG	grid log
GPF	grid parameter file
IdoA	asam iduronat
IGI	Iduronat-Glukosamin-Iduronat
Ki	konstanta inhibisi
LGA	Lamarckian GA
LS	Local Search
PDB	Protein Data Bank
RMSD	Root Mean Square Deviation
2S	2-O-sulfat
2SNS	2-O-sulfat dan N-sulfat

## ABSTRAK

Harir, Fajrul. 2022. Docking Senyawa Heparin 2S & 2SNS 2-12 Sakarida Konformasi IDS 4C1 Pada Kompleks Protein FGF2-FGFR1 Sebagai Antikanker Menggunakan AutoDock. Laporan Penelitian. Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing: Himmatul Barroroh, M.Si, Ahmad Hanapi, M.Sc.

---

**Kata Kunci:** Heparin, FGF2-FGFR1, Docking, Autodock, YASARA

Berdasar data uji klinis tampaknya heparin berpotensi sebagai antikanker. Heparin merupakan oligosakarida yang terdiri atas unit berulang glukosamin dan asam iduronat. Heparin dapat memiliki variasi panjang unit berulang dan gugus sulfo yang terikat pada posisi yang berbeda-beda. Asam iduronat pada heparin secara alami dapat berada dalam konformasi 2S0, 1C4 atau 4C1. Dalam penelitian ini akan dipelajari potensi dan interaksi oligosakarida heparin 2S dan 2SNS dengan konformasi iduronat 4C1 dengan variasi panjang oligomer 2-12 sakarida sebagai antikanker secara *in silico*. Metode yang digunakan pada screening lead obat ini adalah dengan docking molekuler. Proses penambatan dilakukan dengan Autodock 4.2 dengan medan gaya default. Reseptor pengendali terkait aktivitas antikanker yang digunakan adalah kompleks FGF2-FGFR1. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui struktur preferensial kompleks ligan-reseptor, interaksi dan potensi dari variasi panjang heparin tersebut sebagai antikanker, uji sifat fisikokimia dengan empat parameter ADME. Prediksi sifat fisikokimia mengacu pada Hukum Lima Lipinski. Uji prediksi aktivitas senyawa heparin dalam mencegah atau menghambat pertumbuhan dan penyebaran (anti neoplastik) pada kanker dengan PassOnline. Kestabilan struktur kompleks hasil docking diuji kembali dengan melakukan optimasi struktur hasil docking pada YASARA menggunakan medan gaya NOVA AMBER. Berdasarkan hasil docking, diketahui energi binding ( $\Delta G$ ) pada heparin 2SNS 3-7 sakarida memiliki energi yang rendah yaitu -16.19, -15.83, -17.02, -16.66, -15.64 kkal/mol berturut-turut, dengan yang terendah adalah heparin 5 sakarida. Heparin 5 sakarida 2S memiliki energi terendah sebesar -10.42 kkal/mol. Interaksi asam amino yang mempengaruhi aktivitas heparin pada FGFR1-FGF2 yaitu Lys 26, Lys 135, Lys 160, Lys 163, Lys 172, Lys 175, Lys 177, Lys 207, Asn 27, Lys 125, Lys 119, Arg 120, Thr 173. Optimasi kembali struktur kompleks hasil docking dari heparin 2SNS 5 sakarida menghasilkan energi yang lebih stabil yaitu pada kluster 2 sebesar -14529,52 KJ/mol dan kluster 1 sebesar -14692,27 kJ/mol. Kemiripan pose kompleks ligan-reseptor dapat dilihat melalui nilai RMSD kluster pertama sebesar 1,697471 Å terhadap ligan natif. Hasil prediksi sifat fisikokimia menunjukkan bahwa senyawa heparin 2S dengan panjang 2 sakarida memenuhi Hukum Lima Lipinski sedangkan 2 sakarida 2SNS, 3 sakarida 2S, 3 sakarida 2SNS, dan 4 sakarida 2SNS tidak, sementara sakarida yang lebih panjang tidak dapat diprediksi. Hasil prediksi aktivitas biologi menunjukkan bahwa senyawa heparin 2 sakarida 2S, 2 sakarida 2SNS, 3 sakarida 2S, 3 sakarida 2SNS, 4 sakarida 2S, 4 sakarida 2SNS, 5 sakarida 2S, dan 5 sakarida 2SNS memiliki nilai Pa lebih dari 0,7 ( $P_a > 0,7$ ). Sedangkan pada heparin 6S memiliki nilai Pa dalam rentang  $0,5 < P_a < 0,7$ .

## ABSTRACT

Harir, Fajrul. 2022. **Docking of Heparin Compounds 2S & 2SNS 2-12 saccharide IDS <sup>4</sup>C<sub>1</sub> conformation on the FGF2-FGFR1 protein complex as an anticancer using AutoDock.** Research Report. Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Maulana Malik Ibrahim State Islamic University of Malang. Supervisor: Himmatul Barroroh, M.Si, Ahmad Hanapi, M.Sc.

---

**Keywords:** Heparin, FGF2-FGFR1, Docking, Autodock, YASARA

Based on clinical trial data, it seems that heparin has potential as an anticancer. Heparin is an oligosaccharide consisting of repeating units of glucosamine and iduronic acid. Heparin can have varying lengths of repeating units and sulfo groups attached to different positions. The iduronic acid in heparin can naturally be in the 2S0, 1C4 or 4C1 conformation. In this study, the potential and interaction of 2S and 2SNS heparin oligosaccharides with the iduronic conformation 4C1 with variations in length of 2-12 saccharide oligomers as anticancer in silico will be studied. The method used in this drug lead screening is molecular docking. The tethering process is done with Autodock 4.2 with the default force field. The controlling receptor related to anticancer activity used is the FGF2-FGFR1 complex. This study aims to determine the preferential structure of the ligand-receptor complex, the interaction and the potential of the heparin length variation as an anticancer, physicochemical properties test with four ADME parameters. Prediction of physicochemical properties refers to Lipinski's Five Laws. Predictive test of heparin activity in preventing or inhibiting growth and spread (anti-neoplastic) in cancer with PassOnline. The stability of the docked complex structure was tested again by optimizing the docked structure on YASARA using the NOVA AMBER force field. Based on the docking results, it is known that the binding energy ( $\Delta G$ ) of heparin 2SNS 3-7 saccharides has low energy, namely -16.19, -15.83, -17.02, -16.66, -15.64 kcal/mol, respectively, with the lowest being heparin 5 saccharides. . Heparin 5 saccharide 2S has the lowest energy of -10.42 kcal/mol. Amino acid interactions that affect heparin activity on FGFR1-FGF2 are Lys 26, Lys 135, Lys 160, Lys 163, Lys 172, Lys 175, Lys 177, Lys 207, Asn 27, Lys 125, Lys 119, Arg 120, Thr 173 The re-optimization of the complex structure resulting from the docking of heparin 2SNS 5 saccharides resulted in more stable energy, namely in cluster 2 of -14529,52 KJ/mol and cluster 1 of -14692,27 kJ/mol. The similarity of the pose of the ligand-receptor complex can be seen through the RMSD value of the first cluster of 1.697471 against the native ligand. Prediction results of physicochemical properties showed that 2S heparin compounds with a length of 2 saccharides complied with Lipinski's Five Laws while 2 saccharides 2SNS, 3 saccharides 2S, 3 saccharides 2SNS, and 4 saccharides 2SNS did not, while longer saccharides could not be predicted. Prediction results of biological activity showed that heparin compounds 2 2S saccharides, 2 2SNS saccharides, 3 2S saccharides, 3 2SNS saccharides, 4 2S saccharides, 4 2SNS saccharides, 5 2S saccharides, and 5 2SNS saccharides had a Pa value of more than 0.7 (Pa). >0.7). Meanwhile, heparin 6S has a Pa value in the range of 0.5<Pa<0.7.

## مستخلص البحث

حرير ، فجرول. 2022. إرساء مركبات الهيبارين 2-12mer 2 SNS & S مطابقة IDS 4C1 على مركب البروتين FGF2-FGFR1 كمضاد للسرطان باستخدام AutoDock. تقرير البحث. قسم الكيمياء بكلية العلوم والتكنولوجيا مولانا مالك إبراهيم الدولة الإسلامية جامعة مالانج. المشرف: حمول برووه ، ماجستير ، أحمد حنابي ، ماجستير

**الكلمات المفتاحية:** YASARA ، Autodock ، Docking ، FGF2-FGFR1 ، Heparin

يمكن أن يلعب الهيبارين دورًا مهمًا في عالم الصحة كمضاد للتخثر ومضاد للالتهابات ومضاد للسرطان. يتكون الهيبارين من تكرار ثنائي السكريد الأيدورونيك (2 S0 ، C41 أو C14). الطريقة التي تُستخدم غالبًا في تحديد المواد المرشحة كأدوية هي عن طريق الالتحام الجزيئي. تهدف هذه الدراسة إلى تحديد البنية التفضيلية بعد ارتباط اللجند والمستقبلات ، وتفاعل اختلاف طول الهيبارين في IDS 4C1 ، واختبار الخصائص الفيزيائية والكيميائية بأربعة متغيرات ADME وكذلك اختبار التنبؤ بنشاط مركبات الهيبارين في منع أو تثبيط النمو والانتشار (مضاد الأورام) في السرطان مع PassOnline. وتغيرات الطاقة بعد إعادة التحسين في YASARA بواسطة الهيبارين C1 2-12 saccharides 2S4 و SNS2 مع جزيئات FGF2-FGFR1. يشير توقع الخصائص الفيزيائية والكيميائية إلى قوانين ليبينسكي الخمسة على موقع SwissADME الإلكتروني. يتم تنفيذ عملية الإرساء باستخدام تطبيق Autodock 4.2 ، ثم يتم تصور التفاعل على تطبيق Discovery Studio Visualizer (DSV) والتحقق من صحة جزيء الإرساء باستخدام YASARA. بناءً على نتائج البحث ، من المعروف أن طاقة الربط ( $\Delta G$ ) الموجودة في الهيبارين 3-8 saccharide 2SNS لها أقل طاقة ، وهي -16.19 ، -15.83 ، -17.02 ، -16.66 ، -15.64 كيلو كالوري / مول وهيبارين 5 سكاريد S2 لديه أقل طاقة تبلغ -10.42 كيلو كالوري / مول. بالإضافة إلى الطاقة ، التفاعلات التي تؤثر على مرشحات الهيبارين في نشاط FGF2-FGFR1 هي Lys 26 ، Lys 135 ، Lys 160 ، Lys 163 ، Lys 172 ، Lys 175 ، Lys 177 ، Lys 207 ، Asn 27 ، Lys 125 ، Lys 119 ، Arg 120 ، Thr 173. نتج عن إعادة التحسين طاقة أكثر استقرارًا على الهيبارين 5 saccharide 2SNS المجموعة 1: والمجموعة 2: من -17593.199 - 17552927. يمكن رؤية دقة الجزيء من خلال محاكاة RMSD على مجموعة الهيبارين 8 saccharide 2SNS الأولى من 1.697471. وفي الوقت نفسه ، أظهر التنبؤ بالخصائص الفيزيائية والكيميائية أن مركب الهيبارين S2 يتوافق مع قوانين ليبينسكي الخمسة ، بينما SNS2 و S3 و SNS3 و SNS4 لا. وفي الوقت نفسه ، أظهر التنبؤ بالنشاط البيولوجي أن مركبات الهيبارين S2 و SNS2 و S3 و SNS3 و S4 و SNS4 و S5 لها قيمة Pa أكثر من 0.7 ( $Pa > 0.7$ ). وفي الوقت نفسه ، يحتوي الهيبارين S6 على قيمة Pa في حدود  $0.5 < Pa < 0.7$ .

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Kanker merupakan pemicu utama kematian di seluruh dunia, terhitung kurang lebih 13% dari semua kematian, dengan angka kematian yang terus meningkat. Terapi kanker merupakan salah satu segmen dengan pertumbuhan tercepat pada industri farmasi, yang sedang mengalami perubahan besar dari kemoterapi dan radioterapi konvensional ke agen spesifik yang ditujukan untuk menargetkan kelainan yang spesifik pada sel kanker. Di antaranya adalah disregulasi kaskade faktor pertumbuhan yang sangat penting (Ling et al., 2015).

Dalam hal ini heparin dapat memberikan pengaruh yang sangat penting terhadap dunia kesehatan baik secara individual maupun kolektif. Pada tahun 1916, puncak ditemukannya heparin dari ekstrak hati, dan selanjutnya penemuan makin berkembang yaitu dari ekstrak paru sapi atau mukosa usus babi (Mulyadi and Soemarsono, 2007). Heparin adalah polisakarida alami milik keluarga glikosaminoglikan (GAG). GAG memiliki keragaman sifat biologis yang terlihat dari strukturalnya. Fakta bahwa struktur GAG lebih kompleks daripada DNA, strukturnya terdiri dari unit berulang heksosamina dan asam uronat (Guerrini et al., 2007). Pemahaman mengenai penyebab kanker telah berkembang didukung oleh kemajuan pesat di bidang biologi molekuler. Berbagai metode dalam biomolekuler dapat dihasilkan mekanisme yang mengatur kehidupan sel normal, sekaligus berbagai jenis kerusakan dan efeknya terhadap pertumbuhan dan perkembangan sel menjadi ganas hingga mematikan (Haryono et al., 2018).

Biologi komputasi dan bioinformatika memiliki potensi terhadap proses penemuan obat yang aman dan lebih efisien. Proses perancangan obat melibatkan metode molekuler docking (Baskaran and Ramachandran, 2012). Molekul docking adalah suatu metode yang paling sering digunakan untuk mendesain obat berbasis struktur. Metode ini memiliki kemampuan untuk memprediksi struktur yang akurat terhadap konformasi ligan molekul kecil di dalam pengikatan target yang sesuai (Ferreira et al., 2015). Hasil ini juga dapat untuk memprediksikan kekuatan hubungan atau afinitas antara dua molekul yang digunakan. Hubungan antara molekul biologis yang relevan seperti protein memiliki peran penting dalam transduksi sinyal. Sehingga, dari dua pasangan yang berinteraksi dapat mempengaruhi sinyal yang dihasilkan (Yanuar, 2012).

Program docking molekuler dalam melakukan tugasnya melalui siklus, di mana konformasi ligan dievaluasi oleh fungsi penilaian tertentu. Proses ini dilakukan secara rekursif sampai konvergen ke solusi energi minimum (Ferreira et al., 2015). Komputer penting untuk mendocking molekul kecil dengan struktur target yang penting dalam proses penemuan obat, seperti halnya pada heparin dan FGFR1-FGF2. Aplikasi yang mendukung metode ini yaitu Autodock. Berdasarkan penelitian Ricard-Blum, et al. (2004) Autodock dengan parameter Genetic Algorithm dan Lamarckian GA dapat digunakan untuk karakterisasi pengikatan endostatin ke heparin/heparan sulfat oleh resonansi plasmon permukaan. Babik, et al. (2017) Autodock digunakan untuk mengetahui interaksi antara FGF1 dengan heparin 5-mer. Bitomsky and Wade, (1999) meneliti heparin dengan FGF2 menggunakan Autodock. Hasilnya heparin dapat tertambat pada FGF2 dengan grid 50 Å dan jarak 0.5 Å. Heparin akan berikatan dengan sejumlah

protein dengan variasi strukturalnya serta fleksibilitas konformasi yang dimilikinya. Pada penelitian NMR menunjukkan bahwa IdoA2S lebih menyukai konformasi  ${}^2S_0$  dan  ${}^1C_4$ , sedangkan glukosamin sulfat pada posisi N dan O (GlcNS6S) lebih menyukai konformasi  ${}^4C_1$  (Ferro et al., 1990).

Penelitian yang dilakukan Cole, dkk. (2010) bahwa ligan heparin mempunyai komposisi oligosakarida 7-12 sakarida 2-O-sulfat iduronat (2S) atau 2-O-sulfat iduronat dan glukosamina N-sulfat (2SNS). Dimana pada komposisi ini dapat memicu pengikatan FGF2 dengan heparin. Pada oligosakarida 7-8 sakarida 2S tidak ada pengaruh terhadap penghambatan sel endotel. Adanya pengurangan pengikatan sebesar 75% pada heparin 2S 12 sakarida untuk menghambat pengikatan FGF2 dengan heparin. Sementara itu, pada oligosakarida 2SNS mengalami penurunan hambatan dari sakarida 7-9 masing-masing sebesar 46%, 30%, dan 40% dan 2SNS 12 sakarida memiliki hambatan paling kuat yaitu lebih dari 90%.

Sebagaimana firman Allah SWT yang telah dijelaskan tentang apa yang menggambarkan perumpamaan metode penambatan molekul atau *molecular docking* yang digunakan pada penelitian ini yaitu QS. Yasin (36) ayat 36:

سُبْحٰنَ الَّذِيْ خَلَقَ الْاَزْوَاجَ كُلَّهَا مِمَّا تُنْبِتُ الْاَرْضُ وَمِنْ اَنْفُسِهِمْ وَمِمَّا لَا يَعْلَمُوْنَ

Artinya: “Maha Suci Tuhan yang telah menciptakan pasangan-pasangan semuanya, baik dari apa yang ditumbuhkan oleh bumi dan dari diri mereka maupun dari apa yang tidak mereka ketahui”

Berdasarkan ayat tersebut, kata (الْاَزْوَاجُ) atau *al-ajwaj* memiliki arti berpasang-pasangan yang dalam penelitian ini digambarkan ketika melakukan proses penambatan atau *docking* terjadi proses mencari posisi ataupun letak yang

cocok untuk ligan saat berikatan dengan sebuah makromolekul protein. Selanjutnya kata (مِمَّا تُنْبِتُ الْأَرْضُ) atau *mimma tumbitul ardhi* memiliki arti ‘dari apa yang ditumbuhkan di bumi’ yang dalam penelitian ini dicontohkan dengan senyawa-senyawa aktif seperti heparin yang diteliti dan diketahui memiliki aktivitas biologis sebagai antikanker. Selanjutnya yaitu kata ( وَمِنْ أَنْفُسِهِمْ ) atau *wamin anfusihim* yang artinya ‘dari diri mereka sendiri’ yang dalam penelitian ini menggambarkan pemilihan reseptor fgf2-fgfr1 yang ada di dalam tubuh manusia dan kata ( وَمِمَّا لَا يَعْلَمُونَ ) atau *wamimmaa laa ya'lamuun* yang memiliki arti ‘dari apa yang mereka tidak ketahui’ yang mana proses yang terjadi di dalam sel tubuh tidak dapat diketahui secara langsung oleh manusia. Berdasarkan ayat tersebut diketahui betapa besarnya kuasa Allah SWT yang dapat dipasang-pasangkan segala sesuatu yang ada di bumi hingga terjadinya proses biologis yang sangat kompleks di dalam tubuh. Sesungguhnya hal-hal tersebut merupakan suatu pembuktian bahwa Allah SWT maha kuasa atas segala penciptaan-Nya.

Proses penambatan molekul pada penelitian ini menggunakan program AutoDock. Prinsip dari program AutoDock adalah mengevaluasi dari energi bebas, torsional bebas dari konformasi ikatan yang terbentuk antara enzim dan ligan berdasarkan *energy force-field* pada algoritma, serta kekuatan kompleks ligan-protein yang terbentuk secara kuantitatif dengan melihat nilai tetapan inhibisi. Nilai skor *docking* yang semakin negatif dan kecil menunjukkan konformasi yang terbentuk antara ligan dan enzim semakin stabil (Idrees et al., 2014).

Visualisasi molekul dilakukan untuk mengetahui interaksi antara ligan dan protein. Interaksi yang sering terjadi pada ligan-protein berupa ikatan hidrogen,

interaksi hidrofobik, dan gaya van der Waals (Wang, 2017). Visualisasi molekul menggunakan perangkat lunak Autodock dan Discovery Studio Client. Berdasarkan hal itu Meidinna and Fatchiyah, (2019) melakukan visualisasi pada 4 acarbose, asam rosmarinic, dan sinensetin terhadap  $\alpha$ -amilase. Visualisasi ini menghasilkan beberapa interaksi, interaksi antara acarbose dengan  $\alpha$ -amilase yaitu ikatan hidrogen, interaksi antara asam rosmarinic dengan  $\alpha$ -amilase yaitu ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, dan interaksi pi-pi, interaksi antara sinensetin dengan  $\alpha$ -amilase yaitu ikatan hidrogen.

Berdasarkan pemaparan di atas, maka dalam penelitian ini bertujuan menentukan potensi dari heparin sebagai inhibitor FGF2-FGFR1 secara *in silico* berdasarkan pada energi bebas Gibbs ( $\Delta G$ ), tetapan inhibisi, interaksi ikatan hidrogen antara protein dan ligan. *Docking* ini dilakukan pada ligan heparin terhadap reseptor FGF2-FGFR1 sehingga memungkinkan dapat digunakan untuk obat kanker.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

1. Bagaimana struktur preferensial ketika kompleks reseptor FGF2-FGFR1 berikatan dengan ligan heparin 2-12 sakarida 2S & 2SNS konformasi IDS  ${}^4C_1$ ?
2. Bagaimana energi interaksi yang diperoleh dalam hasil *docking*?
3. Bagaimana pengaruh variasi panjang heparin 2-12 sakarida 2S & 2SNS terhadap struktur aktif FGF2-FGFR1?

4. Bagaimana prediksi aktivitas antikanker dari senyawa heparin menggunakan PASS Online serta fase farmakokinetik saat senyawa aktif heparin masuk ke dalam tubuh menggunakan SwissADME?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan sebagai berikut :

1. Untuk mengetahui struktur preferensial ketika kompleks reseptor FGF2-FGFR1 berikatan dengan ligan heparin 2-12 sakarida 2S & 2SNS konformasi IDS <sup>4</sup>C<sub>1</sub>.
2. Untuk mengetahui energi interaksi yang diperoleh dalam hasil docking.
3. Untuk mengetahui pengaruh variasi panjang heparin 2-12 sakarida 2S & 2SNS terhadap struktur aktif FGF2-FGFR1.
4. Untuk mengetahui prediksi aktivitas antikanker dari senyawa heparin menggunakan PASS Online serta fase farmakokinetik saat senyawa aktif heparin masuk ke dalam tubuh menggunakan SwissADME.

### 1.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dalam penelitian ini sebagai berikut.

1. Memberikan informasi mengenai hasil penambatan (dengan *rigid* protein) heparin 2-12 sakarida 2S dan 2SNS pada kompleks reseptor FGF2-FGFR1
2. Memberikan informasi mengenai perhitungan lanjutan dengan menggunakan simulasi dinamika molekuler untuk memperbaiki kelemahan-kelemahan pada hasil docking.

3. Memberikan informasi dalam dunia kesehatan khususnya di bidang pengobatan kanker terkait target pengobatan yang lebih efektif dan aman.

### **1.5 Batasan Masalah**

Adapun masalah yang dibatasi dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Menggunakan protein FGF2-FGF1 dari protein data bank di *Research Collaboratory for Structural Bioinformatic* (RSCB)
2. Model potensial yang digunakan menggunakan potensial Lennard-Jones dan bentuk topologi kubik sederhana
3. Heparin 2-12 sakarida 2S dan 2SNS dengan konformasi iduronat  ${}^4C_1$
4. (*Operating System*) Linux Mint Sonya 64 bit Cinnamon Processor 1.6 GHz dan RAM 4GB
5. Aplikasi yang digunakan adalah Autodock4, Discovery Studio, Pass Online, Swiss ADME. Aplikasi database yang digunakan adalah Pubchem dan PDB RSCB

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

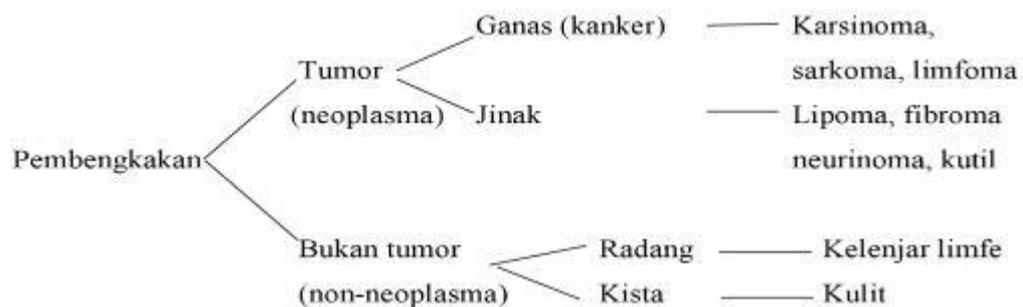
#### **2.1 Kanker**

Kanker merupakan suatu penyakit sel dengan ciri gangguan atau kegagalan mekanisme pengatur multiplikasi dan fungsi homeostasis pada organisme multiseluler. Adapun sifat kanker secara umum adalah pertumbuhan sel yang berlebihan (umumnya berbentuk tumor), gangguan diferensiasi sel dan jaringan, serta bersifat invasif yaitu mampu tumbuh di jaringan sekitarnya (setiabudy dkk., 2001).

Terutama pada sel normal, siklus sel akan dikontrol oleh kontribusi berbagai gen yang memberi respon ke tanda pepadatan sel, cedera jaringan, dan kebutuhan yang digunakan untuk tumbuh. Umumnya, sel menjalani siklusnya jika distimulasi oleh faktor hormon dan pertumbuhan yang disekresi oleh sel-sel yang berjauhan, oleh faktor pertumbuhan yang diproduksi secara lokal, dan oleh isyarat kimia yang dilepaskan dari sel sekitarnya, termasuk sitokinin yang dihasilkan oleh sel imun dan sel radang. Adapun syarat eksternal akan bertindak mengikat reseptor spesifik yang ada di membran plasma sel target. Setelah terikat, maka kompleks reseptor akan mengaktifkan sistem penghantar kedua (*second messenger system*), yang mengirimkan sinyal pertumbuhan ke inti sel. Ketika sinyal mencapai inti sel, maka protein tertentu yang berada di inti sel, yang disebut faktor transkripsi, mengaktifkan atau menginaktifkan gen khusus yang pada akhirnya menghasilkan protein yang mengontrol poliferasi sel (Corwin, 2008).

Kanker merupakan pertumbuhan sel yang tidak terkontrol diikuti dengan proses invasi ke jaringan sekitar dan penyebaran (metastasis) ke bagian tubuh

yang lain. Kanker pada dasarnya merupakan sel dengan proliferasi yang tak terkendali akibat kerusakan gen, utamanya pada regulator daur sel (Sher, 1996). Pertumbuhan kanker merupakan proses mikroevolusioner yang dapat berlangsung dalam beberapa bulan atau beberapa tahun (Albert, 1994). Proses pertumbuhan ini disebut karsinogenesis, dimulai dari satu sel kanker yang memperbanyak diri dan membentuk koloni kecil dalam jaringan yang sama. Selanjutnya terjadi perubahan genetik (seperti aktivasi onkogen) yang menyebabkan koloni dari sel abnormal ini menjadi malignan (Schneider, 1997). Kanker terjadi karena adanya perubahan mendasar dalam fisiologi sel yang akhirnya tumbuh menjadi malignan. Secara umum, ciri-ciri dari sel kanker adalah: a) Memiliki kemampuan mencukupi sinyal pertumbuhan sendiri yang dapat memacu daur sel. b) Insensitivitas terhadap anti faktor pertumbuhan yang menyebabkan daur sel tidak terhenti. c) Kehilangan kemampuan apoptosis (kemampuan melakukan program bunuh diri), sehingga sel tersebut terus bertambah. d) Invasi ke jaringan lain dan masuk ke peredaran darah, sehingga dapat mengalami metastasis. e) Potensi replikasi yang tidak terbatas (immortal). f) Kemampuan untuk membentuk saluran darah ke sel kanker (Hanahan & Weinberg, 2000).



Gambar 2.1 Skema pertumbuhan pembelahan sel

Beberapa usaha pengobatan terhadap kanker telah dilakukan secara intensif, yaitu dengan pembedahan, kemoterapi dan radioterapi. Diantara ketiga cara tersebut, kemoterapi merupakan pilihan pengobatan yang paling memungkinkan untuk pengobatan kanker pada stadium lanjut (sudah metastasis). Kemoterapi adalah cara pengobatan dengan menggunakan senyawa kimia yang bekerja langsung pada sel kanker. Beberapa agen kemoterapi yang sering digunakan dalam pengobatan kanker payudara adalah Adriamycin (doxorubicin), Aredia (pamidronate disodium), Cytosan (cyclophosphamide), Ellence (epirubicin), Fareston (toremifene), Tamoxifen (Nolvadex), Taxol (paclitaxel), dan Taxotere (docetaxel). Kegagalan yang sering terjadi dalam usaha pengobatan kanker, utamanya melalui kemoterapi, lebih dikarenakan rendahnya selektivitas obat-obat antikanker dan sensitivitas sel kanker itu sendiri terhadap agen kemoterapi. Usaha penemuan obat baru yang aman dan selektif terhadap pengobatan dan pencegahan kanker dengan mengetahui pengaruh molekuler terhadap sel kanker perlu untuk dilakukan.

Pendekatan terapi kanker dapat dilakukan dengan menghambat perkembangan sel kanker tersebut baik melalui pemacuan apoptosis dan penghambatan daur sel yang dapat teramati secara *in vitro*. Proses terbentuknya sel kanker umumnya disebabkan oleh tidak terkendalinya proliferasi sel, maka pengembangan obat-obat antikanker dapat diarahkan pada regulasi daur sel dan kontrol *checkpoint* (Saphiro & Harper, 1999), faktor pertumbuhan dan signal faktor pertumbuhan (Gibbsa, 2000), penghambatan angiogenesis (Keshet & BensSasson, 1999), dan pemacuan apoptosis (Fisher, 1994).

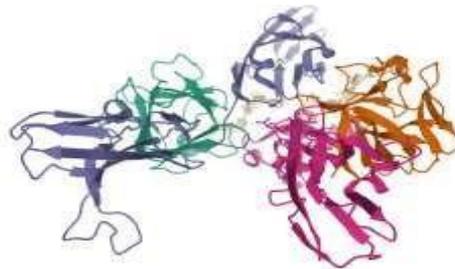
## 2.2 Reseptor FGF2-FGFR1

Fibroblast Growth Factor (FGFs) adalah glikoprotein yang disekresikan oleh heparan sulfat proteoglikan (HPSGs) dan selanjutnya dapat ditempatkan ke matriks ekstraseluler dan permukaan sel (Turner and Grose, 2010). FGF2 adalah pengikat heparin yang terjadi pada beberapa varian sitoplasma yang dihasilkan. FGF2 berperan sebagai pleiotropik dalam berbagai hal dan jaringan sel, seperti faktor motogenik, angiogenik, migrasi sel, dan diferensiasi sel. Aktivitas FGF2 melibatkan reseptor transmembran beraffinitas tinggi dan heparan sulfat proteoglikan affinitas rendah melalui mekanisme parakrin atau autokrin untuk suatu target intraseluler (Okada-Ban et al.,2000)

Faktor pertumbuhan FGF1,FGF2, dan VEGF merupakan mediator yang sangat penting dari angiogenesis yang bergantung pada interaksi dengan Heparan Sulfat (HS) pada permukaan sel untuk memulai transduksi sinyal (Ghiselli G, 2019). Pada penelitian ini juga diamati bahwa heparin selain berinteraksi dengan FGF juga berikatan dengan domain spesifik reseptor tirosin kinase (FGFR) sehingga menyebabkan mekanisme molekuler yang melibatkan HS dalam angiogenesis.

Ada beberapa mekanisme FGFR terkait dengan onkogenesis termasuk aktivasi atau mutasi driver yang menghasilkan pertumbuhan sel dan kelangsungan hidup, angiogenesis, dan resistensi yang diperoleh terhadap terapi kanker lain. Jalur FGFR tunduk pada berbagai penyimpangan somatik menghasilkan karsinogenesis. Overekspresi reseptor dapat merupakan hasil amplifikasi gen atau perubahan dalam proses pasca transkripsi, point mutation sebagai hasil aktivasi reseptor konstitutif atau penurunan sensitivitas ikatan ligan, translokasi dapat

menghasilkan fusi protein dengan aktivitas konstitutif, dan *isoform switching* serta alternatif ke FGF. Penyimpangan-penyimpangan onkogenik utama ini mewakili fitur yang menjadikan FGFR target terapi yang ideal untuk mengobati cakupan luas keganasan.. Contoh struktur kristal protein FGF2-FGFR1 ditunjukkan pada Gambar berikut:



Gambar 2.2. Struktur kristal protein FGF2-FGFR1 (RCSB, 2000)

FGF-2 ditemukan pada tahun 1974 dan menjadi faktor pertumbuhan *sequencing* pertama di 1989. Sejak itu FGF-2 mendapat perhatian dari peneliti dan dokter sebagai faktor pertumbuhan angiogenik kuat yang terlibat dalam pengembangan penyakit seperti kanker, aterosklerosis, dan jantung dan iskemia tungkai, juga penyembuhan luka normal dan perkembangan jaringan (Filion & Popel, 2004).

. FGF-2 diperkirakan memiliki dua tempat penempelan reseptor terpisah yang memungkinkan satu FGF-2 tunggal berikatan dengan dua reseptor atau berinteraksi dengan satu buah reseptor pada dua posisi berbeda (Ostroek et al., 2007).

FGF-2 adalah faktor dengan fungsi angiogenesis dan proliferasi. Respons biologis FGF-2 dimediasi dengan mengikat reseptor ke permukaan sel tertentu yaitu FGFR. Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa FGF-2 memainkan peran penting dalam angiogenesis terkait tumor, invasi, dan proliferasi. Ekspresi

protein FGF-2 terdeteksi di hampir semua jenis tumor manusia ekstrakranial dan beberapa glioma intrakranial manusia (Wang et al., 2012).

Dua kelas reseptor FGF-2 telah diidentifikasi. Kelas reseptor pertama terdiri dari anggota keluarga reseptor tirosin kinase yang ditemukan di permukaan sel. Reseptor-reseptor ini mengikat FGF-2, serta FGF lainnya, dengan afinitas tinggi tetapi berkapasitas rendah (sekitar 10<sup>4</sup> reseptor/sel). Kelas kedua reseptor terdiri dari heparan sulfate proteoglycan (HSPG) yang ditemukan di permukaan sel serta dalam matriks ekstraseluler dan pada membran basal. Reseptor-reseptor ini mengikat FGF-2, serta FGF lainnya, dengan afinitas rendah tetapi berkapasitas tinggi (kira-kira 10<sup>6</sup> reseptor/sel). FGF-2 juga mengikat heparin glikosaminoglikan serta berbagai *soluble heparin-like glycosaminoglycans* (Filion & Popel, 2004).

FGF-2 berperan pada angiogenesis dalam dua mekanisme yaitu dengan modulasi aktivitas sel endotel dan regulasi ekspresi VEGF pada sel tumor. Kedua faktor merupakan mitogen dan kemoatraktan pada sel endotel. Dalam menginvasi matriks ekstraseluler untuk vaskularisasi jaringan yang baru, sel endotel harus meningkatkan ekspresi molekulnya yang mengaktifasi kunci protease seperti plasmin. Plasmin mampu mendegradasi komponen multiple extracellular matrix (ECM) yang meliputi fibronektin dan laminin yang memungkinkan sel endotel bermigrasi ke jaringan baru (Goetz R & Mohammadi, 2013).

Mekanisme kedua FGF-2 dalam angiogenesis melalui induksi ekspresi VEGF, sebuah mitogen sel endotel yang berpotensi sebagai faktor angiogenesis pada glioma manusia secara *in vivo*. FGF-2 menunjukkan stimulasi VEGF. Sekresi FGF-2 oleh sel tumor mungkin menginduksi angiogenesis pada parakrin,

berperan pada sel endotel secara langsung seperti stimulasi sel tumor pada autokrin dan parakrin untuk mensintesis VEGF. FGF-2 memodulasi aktivitas sel endotel secara langsung dan tidak langsung. Level tinggi pada faktor pertumbuhan ini terdeteksi pada angiogenesis glioma dengan modulasi langsung. Bukti peran FGF-2 langsung pada angiogenesis glioma terdeteksi secara *in vivo* pada implantasi intrakranial U87MG tumor yang menunjukkan derajat rendah yang signifikan pada neovaskularisasi setelah terapi dengan anti FGF-2 dibandingkan dengan tumor yang tidak diterapi (Goetz R & Mohammadi, 2013).

Studi menunjukkan FGF-2 berperan penting pada pertumbuhan, proliferasi atau infiltrasi tumor meningioma melalui jalur autokrin atau parakrin. Pada waktu yang sama juga ditemukan ekspresi protein FGF-2 pada sel meningioma yang berkorelasi positif dengan MVD pada tumor. Hal ini mengindikasikan bahwa ekspresi FGF-2 pada sel meningioma dapat menyebabkan angiogenesis yang juga sangat penting pada pertumbuhan tumor, proliferasi atau infiltrasi. Bioaktivitas juga melengkapi melalui jalur autokrin atau parakrin. Berdasarkan hal tersebut maka dapat disimpulkan bahwa FGF-2 dan FGFR1 berperan penting pada karsinogenesis meningioma. Keduanya dapat membentuk ligan-reseptor secara langsung yang mempercepat pertumbuhan, proliferasi, infiltrasi tumor atau secara tidak langsung berperan dengan mempercepat angiogenesis tumor. Anti FGF-2 atau terapi FGFR mungkin dapat diaplikasikan pada periode pertumbuhan, proliferasi atau infiltrasi meningioma. Hal ini dapat menjadi salah satu target terapi tumor. Ekspresi FGF-2 dan FGFR1 pada meningioma dapat menjadi salah satu indikasi yang bermanfaat dalam membedakan tumor dengan tumor yang lain (Wang et al., 2012).

### 2.3 Pengertian Heparin

Heparin, obat antikoagulan, secara luas diakui sebagai polisakarida yang penting secara kimia. Heparin ditemukan tahun 1916 oleh Jay McLean, mahasiswa kedokteran tahun kedua, bekerja di bawah arahan ahli fisiologi William Howell di Universitas Johns Hopkins.

Pemahaman tentang struktur heparin berkembang secara bertahap. Pada tahun 1928, Howell mengidentifikasi dengan benar gula yang dibuat dalam heparin menjadi asam uronat dan pada 1935 Jorpes dan Bergstrom menemukan glukosamin sebagai komponen gula kedua dalam heparin. Jorpes dan kemudian Charles mengemukakan bahwa heparin mengandung tingkat tinggi sulfat yang terikat secara kovalen menjadikannya salah satu asam terkuat di alam. Studi selanjutnya juga mengidentifikasi hubungan antara C-1 glukosamin dan C-4 dari asam uronat dan lokasi kelompok O-sulfo. Asam uronat dikonfirmasi menjadi asam -iduronat oleh Perlin, pada tahun 1968 menggunakan spektroskopi NMR. Dengan demikian, heparin akhirnya muncul sebagai polisakarida linier tersulfasi dengan unit disakarida berulang yang mengandung asam iduronat dan glukosamin.

Heparin merupakan glikosaminoglikan tersulfatisasi yang sebagian besar terdiri dari unit disakarida berulang dari asam L-iduronat 2-O-sulfat 2-O-terikat -1,4 (IdoA<sub>2S</sub>) serta N-sulfat,6-O-sulfat D-glukosamin (GlcN<sub>NS,6S</sub>). Dalam struktur ini, residu GlcN dari Struktur dari urutan disakarida GlcN (2S, 6S)- IdoA (2S) mengadopsi konformasi kursi <sup>4</sup>C<sub>1</sub> wajar sedangkan konformasi fleksibel IdoA ditemukan dalam konformasi <sup>1</sup>C<sub>4</sub> pada saat hanya terikat pada protein ataupun dalam konformasi perahu-miring (<sup>2</sup>S<sub>0</sub>) pada saat bagian dari kompleks terner.

Penelitian NMR terkini menampilkan kalau FGF-1 bisa mengikat kedua konformasi IdoA dalam heksasakarida bioaktif. (Canales et al, 1996).

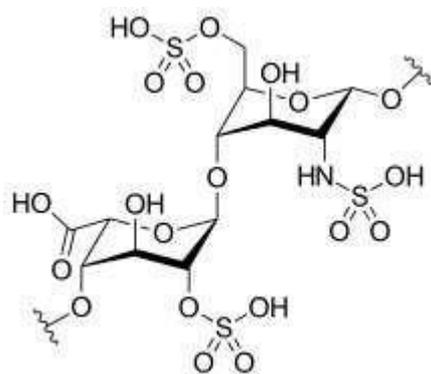
### **2.3.1 Struktur Heparin**

Heparin merupakan antikoagulan yang terjadi secara alamiah diproduksi oleh basofil serta sel mast. Heparin bertindak sebagai sebuah antikoagulan, menghambat pembentukan bekuan dan perpanjangan pembekuan yang ada di dalam darah. Meskipun heparin tidak memecah gumpalan yang telah terbentuk (seperti aktivator plasminogen jaringan), hal itu memungkinkan mekanisme lisis bekuan alami tubuh untuk bekerja secara normal untuk memecah gumpalan yang telah terbentuk (Peterson D et al., 2009).

Heparin merupakan obat yang dapat menyelamatkan jiwa, yang dimiliki oleh beberapa obat yang digunakan secara klinis tanpa struktur molekul yang jelas dalam pengobatan modern. Heparin merupakan biopolimer yang bermuatan sebagian besar negatif dengan distribusi luas dalam berat molekul, kerapatan muatan, dan aktivitas biologis. Heparin terutama terdiri dari unit disakarida trisulfated berulang, yang dibuat oleh sel mast yang diperkaya dalam usus, paru-paru atau hati hewan. Usus babi dan paru-paru sapi adalah dua sumber yang paling banyak digunakan untuk isolasi heparin. Heparin terkenal dengan efek farmakologis antikoagulan dan antitrombotiknya.

Aktivitas antikoagulan heparin disebabkan oleh urutan pentasakarida 3-O-sulfat dan 6-O-sulfat atau unit disakarida pengulangan delapan minimum yang mengandung urutan penta saccharide yang mengkatalisasi inaktivasi bunuh diri faktor Xa atau trombin oleh serpin atau serine dengan serine atau serine protease

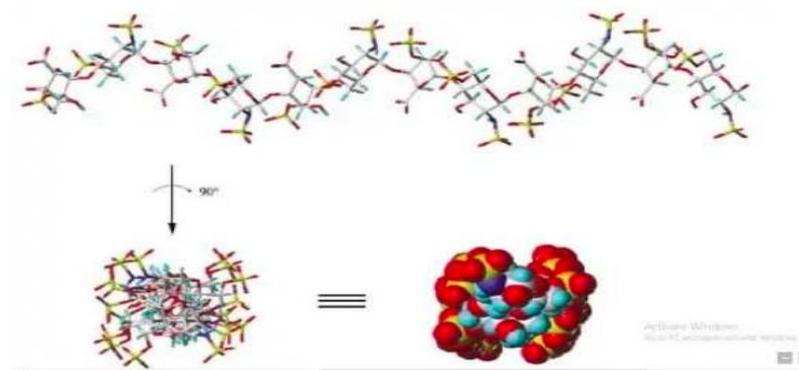
inhibitor bernama antithrombin III, masing-masing. Dengan demikian, heparin bertanggung jawab atas penghambatan simultan dari kedua generasi trombin dan aktivitas trombin dalam sirkulasi darah. Selain itu, heparin memiliki banyak sifat farmakologis seperti anti-inflamasi, antivirus, anti-angiogenesis, anti-neoplastik, dan efek anti-metastasis melalui interaksi afinitas tinggi dengan berbagai protease, inhibitor protease, kemokin, sitokin, faktor pertumbuhan, dan reseptor masing-masing. Satu sifat penargetan beberapa molekul obat menjadikan heparin sebagai obat yang sangat istimewa karena berbagai uji klinis masih dilakukan di seluruh dunia bahkan 100 tahun setelah penemuannya. Dalam ulasan ini, kami akan merangkum hubungan struktur-fungsi dan mekanisme molekul heparin. Kami juga akan memberikan ikhtisar aplikasi klinis dan potensial heparin yang berbeda. Contoh struktur kristal protein FGF2-FGFR1 ditunjukkan pada Gambar berikut:



Gambar 2.3. Struktur senyawa heparin (Shiver et al., 2012).

Heparin adalah polisakarida linier, tidak bercabang, sangat tersulfasi yang ada terutama sebagai struktur heliks. Tidak seperti protein, heparin tidak diketahui menunjukkan atau melipat ke dalam struktur tersier tertentu. Kekhususan interaksinya dengan beragam beragam protein penting secara biologis biologis menunjukkan menunjukkan bahwa ia menampilkan menampilkan gugus sulfo dan

karboksil karboksil dalam pola dan orientasi yang ditentukan untuk mendorong interaksi protein spesifik. Fleksibilitas konformasi dari residu asam -iduronat dalam heparin diyakini bertanggung jawab untuk berbagai interaksi protein spesifik yang ditunjukkan oleh GAG ini.



Gambar 2.4 Keluarga GAG

Analisis konformasi dari masing-masing gula dalam heparin menunjukkan bahwa reseptor -glucosamine dan -glucuronic acid mengasumsikan konformasi  ${}^4C_1$  yang lebih disukai (Skema 2A). Konformasi residu fleksibel-asam iduronat fleksibel (IdoA) bervariasi, tergantung pada pola substitusi residu ini dan pada posisi relatifnya dalam rantai. Ketika residu IdoA berada pada ujung pengurangan oligosakarida, data NMR menyarankan tiga konformer yang memungkinkan, kursi  ${}^4C_1$  dan  ${}^1C_4$  dan perahu miring  ${}^2S_0$  (Skema 2B). Ketika residu IdoA internal, hanya dua konformasi, kursi  ${}^1C_4$  dan perahu condong  ${}^2S_0$  dapat diakses. Untuk residu 2-O-sulfo- diakses. pada heksarinakarida turunan heparin menunjukkan bahwa residu IdoAp2S internal ada dalam kesetimbangan antara kursi. dan bentuk perahu miring. Bentuk  ${}^2S_0$  tampaknya sedikit disukai disukai dalam hal stabilitas konformasi, stabilitas konformasi, karena cenderung meminimalkan interaksi yang tidak terikat diaxial yang tidak menguntungkan yang diharapkan dalam

bentuk  ${}^1C_4$ , di mana empat substituen berorientasi aksial dan hanya kelompok karboksil yang ekuatorial. Akan tetapi, energi pada form  ${}^1C_4$  tidak tinggi, sehingga cincin iduronat dapat berubah antara bentuk  ${}^2S_0$  dan  ${}^1C_4$  sehingga dalam keadaan terikat protein dapat membuat interaksi elektrostatik yang menguntungkan dengan asam amino basa pada protein.

#### 2.4 Konformasi ${}^4C_1$

Sintesis heparin oligosakarida memungkinkan penelitian terhadap konformasi IdoA dan IdoA2SO<sub>3</sub> dalam urutan yang berbeda mengarah pada temuan bahwa IdoA cincin piranosa dapat mengasumsikan salah satu dari tiga konformasi equienergetic ( ${}^4C_1$ ,  ${}^1C_4$ , dan perahu miring  ${}^2S_0$ ). Sebenarnya ada banyak macam konformasi seperti C (Chair), S (skew), B (boat), H (half-chair), dari berbagai macam konformasi itu biasanya yang paling umum digunakan itu ada 3. Asam L-iduronic, yang ada dalam heparin dan GAG lainnya, memiliki fleksibilitas konformasi yang tinggi dan telah dilaporkan dalam konformasi  ${}^4C_1$ ,  ${}^2S_0$  dan  ${}^1C_4$ . Populasi rata-rata konformasi dua atau tiga bergantung pada sulfasi residu yang sama (IdoA2SO<sub>3</sub> vs IdoA) dan pada residu GlcN yang berdekatan. Residu dari IdoA2SO<sub>3</sub> dalam ranah N-sulfate dari heparin adalah 60% konformasi  ${}^1C_4$  dan 40% konformasi  ${}^2S_0$ , 3-O-sulfasi GlcNSO<sub>3</sub> seperti pada ranah dipengikatan AT 9 membalikkan ke perbandingan 40:60 populasi konformer ini. Populasi konformer juga dipengaruhi oleh faktor ekstrinsik, seperti jenis ion lawan (Shriver et al., 2012). Kemampuan unik cincin l-IdoA yang sangat fleksibel ini terkait dengan kemampuannya untuk mengadopsi beberapa konformasi energi yang sebanding (Casu et al., 2000). Konformasi cincin iduronate, awalnya dianggap terbatas pada keseimbangan antara konformasi kursi  ${}^1C_4$  dan  ${}^4C_1$ , lebih

rumit ketika ditemukan bahwa geometri perahu miring  ${}^2S_0$  dapat memainkan peran penting dalam kontrol pembekuan darah (Das et al., 2001). Selama beberapa dekade terakhir, eksperimen NMR solusi ekstensif serta perhitungan teoritis telah dilakukan, sebagian besar menggunakan fragmen heparin yang terdiri hingga 6 cincin piranosa, untuk mendapatkan wawasan tentang geometri L-IdoA.

L-Iduronic acid (IdoA) merupakan komponen asam uronat utama dari glikosaminoglikan (GAGs) dermatan sulfat, serta heparin. IdoA merupakan gula heksapiranosida. Mayoritas heksapiranosida umumnya terdapat pada salah satu dari dua konformasi kursi  ${}^1C_4$  ataupun  ${}^4C_1$ . setiap L- iduronate mengadopsi lebih dari satu konformasi penyelesaian, dengan penyeimbang yang terdapat 3 konformer berenergi rendah. Ini merupakan bentuk kursi  ${}^1C_4$  serta  ${}^4C_1$  serta konformasi perahu miring  ${}^2S_0$  tambahan. IdoA dapat dimodifikasi dengan mengakumulasi gugus O- Sulfat pada posisi karbon 2 untuk membentuk asam 2-O-sulfo- L- iduronic (IdoA2S). Menurut LK Hallak menjelaskan bahwa gula sangat berarti dalam peradangan virus respirasi syncytial. Dermatan sulfat serta heparan sulfat merupakan salah satunya GAG yang memiliki IdoA. Ketika diposisikan secara internal dalam oligosakarida,  ${}^1C_4$  serta  ${}^2S_0$  akan mendominasi.

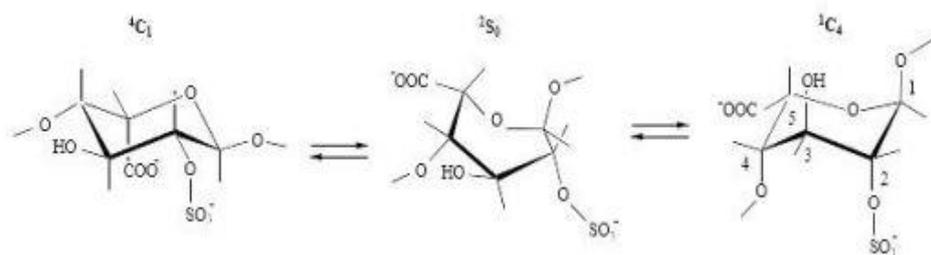
Dalam penelitian Poveda, (1998) bahwa metode NMR yang memungkinkan penentuan struktur bebas dan terikat telah banyak dijelaskan (Poveda, 1998). Pendekatan ini pada dasarnya didasarkan pada Efek Overhauser Nuklir (NOE) dan NOE yang ditransfer (tr-NOE) bersama dengan analisis konstanta kopling skalar. Besaran NOE, yang bergantung pada jarak antar-proton, biasanya digunakan untuk mempelajari geometri hubungan glikosidik dari GAG

(Mulloy et al., 1993). Selain itu, bersama dengan konstanta antar-proton, NOE memberikan informasi tentang geometri cincin L-iduronic acid (IdoA), yang memiliki tingkat fleksibilitas yang tidak biasa. Memang, ditunjukkan bahwa L-IdoA dan IdoA<sub>2S</sub> dapat mengadopsi konformasi energik dalam kesetimbangan yang dinamis: <sup>1</sup>C<sub>4</sub>, <sup>4</sup>C<sub>1</sub>, dan <sup>2</sup>S<sub>0</sub>.

Konformasi oligosakarida heparin yang terikat pada faktor dalam larutan telah dipelajari dalam studi NMR. Penelitian heparin tetrasakarida dengan adanya faktor pertumbuhan fibroblast  $\alpha$ -FGF dan  $\beta$ -FGF menunjukkan bahwa pengikatan dengan FGF stabil pada konformasi <sup>1</sup>C<sub>4</sub> dari residu IdoA<sub>2S</sub> yang terlibat langsung dalam pengikatan (Hricovini, 2002). Sedangkan struktur dalam keadaan padat dari kompleks heparin heksasakarida berikatan dengan  $\beta$ -FGF mengungkapkan bahwa salah satu residu IdoA<sub>2S</sub> mengadopsi kursi <sup>1</sup>C<sub>4</sub>, dan yang lainnya menggunakan perahu miring <sup>2</sup>S<sub>0</sub> (Faham S, 1996).

Kemampuan residu iduronat dalam mengasumsikan lebih dari satu konformasi pada rantai yang mengandung IdoA yang khas, mengacu pada pengikatan dan sifat-sifat biologis yang terkait. Pemodelan molekul pada heparin menghasilkan helik, seperti yang ditunjukkan pada A dan B untuk membangun rantai dengan residu IdoA<sub>2SO3</sub> di konformasi <sup>1</sup>C<sub>4</sub> dan <sup>2</sup>S<sub>0</sub> masing-masing. Kedua helik A dan B memiliki array dari tiga kelompok sulfat (ANS, I2S, dan A6S) pada sisi lain rantai (Gambar 2.5). Namun, orientasi dalam ruang kelompok substituen yang berbeda (anionik SO<sub>3</sub><sup>-</sup> dan COO<sup>-</sup>) sangat berbeda dalam dua heliks dan melibatkan jarak yang berbeda antara gugus sulfat dalam setiap gugusnya. Sebaliknya, konformasi N-asetil heparosa diterima sebagai konformasi representatif dalam ranah N-asetil heparin / HS (gambar 2.4), pada dasarnya

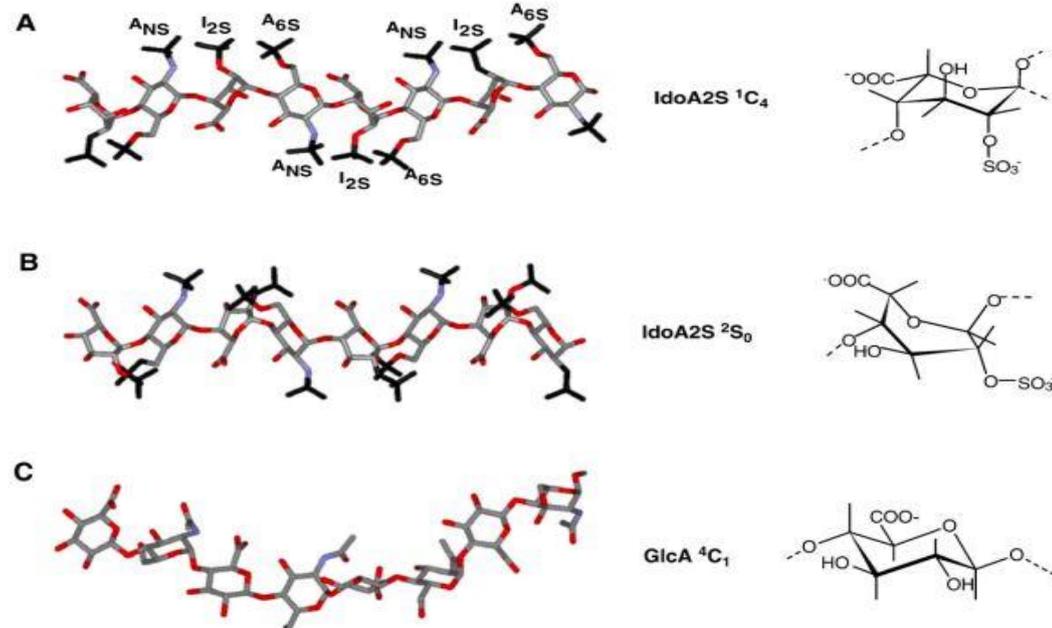
invarian karena konformasi  ${}^4C_1$  stabil oleh residu  $\beta$ -ikat GlcA. Selain mempengaruhi populasi konformer relatif, celah sulfasi di sepanjang rantai heparin tidak mempengaruhi perubahan substansial dalam konformasi dari setiap jenis helik (Shriver et al., 2012). Struktur konformasi residu iduronat dalam bentuk  ${}^4C_1$ ,  ${}^1C_4$  dan  ${}^2S_0$  disajikan pada Gambar 2.4 dan struktur heparin dengan konformasi iduronat  $1C_4$  dan  $2S_0$  disajikan pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Struktur terkait dengan konformasi residu IdoA2S dalam larutan (Shriver et al., 2012).

Heparin memiliki kemampuan dalam berikatan dengan sitokin angiogenik, seperti Fibroblast Growth Factor. Kemampuan ini terlihat dari pengikatan sitokin pada heparin yang dimobilisasi pada ikatan GAG yang terhambat. Menurut Cole et al., (2010) heparin memiliki komposisi oligosakarida 7-12 mer 2-O-sulfat iduronat (2S) atau 2-O-sulfat iduronat dan glukosamina N-sulfat. Dimana komposisi ini mempengaruhi pengikatan FGF2 dengan heparin. Oligosakarida 7-mer dan 8-mer 2S tidak memberikan pengaruh terhadap penghambatan sel endotel. Namun, peningkatan oligosakarida memungkinkan untuk menghambat pengikatan FGF2 dengan heparin, terlihat pada 2S 12-mer mengurangi pengikatan sebesar 75%. Sedangkan, komposisi oligosakarida 2SNS mengalami penurunan hambatan dari 7-mer, 8-mer, dan 9-mer sebesar 46%, 30%, dan 40% dan 2SNS

12-mer merupakan hambatan paling kuat yaitu >90%. Penelitian Gallagher (2015) mengindikasikan struktur heparin dengan 6S dan IdoA2S akan mengoptimalkan interaksi dengan afinitas dan spesifisitas tinggi pada heparin dan protein.



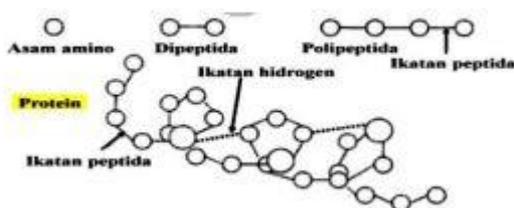
Gambar 2.6 Struktur rantai heparin dengan konformasi asam iduronat  ${}^1C_4$ ,  ${}^2S_0$ , dan  ${}^4C_1$  (Guerrini, dkk., 2007)

## 2.5 Protein dan Asam amino

Protein sendiri merupakan makromolekul yang tersusun atas asam amino. Asam amino yang menyusun protein terdapat 20 macam. Protein memiliki fungsi komplek terhadap semua proses biologi. Adapun fungsi protein adalah sebagai katalisator, pengangkut, dan penyimpan molekul seperti oksigen, mendukung mekanisme kekebalan tubuh, transmitor gerakan syaraf, mengendalikan pertumbuhan dan perkembangan (Katili, 2009).

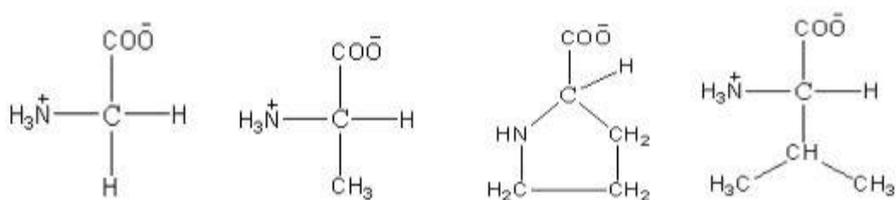
Protein memiliki jumlah dan urutan asam amino yang spesifik. Struktur dan sifat asam amino bergantung oleh sekuens dari asam amino dalam

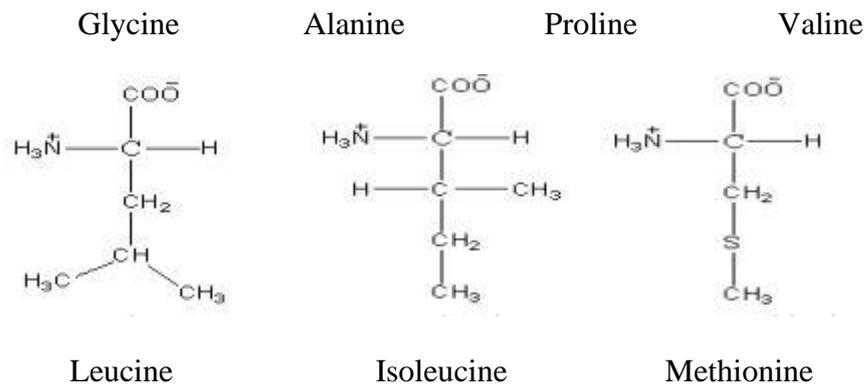
polipeptida. Perubahan asam amino dalam rantai akan menghasilkan protein baru dengan struktur dan fungsi yang berbeda (Kuchel dan Ralston, 2006). Protein untuk dapat berfungsi, asam amino akan melipat dan membentuk struktur yang presisi. Pada Gambar 2.8 menunjukkan protein terdiri dari beberapa asam amino yang terikat oleh ikatan peptida.



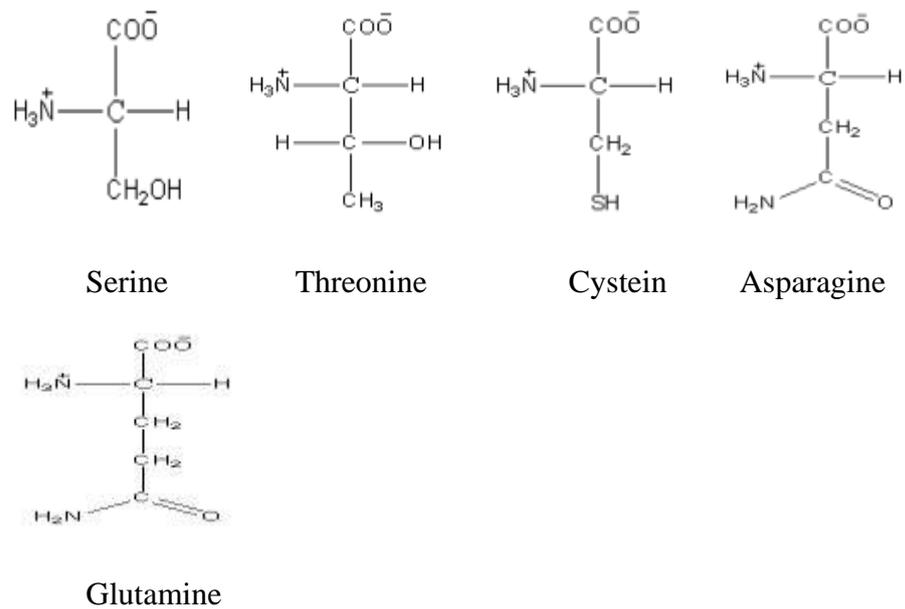
Gambar 2.7 Hubungan struktural antara asam amino, peptide dan protein (Joyce, dkk., 2008)

Asam amino mempunyai rantai samping gugus R yang akan membedakan asam amino dari struktur, ukuran, dan muatan listrik (Nelson dan Cox, 2008). Dua puluh jenis asam amino terdiri asam  $\alpha$ -amino dengan gugus amino primer ( $-\text{NH}_3^+$ ) dan asam karboksilat ( $-\text{COOH}$ ) yang terikat pada atom karbon pusat. Asam amino akan dipecah dengan proses metabolisme yang dikelompokkan berdasarkan kesamaan sifat-sifat rantai samping, seperti R alifatik, R tidak bermuatan, R aromatic, R muatan positif, dan R muatan negatif (Hammes dan Hooper, 2005) ditunjukkan pada Gambar 2.8 hingga Gambar 2.12.

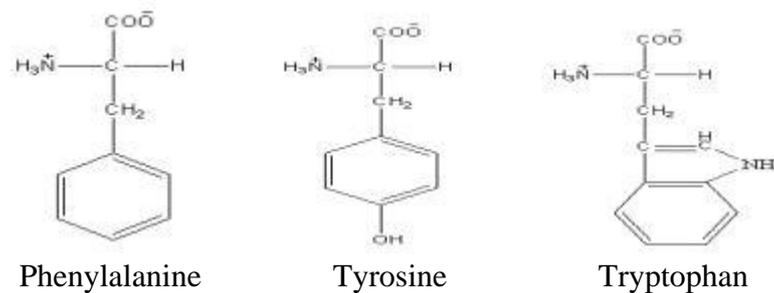




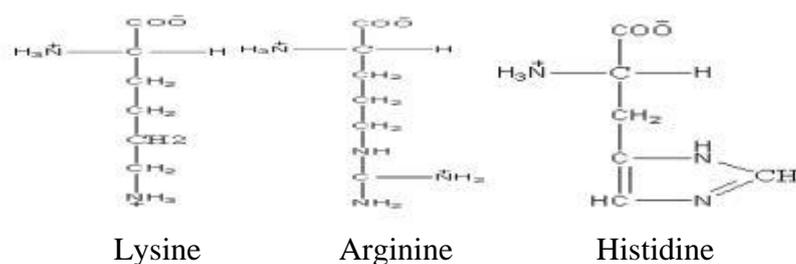
Gambar 2.8 Nonpolar, kelompok R alifatik (Hammes dan Hooper, 2005)



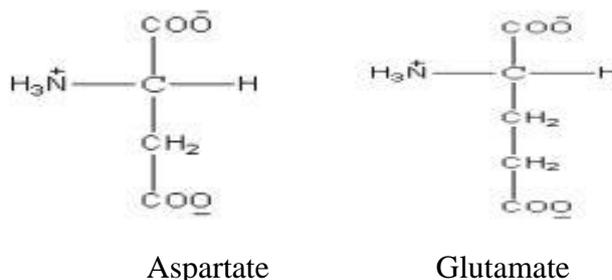
Gambar 2.9 Polar, kelompok R tidak bermuatan (Hammers dan Hooper, 2005)



Gambar 2.10 Kelompok R aromatik (Hammes dan Hooper, 2005)



Gambar 2.11 Kelompok R bermuatan positif (Hammes dan Hooper, 2005)



Gambar 2.12 Kelompok R bermuatan negatif (Hammes dan Hooper, 2005)

## 2.6 Penambatan molekuler atau *Molecular Docking*

Penambatan molekuler adalah studi yang mempelajari bagaimana dua atau lebih struktur molekul dapat berikatan satu sama lainnya. Penambatan molekuler dipakai sebagai alat untuk memprediksi interaksi yang terjadi antara dua molekul atau lebih (Dar & Mir, 2017). Prinsip dalam penambatan yaitu menambatkan ligan pada bagian aktif reseptor sehingga terjadi interaksi yang dapat dianalisis (Kroemer, 2003). Tujuannya adalah untuk memprediksi konformasi yang terikat serta afinitas pengikatan. Prediksi pengikatan molekul kecil ke protein sangat penting secara praktis karena digunakan untuk memilah perpustakaan virtual molekul yang mirip obat untuk mendapatkan petunjuk untuk pengembangan obat lebih lanjut. Penambatan molekuler juga bisa digunakan untuk mencoba dan memprediksi yang terikat konformasi yang telah diketahui, bila struktur percobaan tidak tersedia (Trott and Olson, 2010).

### 1. Ikatan Ion

Ikatan ion sendiri merupakan jenis ikatan yang terbentuk antara beberapa gugus yang mempunyai muatan berlawanan. Jenis ikatan ion dapat menghasilkan ikatan yang kuat karena dipengaruhi dengan besarnya perbedaan keelektronegatifan dari atom-atom yang terdapat di suatu senyawa. Semakin besar perbedaan keelektronegatifan yang dimiliki oleh suatu senyawa maka akan menghasilkan ikatan ion yang semakin kuat juga (Patrick, 2001).

## 2. Ikatan Hidrogen

Ikatan hidrogen merupakan ikatan yang terjadi akibat adanya gaya tarik menarik antara atom H dengan atom lain yang memiliki keelektronegatifan yang besar pada suatu molekul. Ikatan hidrogen sendiri adalah ikatan yang terjadi karena adanya interaksi antara dua molekul yang salah satunya memiliki peran sebagai donor dan yang lainnya sebagai akseptor. Ikatan yang terjadi antar molekul dan antar hidrogen adalah ikatan yang paling kuat akan tetapi lebih lemah jika dibandingkan dengan ikatan ion atau ikatan kovalen. Semakin besar beda keelektronegatifan yang dipunyai oleh beberapa atom penyusunnya maka kekuatan ikatan hidrogen yang dihasilkan juga akan semakin besar (Patrick, 2001).

## 3. Ikatan Van Der Waals

Ikatan van der waals merupakan jenis ikatan lemah yang diperoleh dari interaksi dua molekul. Fluktuasi acak di dalam densitas elektron mengakibatkan terjadinya interaksi van der waals sehingga terbentuk daerah yang banyak dan sedikit elektron. Daerah yang kaya akan elektron, akan menarik daerah yang sedikit elektron. Ikatan ini dinyatakan lemah daripada ikatan hidrogen dan ikatan ion (Patrick, 2001).

#### 4. Ikatan Kovalen

Ikatan kovalen sendiri merupakan jenis interaksi yang terjadi karena penggunaan elektron secara bersamaan oleh beberapa atom pembentuk ikatan. Ketika beberapa atom ini melakukan penggunaan atom bersama-sama maka akan mencapai jumlah oktetnya. Interaksi intermolekul sering terjadi pada obat yang memiliki interaksi dengan targetnya. Namun, beberapa obat juga membentuk ikatan kovalen dengan targetnya. Beberapa obat yang mengandung gugus alkil halida bisa bertindak sebagai elektrofilik serta bereaksi dengan residu asam amino nukleofilik, seperti halnya senyawa serin dan sistein, pada situs interaksi target yang mengakibatkan hubungan yang ireversibel antara obat dengan target. Penghambat-penghambat enzim dirancang supaya bekerja sebagai substrat serta cara menjalani reaksi katalis enzim. Hal ini mengakibatkan pembentukan interaksi kovalen antara obat dan enzim (Patrick, 2001).

Prinsip analisis hasil dari docking salah satunya adalah jenis ikatannya. Ikatan suatu molekul memiliki jenis interaksi yang tidak sama dan akan memiliki nilai ikatan yang tidak sama pula. Berikut adalah jenis-jenis interaksi antara molekul seperti ikatan ion, ikatan hidrogen, ikatan van der waals, dan ikatan dipol-dipol (Patrick, 2001):

Interaksi obat dan reseptor adalah masalah kompleks. Banyak kekuatan yang terlibat dalam intermolekul yang tergabung diantaranya : hidrofobik, dispersi atau *Van der waals*, ikatan hidrogen, dan elektrostatik. Interaksi pemodelan intermolekul pada suatu ligan-protein kompleks sangat sulit karena terdapat banyak derajat kebebasan dan pengetahuan yang tidak cukup dari efek pelarut dalam pengikatan (Abraham, 2003).

Tingkat kesulitan komputasional *docking* meningkat sesuai pada metode berikut :

- a. *Rigid body docking*, dimana reseptor bersifat kaku dan ligan bersifat kaku.
- b. *flexible ligand docking*, dimana reseptor bersifat kaku dan ligan bersifat fleksibel atau digerakkan ke segala arah
- c. *flexible docking*, dimana fleksibilitas reseptor dan ligan dapat dipertimbangkan atau dibuat fleksibel keduanya.

Hasil yang diperoleh dianalisis dengan perhitungan Scoring Function yang menghitung energi interaksi serta mengubahnya jadi nilai numerik yang disebut dengan docking score.

Keberhasilan dari program docking tidak terlepas dari dua komponen yaitu algoritma dan fungsi *scoring*. Proses pencarian energi dari interaksi yang terjadi antara dua molekul melalui metode *docking* dibagi menjadi dua tahap, yaitu:

a. *Algorithm*

*algorithm* atau algoritma menentukan semua kemungkinan konformasi yang optimal pada kompleks (protein-protein, protein-ligan). Dicari konformasi ini, diperhatikan fleksibilitas dari reseptor dan ligan. Dalam hal ini, protein dalam keadaan kaku dan ligan dengan bebasnya dapat mengeksplor konformasinya. Berbagai konformasi yang diperoleh ditambahkan pada protein berturut-turut. Selain itu, *algorithm* juga dapat menghitung energi yang dihasilkan kompleks masing-masing interaksi yang terjadi.

b. Fungsi *Scoring* atau *Scoring Function*

salah satu komponen keberhasilan dari program *docking* ialah fungsi *scoring*. Fungsi *scoring* adalah metode matematis yang digunakan untuk

memprediksi kekuatan interaksi non-kovalen yang disebut *binding affinity* antara dua molekul setelah molekul-molekul tersebut ditambatkan. Fungsi penilaian merupakan komponen yang paling utama dalam penambatan molekuler karena digunakan untuk menghitung energi ikatan dalam pembuatan obat berbasis struktur. Fungsi penilaian atau *Scoring Function* mempunyai tiga aspek utama yaitu menentukan mode pengikatan dan lokasi ligan pada protein target, memprediksi afinitas ikatan antara ligan-protein target dan mengidentifikasi potensi suatu ligan pada protein target (*skringing virtual database*). Pada umumnya fungsi penilaian yang baik mampu memberikan peringkat pada orientasi yang terbentuk dari hasil eksperimen pada saat menentukan mode binding dan saat skringing virtual database. Selain itu, *scoring function* yang akurat dapat meningkatkan efisiensi optimasi saat proses penambatan dilakukan (Huang et al., 2010).

Jenis *scoring function* ada 3 yaitu: *force-field based*, *empirical* dan *knowing-based*. Untuk program Autodock yaitu khusus menggunakan Fungsi *scoring* yang *force field-based*. Fungsi *scoring force field-based* klasik akan menilai energi ikatan dengan menghitung jumlah interaksi non-ikatan seperti Van der Waals dan elektrostatik. Interaksi Van der Waals dijelaskan oleh fungsi potensial *Lennard-Jones* yang mengadopsi set parameter yang berbeda dapat mengontrol jarak antara protein dan ligan. Interaksi elektrostatik dihitung menggunakan rumusan *Coulombic* (Meng et al., 2011). *Force field* sendiri meliputi evaluasi (V) pada enam pasangan atom dan perkiraan entropi konformasi yang hilang saat pengikatan ( $\Delta S_{\text{conf}}$ ) (Huey et al., 2007). Persamaan yang

digunakan untuk menghitung nilai  $\Delta G$  pembentukan kompleks ligan-protein target dapat dilihat pada Persamaan 2.1

$$\Delta G = (V_{bound}^{L-L} - V_{unbound}^{L-L}) + (V_{bound}^{P-P} - V_{unbound}^{P-P}) + (V_{bound}^{P-L} - V_{unbound}^{P-L} + \Delta S_{conf}) \quad (2.1)$$

Setiap evaluasi pasangan atom mencakup evaluasi untuk Van der Waals, ikatan hidrogen, elektrostatik dan desolvasi (Huey *et al.*, 2007). Fungsi penilaian yang digunakan Autodock4 yaitu *semiempirical free energy force-field* yang menggabungkan mekanika molekuler *force-field* tradisional dengan bobot empirik dan bentuk fungsional empiris.

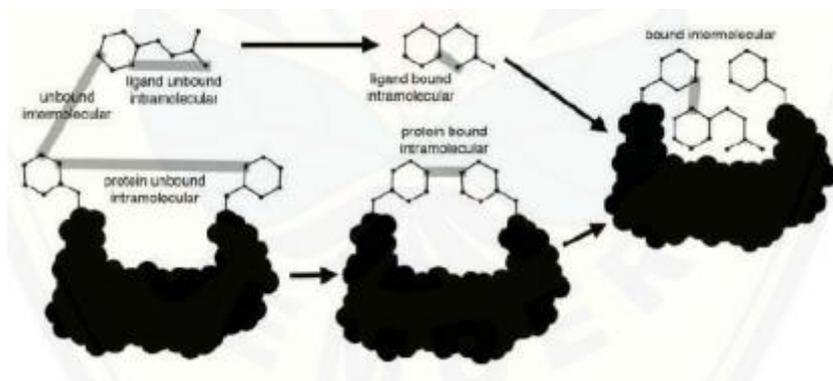
Rumusan untuk entropi torsional ( $\Delta S_{conf}$ ) yang ditunjukkan pada Persamaan 2.2 saat pengikatan berbanding lurus dengan jumlah ikatan yang dapat diputar dalam molekul ( $N_{tors}$ ) yang meliputi keseluruhan derajat kebebasan torsi.

$$\Delta S_{conf} = W_{conf} N_{tors} \quad (2.2)$$

Meningkatnya kinerja dari *force-field* baru ini meliputi perombakan model termodinamika pada proses pengikatan, adanya model desolvasi penuh serta penggabungan model pada evaluasi ikatan hidrogen (Huey *et al.*, 2007).

Perhitungan energi dievaluasi dalam dua tahap. Ligan dan protein (makromolekul) berawal dari konformasi sebelum penambatan (*unbound conformation*). Pada tahap pertama adalah evaluasi energi intramolekuler dari transisi keadaan sebelum penambatan menuju keadaan kompleks setelah penambatan. Tahap kedua mengevaluasi energi intermolekuler dari penambatan

ligan dan protein (makromolekul) pada konformasi setelah penambatan yang terikat secara fisik (*bound conformation*). Ilustrasi penambatan ligan terhadap makromolekul pada AutoDock 4.2.6 dapat dilihat pada Gambar 2.12.



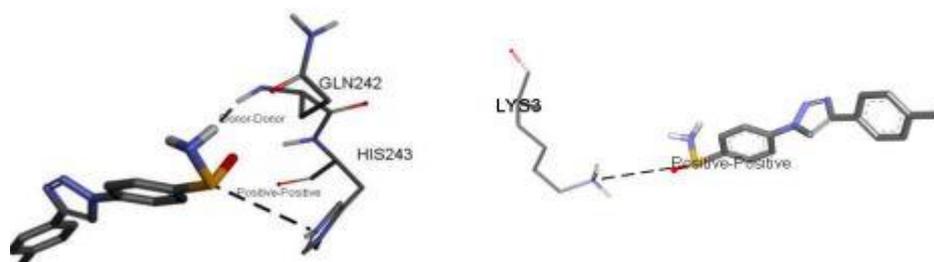
Gambar 2.13 Ilustrasi proses penambatan ligan pada protein (Huey et al., 2007)

Gibbs energy of binding yang diperoleh pada program Autodock merupakan total dari beberapa energi yang dijumlahkan, yaitu energi van der waals, hidrogen, elektrostatis, dan desolvasi. Energi van der waals adalah energi gaya tarik antara dua atom karbon. Energi hidrogen merupakan energi interaksi antara atom oksigen. Energi elektrostatis merupakan energi yang ditimbulkan akibat muatan berlawanan pada masing-masing molekul (Morris et al., 2014). Energi desolvasi, yaitu energi ikatan antara makromolekul dan ligan dalam larutan (Morris et al., 2001).

Pentingnya penentuan sisi pengikatan dari protein untuk dilakukan. Penentuan dapat didasarkan pada molekul referensi, yaitu inhibitor yang telah diketahui dan sebagai kontrol. Apabila inhibitor berikatan pada sisi dan melibatkan asam amino yang sama, maka protein memiliki fungsi yang sama. Tempat pengikatan ligan dengan residu asam amino yang sama pada molekul

referensi dapat dihitung nilai dari RMSD. RMSD adalah jarak sisi pengikatan ligan dengan molekul referensi. Nilai RMSD yang baik ketika kurang dari 2 Å dan identik bernilai sama 0 Å, namun jika nilai lebih dari 3Å maka ligan yang digunakan tidak identik dengan molekul referensi dan tidak berasal dari alam.

Interaksi molekuler antara protein dan situs aktif ligan dapat diklasifikasikan menurut aplikasi Visualisasi Discovery Studio. Ada dua jenis interaksi molekuler dalam aplikasi, yaitu interaksi yang menguntungkan (*favorable*) dan interaksi yang tidak menguntungkan (*unfavorable*). Interaksi yang menguntungkan (*favorable*) termasuk ikatan hidrogen, interaksi elektrostatik, interaksi hidrofobik, interaksi halogen, dan interaksi lainnya. Pada saat yang sama, karena jarak atom kurang dari atau sama dengan ambang radius van der Waals, interaksi yang merugikan (*unfavorable*) akan terjadi. Interaksi yang kurang baik (*unfavorable*) disebabkan oleh interaksi muatan tolak-menolak, tumbukan antar akseptor pada jarak 3Å, tumbukan donor-donor, dan tolakan logam. Gambar 2.14 Interaksi yang merugikan



Gambar 2.14 Interaksi *Unfavorable* (Gomex-Jeria, dkk., 2020)

Autodock melibatkan empat parameter dalam fungsi penilaiannya, antara lain:

### A. Energi Van der Waals

Energi ikatan Van der Waals didefinisikan sebagai gaya tarik antar atom yang tidak berikatan secara langsung.

### B. Ikatan hidrogen

Ikatan antara atom hidrogen dan atom Nitrogen, Oksigen dan Fluor. Sebuah atom hidrogen akan membentuk sebuah ikatan yang hanya dengan satu atom dengan yang lainnya, akan tetapi atom tersebut akan terikat secara kovalen dengan atom donor elektronegatif dan dapat membentuk ikatan hidrogen dengan akseptor. biasanya, ikatan hidrogen mengacu pada donor X-H dan akseptor A, adalah X-H...A (Lodish, dkk., 2000).

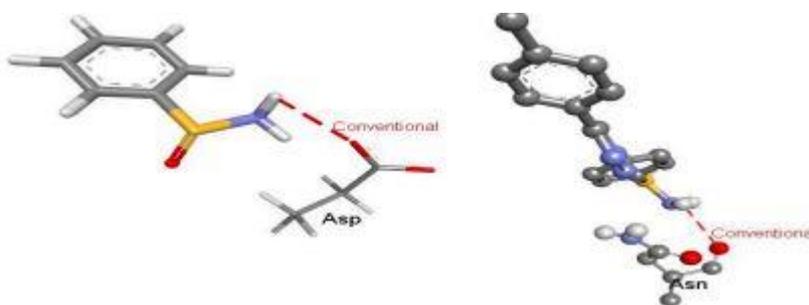
Ada dua jenis ikatan hidrogen yang bisa terjadi, yang pertama adalah ikatan hidrogen antar-molekul dan yang kedua adalah intramolekul. Ikatan yang terjadi antara dua molekul atau lebih biasanya disebut ikatan hidrogen antarmolekul, dengan contoh molekul air adalah ikatan yang mengikat empat molekul air lainnya. Namun untuk ikatan hidrogen intermolekul hanya dapat terjadi pada satu molekul saja (Desiraju dan Steiner, 1999).

Menurut Gomer-Jeria, dkk. (2020) bahwa ada dua parameter untuk mengelompokkan jenis ikatan hidrogen yaitu jarak dan sudutnya. Sehingga ada empat kriteria sudut yang bisa menjadi ikatan hidrogen diantaranya DHA,HAY,XDA,DAY, dan beberapa akseptor sepeerti A-Lp-A dengan min-max 90-180, hidrogen donor dan Sp donor XDA min 135, dan donor-donor HHD min 120, serta akseptor-akseptor A-Lp-A dengan torsi max 15.

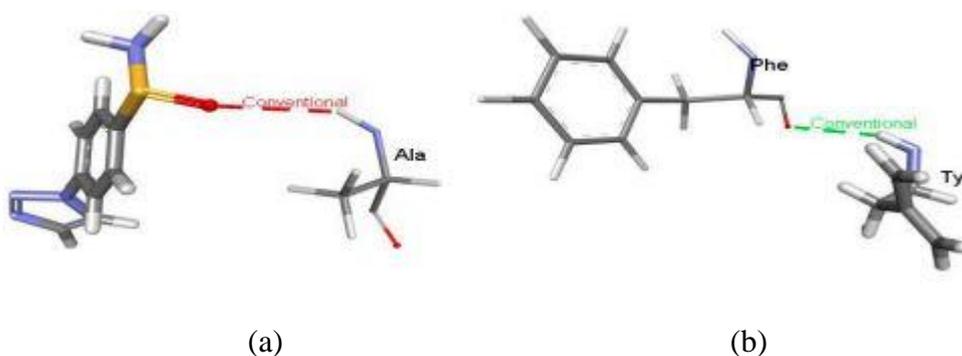
Adapun klasifikasi yang didasarkan pada parameter sudut menurut Gomez-Jeria, dkk. (2020) yakni ikatan hidrogen konvensional, jembatan garam, ikatan hidrogen karbon non-klasik, ikatan hidrogen  $\pi$ -donor non-klasik.

### 1. Ikatan Hidrogen Konvensional

Adanya atom donor ikatan hidrogen yang berikatan dengan akseptor yang sangat kuat sehingga terjadi yang namanya ikatan hidrogen konvensional. Biasanya yang terhubung dengan atom hidrogen adalah N, O, S, dan P adalah atom donor ikatan hidrogen klasik atau konvensional pada Gambar 2.14. namun, dengan adanya pasangan elektron bebas pada atom dapat dianggap sebagai akseptor. Atom akseptor dari ikatan hidrogen biasanya adalah atom F, Cl, Br, dan I. Adapun jarak yang dibutuhkan oleh ikatan hidrogen klasik untuk dapat terjadi adalah 3,4 Å yang bisa dilihat pada Gambar 2.15



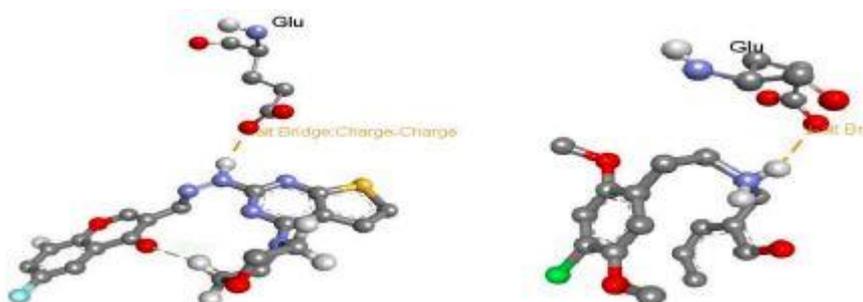
Gambar 2.15 Ikatan Hidrogen antarmolekul dengan asam amino (merah: O, biru: N, putih: H) (Gomez-jeria dkk., 2020)



Gambar 2.16 Ikatan Hidrogen antara (a) molekul dengan asam amino, (b) antar asam amino (Gomez-Jeria, dkk. 2020)

## 2. *Salt-Bridge* atau Jembatan Garam

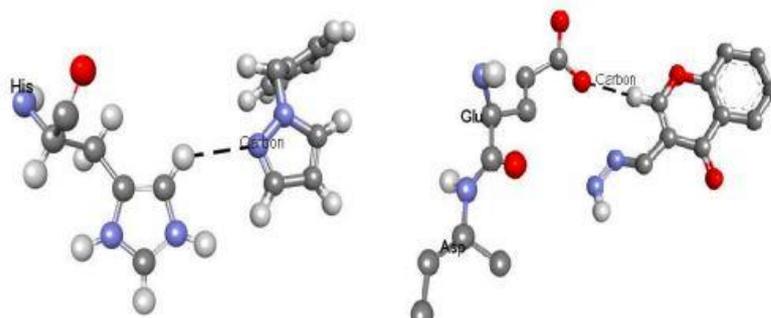
Ikatan ini merupakan ikatan yang dapat terjadi ketika pasangan gugus bermuatan yang berlawanan serta diantaranya juga terjadi ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen ini relatif sangat kuat oleh adanya interaksi non-ikatan. Dengan jarak sebesar 4 Å yang bisa dilihat pada Gambar 2.16.



Gambar 2.17 Interaksi Salt-Brigde (Gomez-Jeria, dkk., 2020)

## 3. Ikatan Hidrogen Karbon Non-Klasik

Ikatan ini dapat terjadi apabila atom karbon terpolarisasi dan akseptor. Syarat ikatan ini dapat terjadi apabila atom C dalam gugus asetilena atau ketika berdekatan dengan atom O atau N atau antar gugus pi dan atom pemberi. Dengan jarak yang ditentukan adalah sebesar 3,8 Å dan bisa dilihat pada Gambar 2.17



Gambar 2.18 Ikatan Hidrogen karbon (Gomez-Jeria, dkk., 2020)

#### 4. Ikatan Hidrogen $\pi$ -donor non-klasik

Ikatan ini dapat terjadi ketika atom donor ikatan hidrogen dan cincin  $\pi$  berfungsi sebagai akseptor. Dengan jarak yang ditentukan sebesar 4,2 Å pada Gambar 2.18



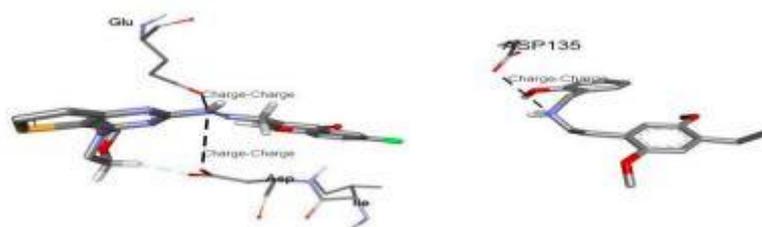
Gambar 2.19 Ikatan Hidrogen  $\pi$ -donor (Gomez-Jeria, dkk., 2020)

#### C. Interaksi Elektrostatik

Energi elektrostatik merupakan energi yang diperoleh dari interaksi yang terjadi antara satu molekul dengan molekul lain tanpa melalui ikatan. Interaksi terjadi akibat adanya distribusi elektron dan menghasilkan muatan positif dan negatif pada molekul-molekul tersebut.

##### 1. Interaksi Muatan Tarik-Menarik

Interaksi ini biasanya terjadi ketika atom pembawa muatan formal penuh atau muatan yang berlawanan. Dengan jarak interaksi sebesar 5,6 Å pada Gambar 2.19



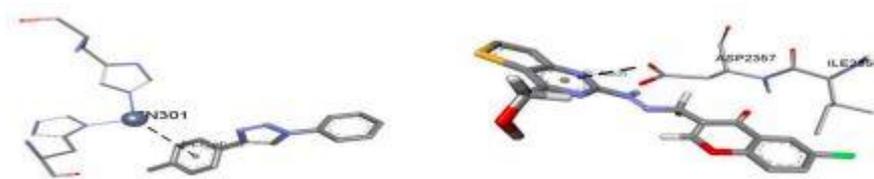
Gambar 2.20 Interaksi muatan tarik-menarik (Gomez-Jeria, dkk., 2020)

## 2. *Salt-Bridge* atau Jembatan Garam

Interaksi ini dapat diklasifikasikan menjadi interaksi elektrostatik, dan bisa diakui sebagai bagian dari yang kedua.

## 3. Interaksi $\pi$ -kation dan $\pi$ -anion

Terjadinya interaksi ini ditandai ketika antara atom dengan muatan positif dan elektron oleh siste pi yang terdelokalisasi. Kation dengan muatan positif yakni +0,5 dan delokalisasi kationik seperti halnya *sidechain* lisin dan arginin. Sehingga interaksi  $\pi$ -anion bermuatan +0,5 dapat dilihat pada Gambar 2.20



Gambar 2.21 Interaksi  $\pi$ -anion (kiri) dan  $\pi$ -kation (kanan) (Gomez-Jeria, dkk., 2020)

## D. Energi bebas desolvasi

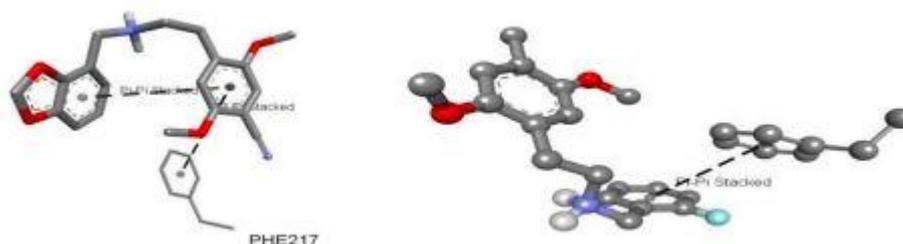
Energi bebas desolvasi merupakan energi ikatan antara makromolekul dan ligan dalam larutan (Morris et al., 2001).

## E. Interaksi Hidrofobik

Interaksi hidrofobik dapat terjadi karena adanya suatu gaya sehingga senyawa non polar mampu mengatur dirinya sedemikian rupa sehingga meminimalkan kontak dengan air atau senyawa amphipatik, membentuk struktur seperti misel di dalam air. Protein yang membentuk misel sebagian besar rantai sampingnya yang bersifat non polar akan menjauhi kontak dengan air, maka adanya interaksi hidrofobik dapat mendukung kestabilan suatu protein (Voet and Judith, 2011).

### 1. Interaksi $\pi$ - $\pi$ Tumpuk

Interaksi ini dapat cincin planar dengan atom hibridisasi  $sp^2$  namun tidak terbatas pada cincin aromatik saja. Dengan jarak sebesar 6 Å, terlihat pada Gambar 2.21

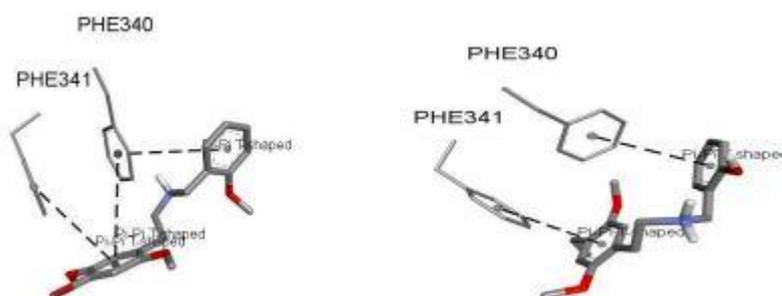


Gambar 2.22 Interaksi  $\pi$ -  $\pi$  Tumpuk (Gomez-Jeria, dkk., 2020)

### 2. Interaksi $\pi$ - $\pi$ Bentuk T

Interaksi ini dapat dilihat pada Gambar 2.22 dengan syarat kondisi terjadinya Interaksi  $\pi$ -  $\pi$  bentuk T adalah sebagai berikut:

- Jarak pusat pada cincin  $\pi$  ditentukan melalui jarak potongan  $\pi$ - $\pi$  pusat dengan jarak maksimal sebesar 6 Å
- Cincin  $\pi$ - $\pi$  dapat mendekati atom dari setiap cincin yang berada didalamnya dengan jarak 4,5 Å



Gambar 2.23 Interaksi  $\pi$ -  $\pi$  Bentuk T (Gomez-Jeria, dkk., 2020)

### 3. Interaksi $\pi$ -amida Tumpuk

Interaksi ini akan terjadi pada gugus amida dengan cincin  $\pi$  yang terlihat pada Gambar 2.24. dengan jarak sebesar 6 Å



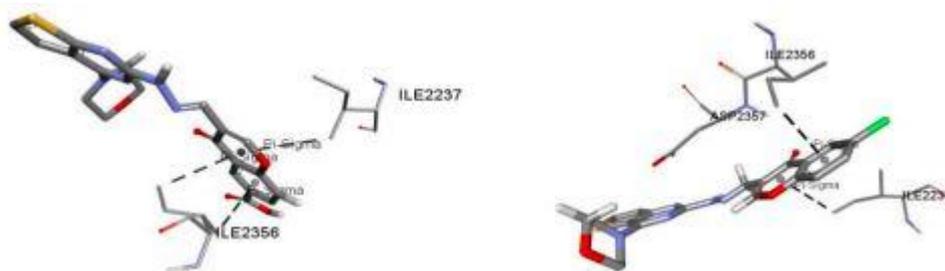
Gambar 2.24 Interaksi  $\pi$ -amida Tumpuk (Gomez-Jeria, dkk., 2020)

#### 4. Interaksi alkil

Interaksi ini terjadi pada gugus alkil non-polar dalam sistem non- $\pi$  dengan sidechain adalah asam amino alifatik. Dengan jarak sebesar 5,5 Å

#### 5. Interaksi $\pi$ - $\sigma$

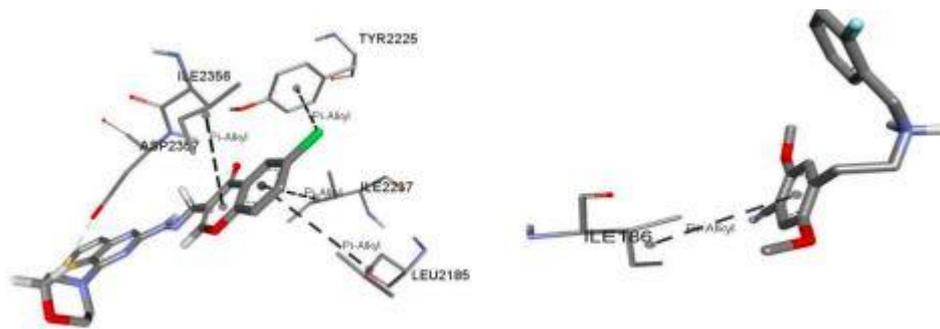
Interaksi ini terjadi pada atom hidrogen dengan sistem cincin  $\pi$ . Dengan syarat hidrogen sebagai pemberi dan berupa implisit atau eksplisit yang harus terkoneksi ke karbon non-aromatik. Dengan jarak sebesar 4,1 Å yang terlihat pada Gambar 2.24



Gambar 2.25 Interaksi  $\pi$ - $\sigma$  (Gomez-Jeria, dkk., 2020)

#### 6. Interaksi $\pi$ -alkil

Interaksi ini akan terjadi pada saat cincin pusat serta gugus alkil berada dalam pusat alkil dan mempunyai satu pasang atom yang sama yaitu  $\pi$ - $\pi$  yang paling dekat. Interaksi ini tersaji pada Gambar 2.25



Gambar 2.26 Interaksi  $\pi$ -alkil (Gomez-Jeria, dkk., 2020)

#### F. Interaksi Halogen

Interaksi ini terjadi ketika adanya interaksi halogen pada atom C yang terikat pada C, N, dan O (C-F...B-Y) dapat dilihat pada Gambar 2.26. jarak terikat pada C, N, dan O (C-F...B-Y) dapat dilihat pada Gambar 2.26. jarak maksimum atom F non-ikatan adalah 3,7 Å serta sudut ikatan H yang dipakai untuk mengidentifikasi F-H. Lain halnya dengan Cl, Br, dan I, jaraknya dianggap sebagai pecahan dari jumlah jari-jari atom Van der Waals.

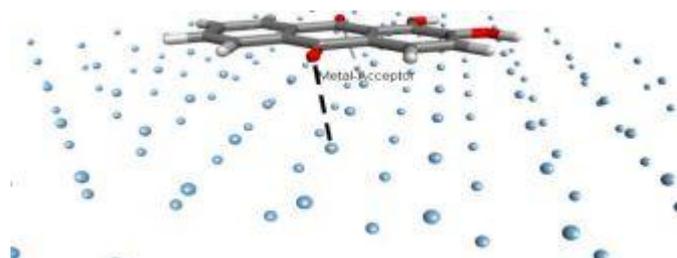


Gambar 2.27 Interaksi Halogen (Gomez-Jeria, dkk., 2020)

#### G. Interaksi lainnya

##### 1. Interaksi logam-akseptor

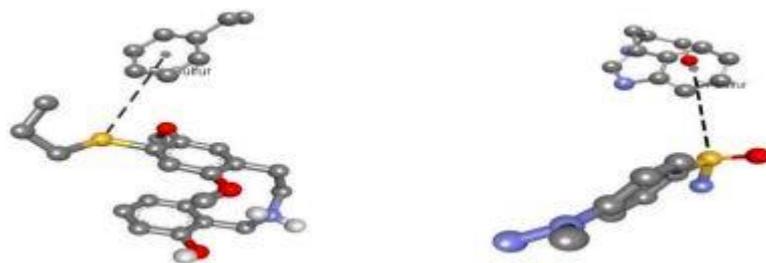
Interaksi ini terjadi ketika kation logam dan ikatan hidrogen sebagai penerima (akseptor). Interaksi logam dengan akseptor pada alizarin dan lapisan Ag dapat dilihat pada Gambar 2.28



Gambar 2.28 Interaksi logam-akseptor antara alizarin dengan lapisan Ag (Gomez-Jeria, dkk., 2020)

## 2. Interaksi $\pi$ -sulfur

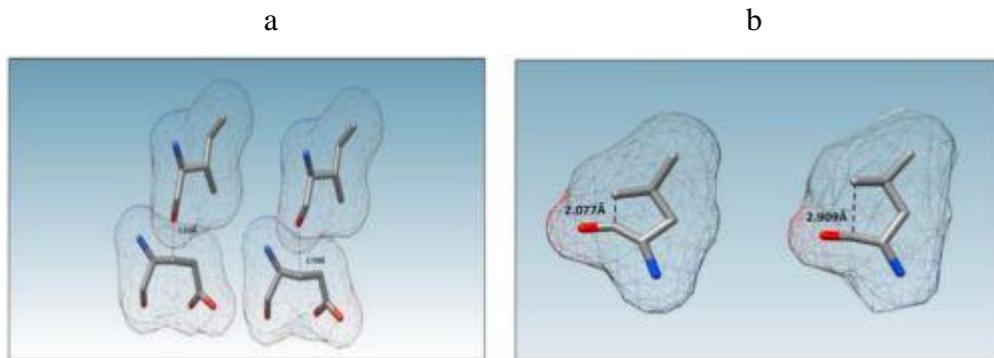
Interaksi ini terjadi pada atom sulfur dan sistem  $\pi$  dengan mengusung dua konfigurasi seperti *face on* dan *edge on* yang bisa dilihat pada Gambar 2.28. dengan jarak  $\pi$ -sulfur *face on* sebesar 4,5 Å dan 6 Å untuk  $\pi$ -sulfur *edge on*



Gambar 2.29 Interaksi  $\pi$ -sulfur (Gomez-Jeria, dkk., 2020)

## H. *Close Contact*

Hal ini diakibatkan karena jarak antarmolekul secara signifikan lebih pendek dari jari-jari Van der Waals, dengan jarak minimal 2,3 Å. Dan dapat ditingkatkan dengan cara optimasi (Brandon, dkk., 2015). Menurut Soliman dan Barakat (2016) menyimpulkan bahwa gaya tolak-menolak akan semakin besar ketika suatu molekul dengan molekul lain semakin dekat. Pada penelitian yang dilakukan Brandon, dkk. (2015) ditunjukkan pada protein 4EM1 (a) dan 4JAI (b). Pada protein 4EM1 terjadi *close contact* non-kovalen antara O-karbonil pada Ile 176 dan C $\beta$  PADA Glu 180. Dengan jarak interatomik yang awalnya sebesar 2,218 Å meningkat menjadi 2,729 Å setelah dilakukan optimasi. Sedangkan, pada protein 4JAI jarak awal interatomik sebesar 2,077 Å meningkat menjadi 2,909 Å.



Gambar 2.30 Close Contact (a) 4EM1 (b) 4AJAI (Brandon, dkk., 2015)

## 2.7 Database

Ligan dan reseptor bisa diperoleh melalui database yang terdapat di media internet. Database yang digunakan antara lain:

### 2.7.1. *Protein Data Bank* (PDB)

*Protein Data Bank* adalah satu satunya penyedia dan penyimpan informasi berupa struktur 3D protein, asam nukleat dan struktur kompleks RCSB PDB (*Research Collaboratory for Structural Bioinformatics Protein Data Bank*) saat di akses energi di <https://www.rcsb.org/.pdb> Pada penelitian ini digunakan untuk mendukung metode *docking* dengan perangkat lunak Autodock dalam menyediakan ID reseptor senyawa obat yang akan diteliti.

Dalam *protein data bank* terdapat molekul kehidupan yang ditemukan di semua organisme termasuk manusia, hewan, tanaman, bakteri dan yeast. Database dalam protein data bank tersedia tanpa biaya kepada pengguna dan diperbarui setiap minggu (Protein Data Bank, 2018).

### 2.7.2 PubChem

PubChem merupakan database kimia terbuka pada *National Institute of Health* (NIH). PubChem dapat digunakan untuk memasukkan data terkait dalam PubChem kemudian publik dapat menggunakannya. Database ini mengumpulkan informasi struktur kimia, sifat fisika kimia, aktivitas biologis, kesehatan, keamanan, data toksisitas dan lain-lain. Sejak diluncurkan pada tahun 2004, PubChem menjadi sumber informasi kimia untuk para peneliti, pelajar dan publik.

PubChem berisi mengenai informasi kimia terbuka terbesar yang mempunyai kurang lebih 94 juta senyawa yang diperoleh melalui riset, usaha pengembangan, serta jurnal. Molekul yang ada di PubChem sebagian besar adalah molekul kecil dan juga besar yaitu senyawa obat, nukleotida, karbohidrat, lipid, peptida dan makromolekul modifikasi. (PubChem, 2018).

PubChem dirancang untuk memberikan informasi tentang aktivitas biologis molekul ukuran kecil, biasanya mereka yang mempunyai ukuran molekul kurang dari 500 dalton. Penggabungan PubChem dengan *Entrez* sistem pencarian NCBI menyediakan sub atau struktur, struktur dengan kemiripan data bioaktivitas serta link ke informasi bersifat biologis dalam PubMed serta Sumber Protein Struktur 3D NCBI. Pada penelitian ini PubChem digunakan untuk mendukung *Autodock*.

### 2.7.3 PASS Online

PASS Online (*Prediction of Activity Spectra for Substances*) adalah salah satu program berbasis komputer yang bisa digunakan sebagai alat untuk memprediksikan aktivitas biologi dari suatu senyawa (Jamkhande et al.,2014).

PASS melakukan analisis berdasarkan pada hubungan antara struktur suatu senyawa dengan aktivitas yang dimilikinya atau SAR (*Structure Activity Relationship*). PASS sudah banyak melakukan percobaan yang dilakukan yakni lebih dari 205.000 senyawa yang diuji dan ternyata memiliki lebih dari 3.750 aktivitas biologi (Pramely & Raj, 2012).

Hasil prediksi dari PASS akan menunjukkan sejumlah aktivitas biologi kemungkinan aktif ( $P_a = \text{probable activity}$ ) dan kemungkinan tidak aktif ( $P_i = \text{probable inactivity}$ ). Nilai  $P_a$  dan  $P_i$  bermacam-macam dari 0,000 hingga 1,000 dan secara umum  $P_a + P_i \neq 1$ . Interpretasi dari hasil prediksi PASS adalah, (i) hanya senyawa dengan nilai  $P_a > P_i$  yang memiliki kemungkinan sebagai senyawa yang baik, (ii) jika nilai  $P_a > 0,7$  maka kemungkinan aktivitas senyawa secara eksperimental tinggi, (iii) jika nilai  $0,5 < P_a < 0,7$  maka kemungkinan aktivitas senyawa secara eksperimental rendah dan tidak seimbang dengan obat yang sudah dikenal dan (iv) jika  $P_a < 0,5$  maka kemungkinan aktivitas senyawa tersebut sangat rendah (Pramely, 2012).

#### **2.7.4 SwissADME**

ADME adalah fase farmakokinetik senyawa aktif saat masuk ke dalam tubuh yang meliputi penyerapan (absorpsi), lalu tersebar melalui ke seluruh jaringan tubuh melalui darah (distribusi), selanjutnya dimetabolisme dalam organ organ tertentu terutama hati (biotransformasi), lalu sisa atau hasil metabolisme ini dikeluarkan dari tubuh dengan ekskresi (eliminasi). Seluruh proses tersebut disebut dengan ADME (Garcia et al., 2008). Web SwissADME dapat diakses di <http://www.swissadme.ch> dan dimaksudkan untuk analisis hasil yang mudah

untuk siapapun. Dibandingkan dengan alat bantu berbasis web gratis untuk ADME dan farmakokinetik (misal Pk-CSM14 dan admet SAR15), poin kuat SwissADME adalah, non-exhaustively: metode input yang berbeda, perhitungan untuk banyak molekul, dan kemungkinan untuk menampilkan, menyimpan dan berbagi hasil per molekul individu atau melalui grafik intuisi dan interaktif global. SwissADME terintegrasi dalam ruang kerja SwissDrug Design. Interoperabilitas satu-klik memberikan akses ke berbagai alat CADD yang dikembangkan oleh *Molecular Modelling Group* dari SIB (*Swiss Institute of Bioinformatics*) (Daina et al., 2017).

## **2.8 Perangkat Lunak**

### **2.8.1 Autodock**

Autodock merupakan program *docking* yang efektif, cepat serta akurat dalam memprediksikan konformasi dan energi dari suatu ikatan antara ligan-reseptor. Autodock terbentuk dari dua program, yaitu autodock dan autogrid. Autodock digunakan untuk melakukan *docking* ligan dan reseptor dengan pengaturan grid yang telah terdeskripsi. Pendeskripsian dengan *autogrid* biasanya dilakukan sebelum *docking* di mulai. Autodock membutuhkan ruang pencarian dalam sistem koordinat dimana posisi ligan dianggap akan terikat, untuk pencarian konformasi (Morris et al., 2009).

Autogrid adalah suatu program yang digunakan sebagai perhitungan awal pada energi interaksi yang terbentuk dari peta grid untuk berbagai jenis atom, seperti karbon alifatik, karbon aromatik, oksigen ikatan hidrogen dengan makromolekul seperti protein, DNA atau RNA. Peta grid ini digunakan untuk

menentukan total energi interaksi untuk ligan dengan makromolekul. (Morris et al., 2009).

Autodock4.2 merupakan versi terbaru dari program autodock. Program ini menerapkan kombinasi dari fungsi scoring *force-field based* dengan *empirical* sehingga membentuk fungsi penilaian *semiempirical free energy force-field*. Peningkatan kinerja *scoring function* yang digunakan oleh Autodock4.2 meliputi 24 perombakan model termodinamika pada proses pengikatan, adanya model desolvasi penuh serta penggabungan model pada evaluasi ikatan hidrogen (Huey, et al, 2007).

Autodock mempunyai lebih banyak *informative web page* dibandingkan aplikasi penambatan lainnya karena aplikasi ini *free licence* sehingga dapat memudahkan pengguna untuk menjalankan aplikasi pada *molecular docking*.

### **2.8.2 UCSF Chimera**

UCSF (*University of California at San Francisco*) Chimera adalah suatu program yang secara luas digunakan untuk visualisasi interaktif dan analisis struktur molekul, serta data terkait, termasuk peta densitas, pertemuan supramolekul, penjajaran sekuens, hasil penambatan, dan trajektori. Chimera dapat menghasilkan gambar dan animasi kualitas tinggi. Dokumentasi dan beberapa tutorial dari Chimera dapat diunduh secara gratis untuk kepentingan akademik, pemerintahan, non-profit, dan untuk penggunaan pribadi. Chimera dikembangkan oleh *Resource for bicomputing, Visualization, and Informatics*, dan didanai oleh *National Center for research resource (UCSF CHIMERA: An Extensible Molecular Modelling System, 2010)*.

### **2.8.3 Discovery Studio Visualization**

Discovery Studio Visualization (DSV) merupakan perangkat lunak yang dapat digunakan sebagai alat visualisasi struktur molekul agar bisa dilihat gambaran interaktif dari struktur molekul tersebut. DSV akan menampilkan gambar berkualitas tinggi dari hasil visualisasi struktur suatu senyawa. DSV juga dapat digunakan pada Windows serta Linux dan terintegrasi dengan desktop yang menyediakan akses ke fitur sistem operasi standart seperti sistem berkas, clipboard, dan percetakan (Accelrys Enterprise Platform, 2005).

### **2.8.4 Yet Another Scientific Reality Application (YASARA)**

Yasara adalah program molekul grafis, modeling dan simulasi struktur tiga dimensi yang berisi analisis protein dan asam nukleat. Yasara untuk minimalisasi protein secara online dengan medan gaya Assisted Model Building with Enegy Refinement (AMBER), yaitu NOVA (Protein + nucleotide Optimization in Vacuo). Medan gaya Amber merupakan program mekanika molekul yang didesain untuk perhitungan asam nukleat dan pepetida. Parameter digunakan dalam optimasi berupa interaksi tak berikatan dengan pelarut dan penggunaan 38 metode atom kelompok. Visualisasi dengan Yasara dianjurkan untuk mendownload aplikasi Yasara View (Krieger, dkk., 2002).

## **BAB III**

### **METODOLOGI**

#### **3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan**

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia Komputasi Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universita Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang pada bulan November 2021 hingga Januari 2022.

#### **3.2 Alat dan Bahan**

##### **3.2.1 Alat**

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah perangkat keras yaitu Laptop dengan spesifikasi processor Intel ® Core ™ i3-6006U CPU @ 2.00GHz 1.99 Ghz, memory RAM 4GB, type 64 bit operating system, windows 10.

Perangkat lunak yang digunakan diantaranya adalah Swiss model untuk pemodelan homologi struktur protein 3D dengan hasil paling akurat untuk menghasilkan struktur protein tiga dimensi yang andal (Biasini et al, 2014), SwissADME untuk mengetahui tingkat kemiripan obat dengan melihat nilai farmakokinetik senyawa aktif saat masuk ke dalam tubuh (Garcia et al, 2008), Autodock untuk mendocking ligan pada bagian sisi aktif reseptor sehingga terjadi interaksi yang dapat dianalisis (Kroemer, 2003), PASS Online untuk memprediksi aktivitas biologi dari suatu senyawa (Jamkhande et al, 2014) .

### 3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Fibroblast Growth Factor Receptor* FGF2-FGFR1 dengan kode reseptor yang digunakan adalah 1FQ9 yang di download dari situs *protein data bank* (PDB). Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah heparin 2-12 sakarida <sup>4</sup>C<sub>1</sub> 2S dan 2SNS dengan kode ligan yang digunakan adalah 1HPN yang di download dari situs *protein data bank* (PDB).

### 3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara *in silico* menggunakan komputer. Bahan yang digunakan pada penelitian ini menggunakan struktur 3D ligan dan reseptor. Struktur yang telah diunduh dipreparasi pada Chimera. Tahap selanjutnya yakni proses *molecular docking* pada aplikasi Autodock 4.2. proses ini melewati beberapa tahapan seperti persiapan ligan serta reseptor, penentuan *Grid box*, *docking*, dan *run*. Pada proses persiapan ligan serta reseptor ini meliputi minimasi molekul H<sub>2</sub>O, penataan atom hidrogen, penambahan muatan atomik, penentuan torsi pada ligan, dan *Set Rigid Filename* pada makromolekul. Pada proses *grid* dilakukan setelah persiapan struktur selesai dengan memilih *grid box* yang aktif. Berikutnya, dilakukan pada struktur yaitu proses docking dengan pemilihan parameter *Genetic Algorithm* dan *Lamarckian GA*. Selanjutnya adalah tahap akhir dari proses ini yaitu *running* menggunakan *Command Prompt*. Running dilakukan dua cara yaitu dengan eksekusi terhadap kotak *grid* serta eksekusi docking dengan optimasi sebesar 200.

Hasil dari proses docking dapat dianalisis dengan aplikasi AutodockTools serta Discovery Studio Visualizer (DSV). Analisis pada AutodockTools diperoleh beberapa konformasi sakarida dengan energy binding yang berbeda-beda. Kemudian, dipilih beberapa molekul yang didasarkan pada energy binding paling rendah dari masing-masing kluster untuk divisualisasi pada Discovery Studio Visualizer (DSV). Proses visualisasi ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui interaksi antara ligan dan reseptor. Interaksi dapat dibandingkan dengan literatur.

Hasil pemilihan molekul dari proses penambatan kemudian divalidasi dengan cara dioptimasi menggunakan YASARA dan simulasi RMSD. Adapun tujuan dari optimasi ini agar didapatkan hasil energi yang lebih stabil dari proses sebelumnya dengan menggunakan medan gaya AMBER dan metode mekanika molekuler. Sedangkan simulasi RMSD dilakukan untuk membandingkan jarak antar atom eksperimen dengan molekul yang berada di alam. Data deskriptif masing-masing molekul dapat dianalisis energi serta jenis ikatan untuk konformasi dari masing-masing sakarida-nya.

### **3.4 Tahapan Penelitian**

Tahapan dalam penelitian ini adalah:

- a) Preparasi reseptor dan ligan
- b) Proses molecular *docking*
- c) Visualisasi molekul
- d) Validasi struktur kompleks *docking*
- e) Analisis Data

- f) Uji kemiripan obat dengan SwissADME
- g) Prediksi aktivitas antikanker dengan PassOnline

### **3.5 Prosedur Penelitian**

#### **3.5.1 Penyiapan ligan**

Ligan yang digunakan adalah senyawa heparin yang diunduh dari situs PDB (<http://www.rcsb.org>). Pengunduhan dilakukan dengan cara mengunduh file, lalu pilih format PDB. Secara otomatis file akan terunduh dan tersimpan. Setelah itu divisualisasikan pada aplikasi Discovery Studio Visualizer. diambil variasi heparin menjadi 2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12-mer dengan atom → Cut, dan disimpan dalam bentuk PDB. Setelah itu dilakukan pengaturan torsi dengan format.pdb.

#### **3.5.2 Penyiapan Protein Reseptor**

Struktur protein diunduh pada situs [www.rcsb.org/pdb](http://www.rcsb.org/pdb), Kode PDB yang digunakan adalah 1FQ9 dan dibuka pada aplikasi UCSF Chimera. Data makromolekul disimpan dalam format.pdb. selanjutnya, dilakukan optimasi reseptor dengan *File → Open → Select → Structure → protein → Invert (selected models) → Atoms/Bonds → delete*. Setelah itu ligan dan reseptor ditambahkan hidrogen dan muatan di Chimera, dengan *Tools → Structure Editing → Add H → OK dan Structure Editing → Add Charge →OK*. File disimpan dalam bentuk PDB.

#### **3.5.3 Proses Penambatan Molekuler (*Molecular Docking*) menggunakan Autodock 4.2**

Proses docking ini dilakukan setelah melalui tahap preparasi ligan dan reseptor sehingga ligan dan reseptor siap digunakan.

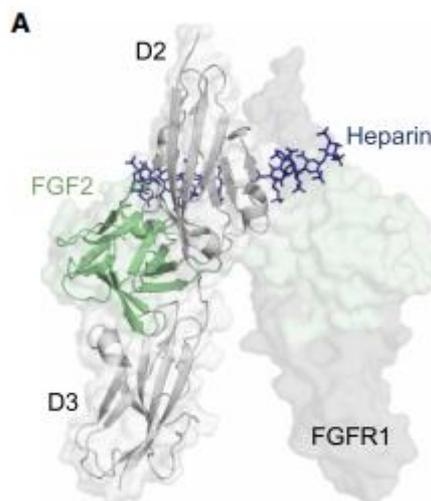
Masing-masing ligan yang akan berinteraksi dengan protein dibuat fleksibel dengan makromolekul yang rigid.

#### 1. Persiapan ligan-reseptor

File ligan dibuka dalam bentuk PDB, kemudian klik *edit* → *delete water*, *add hydrogen*, penetapan jenis atom (Assign AD4 type), dan pemilihan muatan (Compute Gasteiger). Tahap berikutnya klik *Ligand* → *Input* → *Choose ligand* → *Select* dan *Input* → *Torsion Tree* → *Choose root* → *Detect root* kemudian disimpan dalam bentuk PDBQT. Buka file dalam bentuk PDB, lalu *edit* dengan *delete water* dan *add hydrogen (all polar)*, lalu simpan dalam bentuk file PDBQT.

#### 2. Penentuan *Grid box*

Menentukan sisi pengikatan protein dengan klik *grid* → *Macromolecule* → *Choose*. lalu, pilih *Set Map Types* → *Open Ligand* dan *Set Map Types* → *Choose Ligand* → klik *ligan* → *Select*. Pada penentuan posisi aktif pengikatan molekul dengan klik *Grid* setelah itu akan kotak perintah untuk menentukan ukuran *grid box* X: 80,4594, Y: 23,0947, Z: 104,054 dan volume *grid* sebesar 90 x 90 x 90 Å, dengan *spacing* 0,375 (default) lalu disimpan ke bentuk file *grid* parameter (GPF). Molekul FGF2-FGFR1 akan menstabilkan heparin pada sisi aktif D3-FGFR1 dan domain mirip immunoglobulin D2-FGF2 seperti pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 FGF2:FGFR1:heparin terner kompleks (Farrell dan Breeze, 2018)

### 3. Proses *Docking*

Proses penambatan ini menggunakan parameter *Genetic Algorithm* dan *Lamarckian GA*. Dengan langkah awal memilih *Macromolecule* → pilih *Set Rigid Filename* dan pilih *Ligand* → *Choose* → *Select* → *Accepted*. Kemudian klik *Search Paramters* → *Genetic Algorithm* → *number runs of GA 200* → *Docking Parameters* → *Accepted* dan *Output* → *Lamarckian GA*, setelah itu file disimpan dalam bentuk file *docking parameter* (DPF).

### 4. *Running molecular docking*

Pada proses running molekular *docking* ini menggunakan *Command Prompt* untuk *Autogrid* (`autogrid4 -p file.gpf -l file.glg`) sehingga dihasilkan file GLG dan *Autodock* (`autodock4 -p file.dpf -l file.dlg`) dihasilkan file DLG.

#### 3.5.4 Visualisasi Hasil Docking

Visualisasi hasil docking dilakukan menggunakan aplikasi *AutodockTools* dan *Discovery Studio Visualizer*. Visualisasi menggunakan *AutodockTools* digunakan untuk mengetahui konformasi dan energi binding tiap sakarida.

Program AutodockTools dibuka, lalu kompleks hasil penambatan molekul dibuka dengan klik *Analyze* → *Dockings* → *Open*, format file dalam bentuk *dlg*. Selanjutnya klik *Analyze* → *Macromolecule* → *Open*. Terakhir, klik *Analyze* → *Conformations* → *Play* → *Load*. Simpan molekul docking dengan beberapa kluster konformasi sakarida dalam bentuk file PDB. dengan membuka file hasil *docking* dengan format *.dlg*. kemudian dipilih molekul dengan energi paling rendah dan disimpan dalam format *.pdb*.

Discovery Studio digunakan untuk mengetahui jarak dan jumlah ikatan hidrogen, elektrostatik, interaksi pi-pi, interaksi pi-alkil, interaksi pi-kation, dll. Discovery Studio dibuka, lalu kompleks hasil penambatan molekul dibuka denganklik file dengan format file PDB. Selanjutnya pilih ligand-interaction untuk menampilkan visualisasi dalam bentuk 2D atau 3D.

### **3.5.5 Validasi Kompleks Docking**

Validasi metode docking dilakukan dengan metode redocking menggunakan ligan natif atau ligan alami (8 sakarida) dari struktur FGF2-FGFR1 dengan kode PDB 1FQ9. Setelah itu dilakukan optimasi kompleks docking dari 10 kulster yang telah dipilih berdasarkan nilai energi ikatan terendah pada heparin 8 sakarida. minimasi docking pada web Yasara (<http://www.yasara.org/minimizationserver.htm>) sehingga dihasilkan file yasara scene dan diperoleh energi. Kemudian dibuka file pada aplikasi Yasara View dan disimpan dalam format *.pdb*.

### 3.5.6 Analisis Data

Hasil dari penambatan molekul pada penelitian ini yang akan dianalisis meliputi energi bebas Gibbs, nilai konstanta inhibisi, ikatan hidrogen dan kemiripan residu asam amino dari masing-masing ligan uji.

Pada analisis data deskriptif ini dilakukan pada hasil optimasi kompleks docking dari beberapa konformasi sakarida beberapa cluster yang sudah divisualisasi. Analisis data ini meliputi: Energi paling stabil serta jenis ikatan dari ligan dan reseptor yang terkuat.

### 3.5.7 Uji Sifat Fisikokimia Obat Menggunakan SwissADME

Setelah dilakukan *docking* senyawa uji langkah selanjutnya yaitu memprediksi farmakokinetika dari senyawa di dalam tubuh menggunakan aplikasi SwissADME dalam web [www.swissadme.ch](http://www.swissadme.ch).

Parameter uji fisikokimia meliputi hukum 5 Lipinski yang terdiri atas :

Tabel 3.1 Parameter Uji Fisikokimia

No.	Parameter	Keterangan	Rentang
1	Berat Molekul (BM)	Berat setiap atom berdasarkan struktur kimianya dan tidak memperhitungkan kompleksitas, ukuran, atau bentuk molekul (Chagas, <i>et al</i> , 2018)	$\leq 500$ Da (Lipinski, 2004) 130 – 725 g/mol (Chander <i>et al.</i> , 2017)
2	Log P	Nilai logaritma koefisien partisi oktanol/air	$\leq +5$ (Lipinski, 2004) -2 sampai +6,5 (Chander <i>et al.</i> , 2017)
3	<i>Hydrogen Bond Acceptors</i> (HBA)	Ikatan hidrogen (H) akseptor.	$\leq 10$ (Lipinski, 2004) 2 – 20 (Chander <i>et al.</i> , 2017)
4	<i>Hydrogen Bond Donor</i> (HBD)	Ikatan hidrogen (H) donor.	$\leq 5$ (Lipinski, 2004) 0 – 6 (Chander <i>et</i>

			<i>al.</i> , 2017)
5	Torsion	Ikatan antar atom yang dapat berotasi	$\leq 10$ (Chagas <i>et al.</i> , 2018)

### 3.5.8 Prediksi Aktivitas Antikanker Menggunakan PASS *Online* (*Prediction of Activity Spectra for Substances*)

Prediksi aktivitas antikanker menggunakan software PASS *Online*, yakni mencari SMILES dari senyawa heparin di web PubChem. Selanjutnya dibuka software PASS *Online* dengan memasukkan SMILES senyawa ligan kemudian dilakukan prediksi aktivitas dengan mengklik *Get prediction*.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Persiapan Makromolekul FGF2-FGFR1

##### 4.1.1 Pengunduhan Makromolekul

Tahap awal dalam penelitian ini adalah pengunduhan makromolekul FGF2-FGFR1 sebagai target dalam penambatan. Struktur yang sesuai identitas berkode 1FQ9 dengan klasifikasi *Growth Factor/Growth Factor Receptor* dan organisme Homo sapiens. Dari pencarian melalui laman Protein Data Bank (PDB) didapatkan makromolekul FGF2-FGFR1 yang diunduh strukturnya dengan format *.pdb*. Struktur 1FQ9 mempunyai dua subunit protein dimer dengan dua ligan yang terikat dengan hasil difrasi sinar X. Data yang diperoleh dari struktur protein 1FQ9 yang diunduh tertera pada Tabel 4.1.

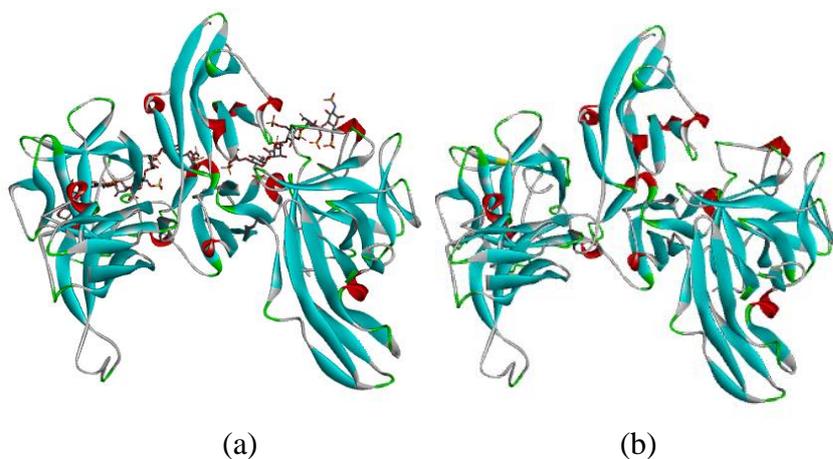
Tabel 4.1 Klasifikasi makromolekul 1FQ9

No	Identitas	Sub Unit	Ligan Terikat	Jenis Enzim	Resolusi
1	1FQ9	FGF (A,B) FGFR (C,D)	Heparin 8 sakarida Heparin 6 sakarida	kinase	3,00 Å

##### 4.1.2 Pemisahan Rantai FGF2-FGFR1

Makromolekul yang dihasilkan dari unduhan Protein Data Bank berupa struktur yang terikat dengan ligan atau residu non-standar sehingga dapat mempengaruhi proses penambatan. Keberadaan ligan yang terikat pada sisi aktif bisa menghalangi ligan lain untuk berikatan, sehingga struktur tersebut perlu dipisahkan sehingga didapatkan makromolekul FGF2-FGFR1 untuk hasil yang utuh serta siap menjadi target penambatan.

Residu non-standar seperti IDS,SGN,IDU,UAP dihilangkan dengan menggunakan perangkat lunak UCSF Chimera. Pemotongan dengan perangkat ini tidak akan mengubah susunan atom-atom yang lain. Hasil struktur yang didapat berupa FGF2 dengan unit A dan B serta FGFR1 dengan unit C dan D. Makromolekul yang dipakai adalah struktur dimer. Adanya ligan FGF2 mampu memisahkan domain transmembran heliks  $\alpha$  dan fosforilasi kinase, sehingga fosforilasi bisa meningkat. Ligan FGF2 dimer mampu meningkatkan fosforilasi sebesar 20-40%, sehingga dapat memberikan transduksi sinyal serta pengaturan aktivitas enzimatik. Status FGFR1 aktif yang terikat ligan akan berkorelasi dengan aktivitas biologis. Molekul FGF2-FGFR1 terikat ligan dan molekul setelah penghilangan ligan ditunjukkan pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 (a) FGF2-FGFR1 terikat ligan  
(b) FGF2-FGFR1

#### 4.1.3 Preparasi Makromolekul FGFR1-FGF2

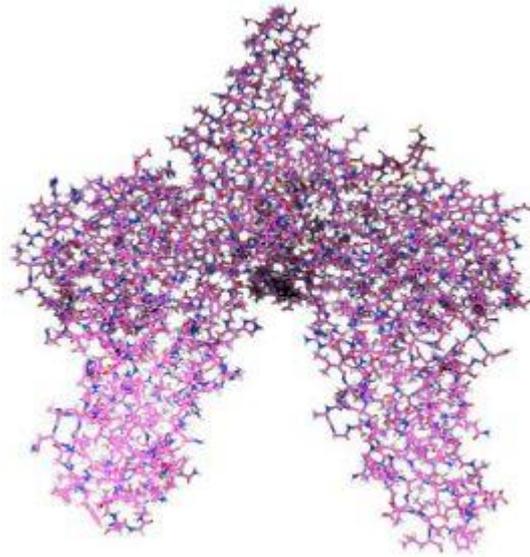
Tahapan preparasi bertujuan untuk memperbaiki kekurangan data dari tahap yang sebelumnya sehingga sesuai dengan lingkungan penambatan. Preparasi dilakukan dengan perangkat lunak Discovery Studio Visualization (DSV), UCSF Chimera, dan Autodocktools. Persiapan dengan aplikasi DSV

bermula untuk menambahkan *missing residues* pada struktur FGF2-FGFR1 yang telah diunduh pada Protein Data Bank. Penambahan *missing residues* ini dilakukan karena residu yang hilang akan memungkinkan berada pada situs aktif protein.

Tahap selanjutnya yakni persiapan makromolekul pada program chimera dengan langkah awal penambahan hidrogen dan muatan. Penambahan hidrogen berdasarkan pertimbangan model secara terpisah ikatan hidrogenya pada tiap residu. Penambahan ini berfungsi pada saat penambatan untuk interaksi molekuler yaitu ikatan hidrogen dan juga untuk menyesuaikan suasana penambatan agar bisa mendekati pH di dalam tubuh. Muatan yang ditambahkan kedalam atom mengacu pada residu standard AMBER ff14SB serta residu lainnya AM1-BCC. Metode ini secara komputasi telah dipelajari oleh ilmuwan dengan menggunakan pelarut model eksplisit untuk simulasi dinamika molekuler, mekanika molekuler, dan Monte Carlo dengan medan gaya mekanika molekuler empiris, sehingga fungsi parameterisasi menjadi efisien dan dapat menghitung sifat dan gerakan sistem besar dari protein, asam nukleat serta molekul organik (Cieplak, dkk., 1995).

Tahap selanjutnya preparasi makromolekul FGF2-FGFR1 menggunakan aplikasi Autodocktools untuk penghilangan molekul air. Pada umumnya struktur protein pada PDB mengandung molekul pelarut berupa air dan residu lainnya, sehingga diperlukan untuk menghapus molekul air agar tidak mengganggu pada saat simulasi docking dilakukan dan untuk memastikan bahwa yang benar-benar berinteraksi adalah ligan dan reseptor. Pada saat proses penambatan terjadi, air yang ada kemungkinan akan terikat dengan ligan sehingga membentuk ikatan hidrogen. Selain itu juga perlu ditambahkan hidrogen. Penambahan atom hidrogen

juga dilakukan untuk menyesuaikan suasana docking agar mendekati pada pH 7. Molekul FGFR1-FGFR2 setelah dilakukan preparasi dengan chimera dan autodocktools ditunjukkan pada Gambar 4.2.

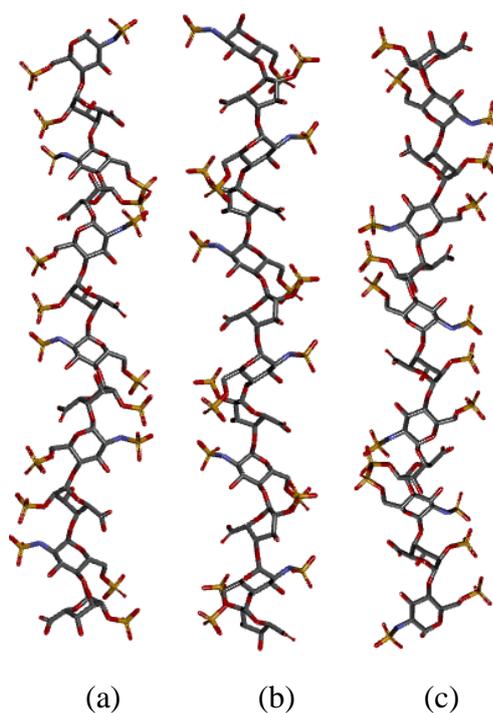


Gambar 4.2 Molekul FGF2-FGFR1 setelah preparasi

#### 4.2 Preparasi Ligan Heparin

Struktur ligan heparin dapat diunduh melalui laman Protein Data Bank dengan kode 1HPN dengan format pdb. Struktur heparin ini terdiri 12 sakarida dengan residu SGN1 – IDS2 – SGN3 – IDS4 – SGN5 – IDS6 – SGN7 – IDS8 – SGN9- IDS10- SGN11 – IDS12 dengan sulfasi 2SNS dan terdapat dua konformasi yaitu  ${}^2S_0$  dan  ${}^1C_4$ .

Struktur ini merupakan klasifikasi dari GAG (Glikosaminoglikan) dengan metode NMR. Berikut heparin dengan tiga konformasi dapat dilihat pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3 (a) Heparin Konformasi  ${}^1C_4$   
 (b) Heparin konformasi  ${}^2S_0$   
 (c) Heparin konformasi  ${}^4C_1$

Keterangan :

- Stick warna merah : atom O
- Stick warna kuning : atom S
- Stick warna biru : atom N
- Stick warna abu-abu : atom C

Heparin sebelum menjadi liganambat yang sempurna dan akan berinteraksi dengan reseptor harus melewati proses preparasi terlebih dahulu. Tahap pertama yaitu dilakukan pemotongan struktur heparin konformasi  ${}^2S_0$  (model 1) pada perangkat lunak DSV sehingga diperoleh setruktur heparin iduronat dengan konformasi  ${}^1C_4$  (model 2). Pemotongan ini dilakukan agar tidak terjadi adanya tumpang tindih antar konformasi heparin pada saat penambatan sehingga hanya diperoleh hasil yang lebih spesifik dari *docking* dengan satu konformasi. Heparin  ${}^4C_1$  dipilih untuk dilakukan *docking* karena pada bentuk ini keseimbangan konformasi L-IdoA2S ketika bergeser kearah kursi  ${}^4C_1$  maka akan

berada pada terminal non-pereduksi, sehingga dalam keadaan terikat protein dapat membuat interaksi elektrostatik yang menguntungkan dengan asam amino basa pada protein (Ferro et al., 1990). Heparin <sup>4</sup>C<sub>1</sub> dijadikan heparin tersulfasi Iduronat 2-O-Sulfat (2S) dan N-sulfat glukosamin (2SNS). Banyaknya pola sulfasi pada heparin akan mempengaruhi interaksi yang terjadi dengan reseptor. Menurut penelitian Babik, dkk., (2017) bahwa ligan heparin akan selektif pada FGF2 dengan cara mengenali variasi struktur yang dimiliki Iduronat-Glukosamina-Iduronat dengan sulfasi IdoA2S-GlcNS-IdoA2S (IGI) daripada variasi struktur (GIG).

Ligan heparin <sup>1</sup>C<sub>4</sub> setelah pemotongan dilakukan perubahan konformasi menjadi <sup>4</sup>C<sub>1</sub> pada aplikasi hyperchem. Setelah itu, dilakukan optimasi dengan menggunakan medan gaya AMBER. Kemudian, dilakukan preparasi pada perangkat lunak autodocktools dengan menghilangkan air, penambahan hidrogen, Assign AD4 Type, serta penambahan muatan gasteiger. Molekul H<sub>2</sub>O dihapus karena dapat mengganggu terikatnya molekul ketika dalam proses *docking*. Ligan ditambahkan hidrogen berupa polar untuk menjadi ikatan hidrogen. Metode *no bond order* untuk berinteraksi menjadi ikatan hidrogen. Metode ini dipilih karena pada file pdb tidak didapat informasi mengenai orde ikatan. Assign AD4 Types digunakan untuk penambahan unsur yang sesuai dengan jenis atom autodock ke setiap atom-atom. Untuk menghitung scoring function dengan penandaan atom ke tipe autodock adalah dengan energi interaksi. Menurut Huey dan Moris (2006) bahwa jenis atom AD4 dapat berupa NA untuk semua atom pada cincin misalnya atom karbon cincin diberi nama tipe autodock “NA”, “OA”, “SA” yang dapat menerima ikatan hidrogen, sedangkan yang tidak dapat menerima ikatan hidrogen

diberikan dengan tipe nama N,O,S dan semua hidrogen yang dapat menyumbangkan sepasang elektron ke hidrogen obligasi diberi tipe nama “HD”.

Penambahan muatan pada ligan yaitu dengan menambahkan muatan gasteiger untuk menyesuaikan dengan lingkungan penambatan molekul sehingga dapat dilakukan perhitungan dengan benar (Kolina, dkk., 2018). Muatan ini secara otomatis ditambahkan pada ligan ketika sudah diinput dan otomatis atom hidrogen diatur sesuai *merge non-polar* sehingga hanya hidrogen polar yang akan berinteraksi dengan protein (Sari, dkk., 2020).

### **4.3 Penambatan Molekuler (*Moleculer Docking*)**

Penambatan molekuler dilakukan menggunakan aplikasi *Autodock*. Penambatan molekuler ini melewati dua tahapan perhitungan yaitu *autogrid* dan *autodock*. *Autogrid* sendiri merupakan salah satu modul dalam program *autodock* 4.2 yang berfungsi untuk membuat kotak kisi-kisi (grid box) perhitungan energi interaksi. Teknik menghitung energi interaksi dengan membagi area energi menjadi kotak kisi-kisi energi yang kecil-kecil ini akan mempercepat perhitungan energi secara komputasi. Box tersebut dipilih kemudian diletakkan pada suatu lokasi pada situs protein yang akan dilakukan perhitungan energi interaksinya dengan ligannya. Perhitungan energi interaksi ini dilakukan untuk setiap jenis atom yang berinteraksi. Setiap jenis atom akan memiliki peta kisi-kisi energinya tersendiri. Kemudian energi interaksi total merupakan penjumlahan energi interaksi tiap-tiap jenis atom yang berinteraksi dari tiap-tiap kisi pada luasan daerah tertentu dimana interaksi itu terjadi. Sedangkan, *autodock* ialah modul untuk melakukan proses *running docking* molekuler sehingga didapatkan berbagai konformasi ligan dalam protein. *Autodock* nantinya ditentukan menggunakan

parameter *Genetic Algorithm dan Lamarckian GA*. Konformasi dihasilkan dari docking dan dirangkum dalam file *docking log* (file *dlg*). Penambatan dapat terjadi dengan beberapa pengaturan terkait kondisi dan algoritma yang dipilih dalam proses *docking*.

Proses selanjutnya adalah pengaturan parameter *docking* menggunakan GA dan LGA. Parameter GA adalah simulasi molekul docking yang menerapkan analogi teori evolusi dan seleksi alam. GA dipakai untuk kombinasi ulang serta mencari kombinasi terbaik dari konformasi ligan dalam reseptor dengan energi yang luas. Tahap pertama dari pendekatan GA yaitu dengan mengkodekan konformasi awal selanjutnya diterjemahkan untuk dilakukan perhitungan ke konformasi yang paling beradaptasi (*lowest energy*) untuk generasi populasi berikutnya. Menurut Ferreira, dkk. (2015) bahwa proses ini akan menurunkan energi rata-rata konformasi dengan mentransmisikan karakteristik struktural, sehingga akan mengurangi konformasi yang di telusuri. Parameter GA yang digunakan pada *Number of GA Runs* sebesar 200 dan *Maximum Number of Evaluations* medium sebesar 250,000.

Pendekatan berikutnya, Lamarckian GA yang berfungsi untuk mencari ruang konformasi serta menemukan energi minimum yang selanjutnya diteruskan ke generasi berikutnya. Kombinasi parameter GA dan Lamarckian GA dipakai untuk reseptor-ligan yang fleksibel. Ligan akan diarahkan pada berbagai posisi yang memungkinkan dengan memakai parameter ini. Menurut Fuhrmann, dkk. (2010) bahwa yang diharapkan dari pendekatan ini adalah memiliki presisi yang tinggi dan waktu pengoperasian yang efisien. Dibandingkan dengan metode Simulated Annealing yang dipakai untuk mengoptimalkan molekul logam dimana

massa energi potensial diminimasi dan bergantung pada temperatur dingin. Sedangkan Local Search hanya menggunakan satu gradien untuk mengevaluasi dan untuk evaluasi selanjutnya mengambil langkah yang telah ditentukan.

Proses *docking* dilakukan dengan *command prompt* untuk *running*. Running autogrid dari format.gpf akan menghasilkan output format.glg. selanjutnya, running autodock dari format.dpf akan menghasilkan format.dlg dalam waktu yang berbeda tergantung pada panjang residu ligan. Langkah-langkah penambatan molekul heparin dan FGF2-FGFR1 ditunjukkan pada Lampiran 1.

#### **4.4 Redocking Heparin Natif**

Proses melakukan docking kembali struktur natif atau biasa disebut dengan proses *Redocking* terhadap protein FGFR1-FGF2. Dalam prosesnya *redocking* ini bertujuan untuk melihat kemiripannya dengan struktur natif di alam, sehingga dapat juga digunakan sebagai acuan untuk memvalidasi molekul docking eksperimen dianalisis energi dan interaksinya sehingga heparin dapat memiliki aktivitas biologis yang sama dengan molekul natif pada FGFR1- FGF2. Struktur natif heparin 2SNS(6S) 8 sakarida pada molekul 1FQ9 di docking kembali pada FGFR1-FGF2 pada sisi aktifnya. Proses pemilihan struktur natif 8 sakarida ini didasarkan pada kemungkinannya struktur ini memiliki aktivitas biologi yang lebih kuat dibanding dengan struktur natif 6 sakarida. Parameter keberhasilan yang digunakan sebagai prediksi berhasilnya terikat kembali antara ligan dan protein adalah dengan melihat RMSD (*Root Mean Square Derivation*)

Nilai RMSD dari hasil *redocking* heparin natif berfungsi untuk mengetahui keberhasilan ligan natif *redocking* menempati posisi sebagaimana keadaan terikat di awal dengan reseptor FGF2-FGFR1. Hasil docking dapat dilihat kemiripannya dari nilai reference RMSD tiap kluster konformasi pertama. Reference RMSD tiap kluster ditunjukkan pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil file DLG heparin 8 sakarida natif

Kluster	Konformasi	Energi <i>Binding</i>	Kluster RMSD	Reference RMSD
1	1	-29,43	0,00	0,98
1	2	-29,28	1,04	1,17
1	3	-28,73	1,05	.1,10
1	4	-28,56	1,08	1,02
1	5	-27,47	1,02	0,91

Berdasarkan file hasil docking heparin 8 sakarida memiliki nilai reference RMSD yang bervariasi pada tiap klusternya pada konformasi pertama. Pada kluster pertama nilai reference RMSD lebih kecil daripada kluster lainnya, artinya struktur alami yang di docking mempunyai kemiripan yang tinggi dengan struktur di alam. Nilai RMSD dari hasil *redocking* heparin natif berfungsi untuk mengetahui keberhasilan heparin natif *redocking* menempati posisi sebagaimana keadaan terikat di awal dengan reseptor FGF2-FGFR1. Heparin 8 sakarida natif dari lima konformasi memiliki nilai reference RMSD  $\leq 2$ , maka struktur dianggap tidak berbeda jauh dengan struktur heparin di alam serta mempunyai fungsi biologis yang sama. Sedangkan, nilai reference RMSD  $\geq 2$  memiliki struktur dan fungsi biologis berbeda dari struktur di alam menurut Manalu. (2021).

#### 4.5 Visualisasi Interaksi *Molecular Docking*

Pada perancangan obat menggunakan metode penambatan molekul ini digunakan untuk memahami adanya interaksi pada obat. Sehingga, hasil daripada docking ini didapatkan berbagai variasi konformasi. Adanya interaksi dari ligan dengan makromolekul akan menunjukkan beberapa ikatan diantaranya: ikatan hidrogen, interaksi elektrostatik, ikatan pi dan beberapa ikatan hidrofobik. Interaksi antara ligan heparin dengan reseptor ini memiliki kekuatan ketika terikat pada residu asam amino Lysin: Lys 160, Lys 163, Lys 172, Lys 175, dan Lys 177 (Plotnikov dkk., 1999). Sedangkan, situs pengikatan heparin dengan afinitas tinggi terdiri dari asam amino Asparagin (Asn) 27, Lysin (Lys) 125, Glutamin (Gln) 134, dan Arginin (Arg) 120 dengan ikatan berafinitas rendah oleh asam amino Lys 26 dan Lys 135.

Heparin natif 8 sakarida mampu berinteraksi pada residu dalam ruang lingkup afinitas dengan FGFR1-FGF2. Interaksi dari ligan heparin 8 sakarida natif dan FGFR1-FGF2 ditunjukkan pada Tabel 4.3.

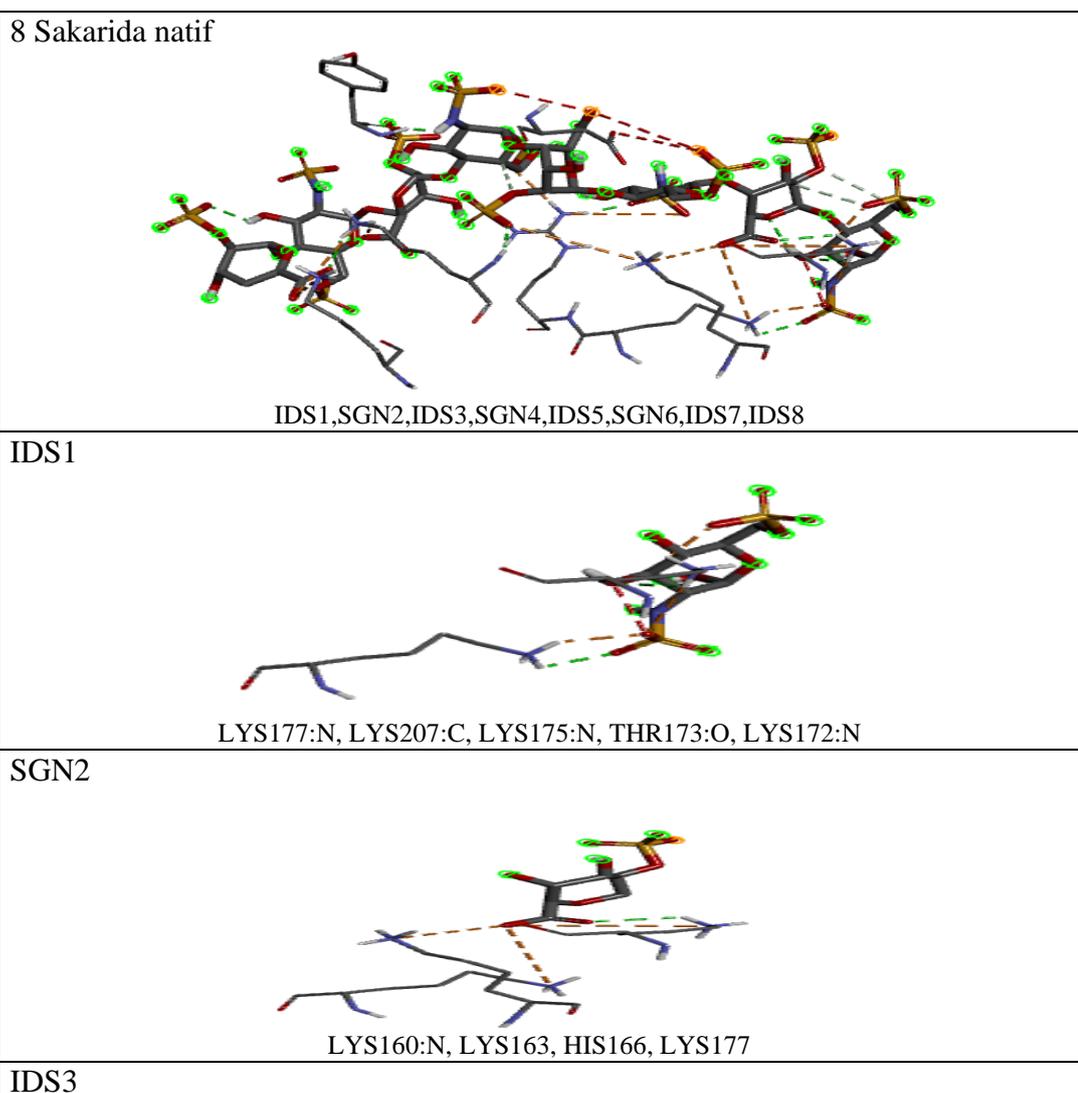
Tabel 4.3 Interaksi heparin 8 sakarida natif dan FGFR1-FGF2 Menggunakan Program DSV (Discovery Studio Visualizer)

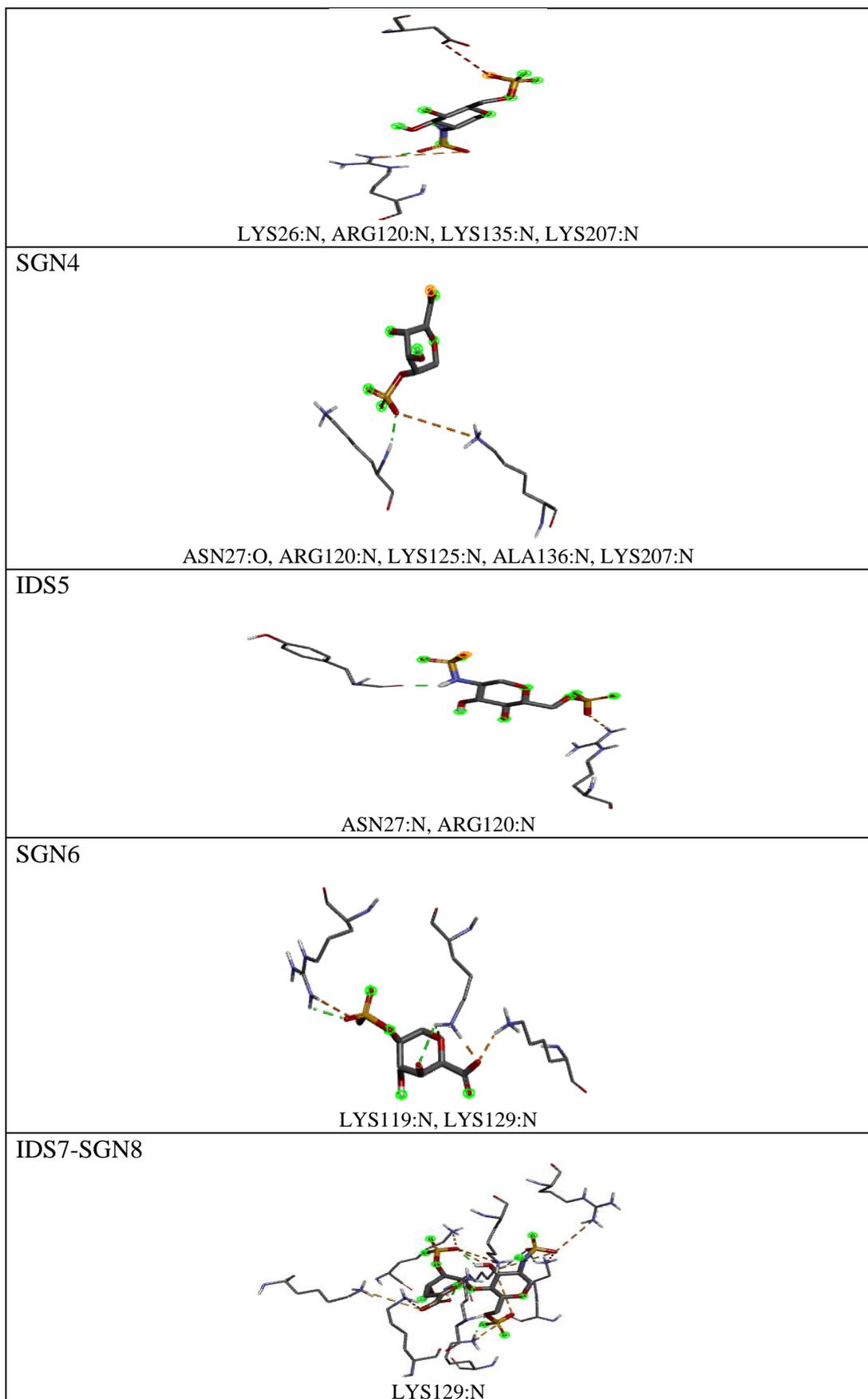
Interaksi	Jenis Ikatan
A:LYS119:HZ2 - E:SGN1:O3S	Ikatan Hidrogen;Elektrostatik
A:ARG120:HH21 - E:SGN5:O5S	Ikatan Hidrogen;Elektrostatik
A:LYS129:HZ3 - E:SGN1:O6S	Ikatan Hidrogen;Elektrostatik
A:LYS135:HZ2 - E:IDS6:O6B	Ikatan Hidrogen;Elektrostatik
D:LYS207:HZ2 - E:IDS6:O6B	Ikatan Hidrogen;Elektrostatik
A:LYS26:NZ - E:UAP8:O6B	Elektrostatik
A:LYS119:NZ - E:IDU2:O6	Elektrostatik
A:ARG120:NH2 - E:SGN3:O1S	Elektrostatik
A:LYS125:NZ - E:IDU2:O6	Elektrostatik
A:LYS125:NZ - E:IDS4:O2S	Elektrostatik
A:LYS129:NZ - E:SGN1:O3S	Elektrostatik
A:LYS129:NZ - E:IDU2:O6	Elektrostatik
A:LYS135:NZ - E:UAP8:O6B	Elektrostatik
C:LYS160:NZ - E:SGN7:O3S	Elektrostatik
C:LYS163:NZ - E:SGN7:O6S	Elektrostatik
C:LYS172:NZ - E:UAP8:O6B	Elektrostatik

C:LYS175:NZ - E:UAP8:O3S	Elektrostatik
C:LYS177:NZ - E:SGN7:O6S	Elektrostatik
C:LYS177:NZ - E:SGN7:O3S	Elektrostatik
C:LYS177:NZ - E:UAP8:O3S	Elektrostatik
D:LYS207:NZ - E:UAP8:O3S	Elektrostatik
D:ARG209:NH1 - E:IDS6:O3S	Elektrostatik
D:ARG209:NH1 - E:SGN7:O3S	Elektrostatik
A:LYS119:HZ1 - E:SGN1:O2S	Ikatan Hidrogen
A:ARG120:HH22 - E:SGN3:O3S	Ikatan Hidrogen
A:LYS129:HZ2 - E:SGN1:O3	Ikatan Hidrogen
A:LYS129:HZ3 - E:IDU2:O61	Ikatan Hidrogen
A:LYS135:HN - E:IDS4:O2S	Ikatan Hidrogen
A:LYS135:HZ1 - E:UAP8:O6A	Ikatan Hidrogen
C:LYS160:HZ2 - E:SGN7:O2S	Ikatan Hidrogen
C:LYS163:HZ1 - E:SGN7:O6	Ikatan Hidrogen
C:LYS177:HZ1 - E:SGN7:O3	Ikatan Hidrogen
C:LYS177:HZ2 - E:SGN7:O2S	Ikatan Hidrogen
C:LYS177:HZ3 - E:SGN7:O3	Ikatan Hidrogen
D:LYS207:HZ3 - E:IDS6:O5	Ikatan Hidrogen
D:LYS207:HZ3 - E:IDS6:O4	Ikatan Hidrogen
D:ARG209:HH12 - E:IDS6:O2S	Ikatan Hidrogen
E:SGN1:H3 - E:IDU2:O5	Ikatan Hidrogen
E:SGN5:H2 - D:TYR206:O	Ikatan Hidrogen
E:SGN7:H3 - E:UAP8:O3S	Ikatan Hidrogen
E:SGN1:C6 - E:IDU2:O2	Ikatan Hidrogen
E:IDU2:C3 - E:SGN1:O6S	Ikatan Hidrogen
E:SGN5:C5 - E:IDS4:O2	Ikatan Hidrogen

Residu pada heparin natif mampu mengikat molekul yang menghasilkan dua jenis ikatan seperti ikatan hidrogen dan elektrostatik. Hal ini dapat terjadi karena menyatakan ikatan hidrogen dan elektrostatik jembatan garam secara bersamaan. Interaksi ini terjadi karena terdapat gugus muatan yang berlawanan NH<sup>+</sup>---O<sup>-</sup>, dan terlihat jarak ikatan kurang dari 3,4 Å yang menyatakan syarat jarak dari ikatan hidrogen 3,4 Å dan sudut XDA dan DAY kurang dari 180. Residu heparin non-ikatan dengan situs aktif menghasilkan ikatan hidrogen, elektrostatik, dan interaksi pi-sulfur. Ikatan hidrogen yang dihasilkan berupa ikatan jenis hidrogen klasik dan karbon hidrogen. Ikatan hidrogen klasik terjadi karena

terdapat ikatan N---O dan O---O dengan satu pasangan elektron bebas. Interaksi ini menghasilkan jarak kurang dari 3,4 Å dan sudut kurang dari 180. Ikatan karbon hidrogen terjadi karena karbon terpolarisasi yang berdekatan dengan atom N atau O berinteraksi dengan atom akseptor. Jarak yang dimiliki oleh interaksi ini kurang dari 3,8 Å dan sudut kurang dari 180. Peran interaksi elektrostatik dalam pengikatan situs aktif berupa muatan tarik menarik. Interaksi ini terjadi pada atom yang memiliki muatan formal penuh atau fraksi berlawanan antara N---O dengan jarak kurang dari 5,6 Å. Interaksi pi-sulfur terjadi antara atom sulfur dan sistem pi dengan jarak kurang dari 6 Å.





Gambar 4.4 Visualisasi interaksi heparin 8 sakarida natif pada FGFR1-FGF2 Menggunakan Program DSV (Discovery Studio Visualizer)

Keterangan:

- Garis putus-putus orange : interaksi elektrostatis, jembatan garam, pi-sulfur
- Garis putus-putus hijau : ikatan hidrogen konvensional
- Garis putus-putus putih : ikatan hidrogen karbon

Docking pada heparin sakarida 2 hingga 12 sakarida pada reseptor mempunyai interaksi yang bervariasi setiap konformasinya. Interaksi antara heparin dengan FGFR1-FGF2 mampu mempengaruhi energi serta aktivitas biologi yang dihasilkan. Interaksi antara struktur heparin 2 hingga 12 sakarida 2S dan 2SNS dengan FGFR1-FGF2 ditunjukkan pada Tabel 4.4

Tabel 4.4 Interaksi heparin sulfasi 2S dan 2SNS 2-12 sakarida

Sakarida Heparin	Interaksi Molekul <i>Docking</i>	
	2S	2SNS
2 sakarida	A:LYS26:N (H,E)* A:LYS135:N (H,E)* C:LYS172:N (H,E)* A:LYS26:H (H,E) A:LYS135:H (H,E)* C:LYS172:H (H,E) C:LYS175:O (H) C:LYS175:O (H) C:THR173:O (H) A:ASN27:C (H) C:LYS163:C (H) A:ASN27:O (H) C:HIS166:N (Phi)	A:LYS26:H (H,E) C:LYS175:H (H,E) C:LYS177:H (H,E)* A:LYS135:N (E)* C:LYS172:N (E)* A:LYS26:H (H) A:LYS135:H (H)* C:LYS163:H (H)* C:HIS166:H (H) C:LYS172:H (H) C:LYS175:H (H) C:LYS177:H (H)* C:LYS175:O (H) THR173:O (H) C:LYS163:C (H) A:TYR103:O (H) C:ALA167:O (H)
3 sakarida	A:LYS26:N (E)* A:ARG44:N (E) A:LYS135:N (E)* C:LYS172:N (E)* A:LYS26:H (H) A:LYS26:H (H) A:ARG44:H (H)	A:LYS26:H (H,E) A:LYS135:H (H,E)* A:LYS135:N (E)* C:LYS163:N (E)* C:LYS172:N (E)* C:LYS175:N (E)* C:LYS177:N (E)*

	A:LYS135:H (H)* C:LYS163:H (H)* C:LYS163:H (H)* C:HIS166:H (H) C:LYS172:H (H) C:GLU159:O (H) A:LYS26:O (H) A:GLY28:C (H) C:GLU159:O (H) C:LYS160:O (H) C:LYS163:O (H) A:TYR24:O (H) C:ALA167:O (H)	A:LYS26:H (H) C:LYS163:H (H)* C:LYS172:H (H) C:LYS172:H (H) C:LYS177:H (H)* C:LYS177:H (H)* C:LYS175:O (H) C:LYS163:C (H) A:TYR24:O (H) C:ALA167:O (H)
4 sakarida	A:LYS26:N (E)* A:LYS135:N (E)* C:LYS160:N (E)* C:LYS177:N (E)* A:LYS26:H (H) C:LYS160:H (H)* C:LYS172:H (H) C:LYS172:H (H) C:LYS172:H (H) C:LYS177:H (H) C:LYS163:C (H) C:LYS175:O (H) C:LYS175:O (H)	A:LYS26:H (H,E) C:LYS172:H (H,E) C:LYS175:H (H,E) A:LYS26:N (E)* A:LYS135:N (E)* A:LYS135:N (E)* C:LYS160:N (E)* C:LYS172:N (E)* C:LYS177:N (E)* A:LYS135:H (H)* A:LYS135:H (H)* C:LYS160:H (H)* C:LYS160:H (H)* C:LYS160:H (H)* C:LYS172:H (H) C:LYS172:H (H) C:LYS175:H (H) C:LYS177:H (H)* C:LYS177:H (H)* C:LYS177:H (H)* C:LYS175:O (H)
5 sakarida	A:LYS125:H (H,E) A:LYS26:N (E)* A:LYS26:N (E)* C:LYS172:N (E)* A:LYS26:H (H) A:LYS26:H (H) A:ASN27:H (H) A:LYS125:H (H) A:GLN134:H (H) A:LYS135:H (H)* A:LYS135:H (H)	A:LYS26:H (H,E)* A:ARG120:H (H,E)* A:LYS135:H (H,E)* C:LYS175:H (H,E) A:LYS135:N (E)* C:LYS160:N (E)* C:LYS160:N (E)* C:LYS172:N (E)* C:LYS177:N (E)* C:LYS177:N (E)* A:LYS26:H (H)

	A:LYS135:H (H) A:LYS135:H (H) A:LYS135:H (H) A:LYS135:H (H) A:ALA136:H (H)* A:GLY133:O (H) A:GLY133:O (H) A:ASN27:O (H)* A:LYS135:C (H)	A:LYS135:H (H)* A:LYS135:H (H)* A:LYS135:H (H)* A:LYS135:H (H)* A:LYS135:H (H)* C:HIS166:H (H)* C:LYS172:H (H) C:LYS175:H (H) C:LYS175:H (H) C:LYS177:H (H)* C:LYS177:H (H)* A:LYS135:C (H) C:LYS163:C (H)
6 sakarida	A:SGN3:H (H,E) A:ARG120:N (E)* A:LYS125:N (E)* A:LYS135:N (E)* C:LYS160:N (E)* C:LYS177:N (E)* A:ASN27:H (H) A:ARG120:H (H)* A:ARG120:H (H)* A:LYS125:H (H) A:LYS135:H (H)* C:LYS160:H (H)* C:LYS177:H (H)* C:LYS177:H (H)* A:GLY133:O (H) A:LYS135:C (H)	C:LYS163:H (H,E)* C:LYS172:H (H,E) C:LYS172:H (H,E) C:LYS172:H (H,E) A:LYS26:N (E)* A:LYS26:N (E)* A:ARG44:N (E) A:LYS135:N (E)* A:LYS135:N (E)* C:LYS160:N (E)* C:LYS175:N (E)* C:LYS177:N (E)* A:LYS26:H (H) A:ARG120:H (H)* A:LYS135:H (H)* A:LYS135:H (H)* A:LYS135:H (H)* C:LYS160:H (H)* C:LYS163:H (H)* C:HIS166:H (H)* C:LYS175:H (H) C:LYS177:H (H)*
7 sakarida	A:LYS26:H (H,E) A:LYS26:H (H,E) A:LYS135:H (H,E)* A:LYS135:N (E)* A:LYS135:N (E)* C:LYS160:N (E)* C:LYS172:N (E)* C:LYS177:N (E)* A:LYS26:H (H)	A:LYS26:H (H,E) A:LYS135:H (H,E)* C:LYS160:H (H,E)* C:LYS177:H (H,E)* A:LYS26:N (E)* A:ARG120:N (E)* A:LYS135:N (E)* C:LYS160:N (E)* C:LYS172:N (E)*

	A:LYS135:H (H)* C:LYS160:H (H)* C:LYS160:H (H)* C:LYS172:H (H) C:LYS177:H (H)* A:GLY133:O (H) A:LYS135:C (H)	C:LYS172:N (E)* C:LYS175:N (E)* A:LYS26:H (H) A:LYS135:H (H)* A:LYS135:H (H)* C:LYS163:H (H)* C:LYS172:H (H) C:LYS172:H (H) C:LYS172:H (H) C:LYS175:H (H) C:LYS177:H (H)* A:GLY133:O (H) A:LYS135:C (H) A:LYS135:C (H)
8 sakarida	A:ARG120:H (H,E)* A:LYS135:H (H,E)* C:LYS177:H (H,E)* A:LYS26:N (E)* A:ARG120:N (E)* C:LYS160:N (E)* C:LYS172:N (E)* C:LYS175:N (E)* A:LYS26:H (H) A:LYS135:H (H)* A:LYS135:H (H)* C:LYS160:H (H)* C:LYS160:H (H)* C:LYS163:H (H)* C:LYS172:H (H) A:ASN27:O (H) C:GLU159:O (H) C:THR212:O (H) A:LYS135:C (H) C:LYS160:C (H)	A:LYS26:H (H,E) A:LYS125:H (H,E) A:LYS26:N (E)* A:ARG120:N (E)* A:LYS135:N (E)* C:LYS160:N (E)* C:LYS172:N (E)* C:LYS177:N (E)* A:LYS26:H (H) A:ARG120:H (H)* A:ARG120:H (H)* A:LYS135:H (H)* C:LYS160:H (H)* C:LYS160:H (H)* C:LYS172:H (H) C:LYS172:H (H) C:LYS177:H (H)* C:LYS177:H (H)* A:GLY133:O (H) A:LYS125:C (H) A:LYS135:C (H) A:LYS135:C (H)
9 sakarida	C:LYS172:H (H,E) C:LYS172:H (H,E) C:GLU159:OE2 (H,E) A:LYS26:N (E)* A:ARG44:N (E) A:ARG120:N (E)* A:LYS135:N (E)* C:LYS160:N (E)* C:LYS163:N (E)*	A:LYS26:N (E)* A:ARG120:N (E)* A:ARG120:N (E)* A:ARG120:N (E)* A:LYS135:N (E)* A:LYS135:N (E)* C:LYS160:N (E)* C:LYS172:N (E)* C:LYS172:N (E)*

	A:ASN101:H (H) A:ARG120:H (H)* A:ARG120:H (H)* A:ARG120:H (H)* A:ARG120:H (H)* A:ARG120:H (H)* A:LYS135:H (H)* A:LYS135:H (H)* A:LYS135:H (H)* C:LYS160:H (H)* A:GLY133:C (H) A:GLY133:O (H)	C:LYS175:N (E)* C:LYS177:N (E)* A:ARG120:H (H)* A:ARG120:H (H) A:ARG120:H (H) A:ARG120:H (H) A:ARG120:H (H) A:ARG120:H (H) A:ARG120:H (H) A:ARG120:H (H) A:LYS135:H (H) A:LYS135:H (H) A:LYS135:H (H) C:LYS160:H (H) C:LYS172:H (H) C:THR173:H (H) C:LYS175:H (H) C:LYS177:H (H)* C:LYS177:H (H)* A:LYS26:C (H)
10 sakarida	A:LYS129:H (H,E)* C:LYS160:H (H,E)* A:ARG120:N (E)* A:LYS125:N (E)* A:LYS129:N (E)* A:LYS135:N (E)* C:LYS175:N (E)* C:LYS177:N (E)* C:LYS177:N (E)* C:GLU159:O (E) A:ARG120:H (H*) A:LYS125:H (H) A:LYS129:H (H)* A:LYS135:H (H)* C:LYS163:H (H) C:LYS175:H (H) C:LYS175:H (H) C:LYS177:H (H)* C:LYS177:H (H)* C:LYS177:H (H)* A:ASN27:O (H)	A:ARG120:H (H,E)* A:LYS135:H (H,E)* C:LYS172:H (H,E) A:LYS26:N (E)* A:LYS119:N (E)* A:LYS119:N (E)* A:ARG120:N (E)* A:LYS125:N (E)* A:LYS129:N (E)* A:LYS135:N (E)* C:LYS163:N (E)* C:LYS175:N (E)* C:LYS177:N (E)* A:LYS26:H (H) A:LYS119:H (H)* A:ARG120:H (H)* A:LYS129:H (H)* A:LYS135:H (H)* A:LYS135:H (H)* C:LYS175:H (H) C:LYS177:H (H)* A:LYS119:C (H) A:LYS119:C (H) A:LYS135:C (H)
11 sakarida	A:LYS125:H (H,E) C:LYS175:H (H,E)	A:LYS26:H (H,E) C:LYS175:H (H,E)

	C:LYS177:H (H,E) A:LYS119:N (E)* A:LYS125:N (E)* A:LYS135:N (E)* C:LYS160:N (E)* A:ARG120:H (H)* A:LYS125:H (H) A:LYS135:H (H)* A:LYS135:H (H)* A:LYS135:H (H)* C:LYS160:H (H)* A:LYS129:O (H) A:LYS125:C (H)	A:ARG120:N (E)* A:LYS125:N (E)* A:LYS129:N (E)* A:LYS135:N (E)* C:LYS160:N (E)* C:LYS160:N (E)* C:LYS177:N (E)* C:LYS177:N (E)* A:ARG120:H (H)* C:LYS172:H (H) C:LYS177:H (H)* C:LYS160:C (H) C:LYS172:C (H) A:GLY133:O (H) A:LYS129:O (H)
12 sakarida	A:LYS135:H (H,E)* A:LYS119:N (E)* A:LYS125:N (E)* A:LYS129:N (E)* C:LYS160:N (E)* C:LYS175:N (E)* C:LYS177:N (E)* A:LYS125:H (H) A:LYS129:H (H)* A:LYS129:H (H)* C:LYS160:H (H)* C:LYS160:H (H)* C:LYS160:H (H)* C:LYS177:H (H)* A:GLN123:O (H) A:LYS129:O (H)	C:LYS160:H (H,E)* C:LYS172:H (H,E) C:LYS177:H (H,E)* A:LYS119:N (E)* A:ARG120:N (E)* A:ARG120:N (E)* A:ARG120:N (E)* A:LYS129:N (E)* C:LYS175:N (E)* C:LYS177:N (E)* C:GLU159:O (E) A:ARG120:H (H)* A:LYS135:H (H)* A:LYS135:H (H)* C:SER157:H (H) C:LYS160:H (H)* C:LYS160:H (H)* C:LYS160:H (H)* C:THR173:H (H) C:LYS175:H (H) C:GLU159:O (H) A:GLN123:O (H) C:LYS160:C (H)

Catatan :

H : Ikatan Hidrogen

Phi : Ikatan Phi

E : Interaksi Elektrostatik

\* : Interaksi heparin docking penelitian = Interaksi heparin 8 sakarida natif

Berdasarkan Tabel 4.4 dari heparin 2 sakarida hingga 12 sakarida memiliki beberapa interaksi yang mirip dengan heparin 8 sakarida natif. Pada docking heparin 5 sakarida 2SNS memiliki energi *binding* yang sangat rendah (semakin kuat) dengan nilai sebesar -17,02 kkal/mol dan juga terdapat interaksi residu asam amino yang sama dengan heparin 8 sakarida natif yaitu Arg 120, Lys 135, Lys 177, Lys 26, Lys 160, Lys 163, Lys 172, Lys 175, His 166. Interaksi yang dihasilkan berupa ikatan hidrogen, interaksi elektrostatik. Ikatan hidrogen terjadi pada situs dari gugus  $-NH...O$  dan  $-CH...O$  dan interaksi elektrostatik terjadi pada gugus  $-N+...O-$ . Kekuatan interaksi ini semakin kuat ditandai dengan semakin banyaknya ikatan hidrogen dan ikatan elektrostatik yang terjadi pada heparin 2SNS 5 sakarida. Persamaan interaksi pada situs aktif menjadikan heparin 5 sakarida memiliki afinitas kuat, sehingga molekul heparin uji memiliki aktivitas biologis yang sama dengan heparin natif. Menurut Ruswanto (2015) semakin banyak interaksi hidrogen antara senyawa dengan residu asam amino maka diprediksi interaksinya senyawa dan reseptor semakin baik. Selain melihat energi *binding* dan juga jenis interaksi, salah satu parameter keberhasilan docking adalah dengan melihat nilai RMSD. Nilai RMSD (*root mean square deviation*) sendiri merupakan nilai standar deviasi (ukuran penyimpangan), sejauh mana posisi atom-atom dalam molekul ligan uji itu dapat menyimpang (berbeda) dari posisi atom-atom dalam molekul ligan natif. Hal ini juga diperkuat dengan didapatkannya nilai RMSD sebesar 1,698 Å.

*Docking* heparin konformasi 2SNS pada sakarida 2-4 menghasilkan energi *binding* sebesar 2: -13,74 ; 3: -16,19; 4: -15,83 kkal/mol. Pada docking heparin 2SNS sakarida 2-4 terdapat interaksi residu asam amino yang sama dengan heparin 8 sakarida natif dan yang mendominasi yaitu, Lys 135, Lys 177, Lys 160, Lys 163,

Lys 172, Lys 175. Interaksi yang mendominasi yaitu berupa ikatan hidrogen karbon, ikatan hidrogen konvensional dan jembatan garam. Ikatan Hidrogen konvensional terjadi antarmolekul dengan asam amino karena adanya atom donor ikatan hidrogen yang berikatan dengan akseptor yang sangat kuat sehingga terjadi yang namanya ikatan hidrogen konvensional. Biasanya yang terhubung dengan atom hidrogen adalah N, O, S, dan, P adalah atom donor ikatan hidrogen klasik atau konvensional. Ikatan hidrogen ini terjadi pada situs dari gugus  $\text{—CH...O}$  dan  $\text{NH...O}$  dan ikatan hidrogen karbon sendiri terjadi pada atom C dalam gugus asetilena atau ketika berdekatan dengan atom O atau N. Dengan jarak yang ditentukan adalah sebesar 3,8 Å. Pada jembatan garam sendiri merupakan ikatan yang dapat terjadi ketika pasangan gugus bermuatan yang berlawanan serta diantaranya juga terjadi ikatan hidrogen. interaksi ini terjadi pada gugus  $\text{N+...O-}$ . Nilai RMSD yang didapatkan masing-masing ligan uji adalah sebesar 2: 1,792 Å ; 3: 1,725 Å; 4: 1,739 Å.

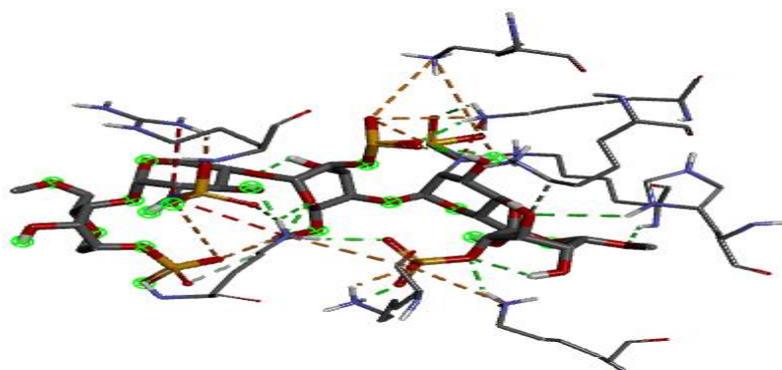
Hasil *docking* heparin konformasi 2SNS pada sakarida 6-9 menghasilkan energi *binding* sebesar 6: -16,66 ; 7: -15,64; 8: -15,70; dan 9: -13,80 kkal/mol . Pada *docking* heparin 2SNS sakarida 6-9 terdapat interaksi residu asam amino yang sama dengan heparin 8 sakarida natif yaitu, Arg 120 Lys 135, Lys 177, Lys 160, Lys 163, Lys 172, Lys 175, His 166. Interaksi yang dihasilkan berupa ikatan hidrogen konvensional, ikatan hidrogen karbon, dan *Salt-bridge*. Ikatan Hidrogen konvensional terjadi antarmolekul dengan asam amino karena adanya atom donor ikatan hidrogen yang berikatan dengan akseptor yang sangat kuat sehingga terjadi yang namanya ikatan hidrogen konvensional. Biasanya yang terhubung dengan atom hidrogen adalah N, O, S, dan, P adalah atom donor ikatan hidrogen klasik atau konvensional. Ikatan hidrogen ini terjadi pada situs

dari gugus  $-\text{CH}\dots\text{O}$  dan  $\text{NH}\dots\text{O}$  dan ikatan hidrogen karbon sendiri terjadi pada atom C dalam gugus asetilena atau ketika berdekatan dengan atom O atau N. Dengan jarak yang ditentukan adalah sebesar  $3,8 \text{ \AA}$ . Jembatan garam sendiri merupakan ikatan yang dapat terjadi ketika pasangan gugus bermuatan yang berlawanan serta diantaranya juga terjadi ikatan hidrogen. interaksi ini terjadi pada gugus  $\text{N}^+\dots\text{O}^-$ . Nilai RMSD yang didapatkan masing-masing ligan uji adalah sebesar 6:  $1,712 \text{ \AA}$  ; 7:  $1,769 \text{ \AA}$ ; 8:  $1,750 \text{ \AA}$ ; 9:  $1,781 \text{ \AA}$ .

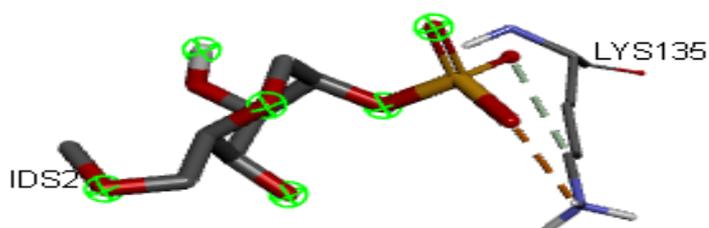
Hasil daripada *docking* heparin konformasi 2SNS pada sakarida 10-12 sendiri menghasilkan energi *binding* sebesar 10:  $-10,68$  ; 11:  $-10,31$ ; 12:  $-6,11$  kkal/mol. Pada *docking* heparin 2SNS sakarida 10-12 ini memiliki nilai yang sangat besar karena dipengaruhi oleh fleksibilitasnya yang tinggi dengan ikatan torsi melebihi 32 yang mana merupakan batas akhir dari ikatan torsi pada aplikasi Autodock. Pada heparin 2SNS sakarida 10-12 ini terdapat interaksi residu asam amino yang sama dengan heparin 8 sakarida natif yaitu, Arg 120, Lys 119, Lys 125, Lys 135, Lys 177, Lys 160, Lys 163 , Lys 172, Lys 175. Interaksi yang dihasilkan berupa ikatan hidrogen, interaksi elektrostatik. Ikatan Hidrogen konvensional terjadi antarmolekul dengan asam amino karena adanya atom donor ikatan hidrogen yang berikatan dengan akseptor yang sangat kuat sehingga terjadi yang namanya ikatan hidrogen konvensional. Biasanya yang terhubung dengan atom hidrogen adalah N, O, S , dan, P adalah atom donor ikatan hidrogen klasik atau konvensional. Ikatan hidrogen ini terjadi pada situs dari gugus  $-\text{CH}\dots\text{O}$  dan  $\text{NH}\dots\text{O}$  dan ikatan hidrogen karbon sendiri terjadi pada atom C dalam gugus asetilena atau ketika berdekatan dengan atom O atau N. Dengan jarak yang ditentukan adalah sebesar  $3,8 \text{ \AA}$ . Nilai RMSD yang didapatkan

masing-masing ligan uji adalah sebesar 10: 1,859 Å ; 11: 1,872 Å; 12: 2,132 Å. Hal ini menandakan bahwa ligan uji menempati posisi docking yang berbeda, walaupun perbedaan posisi tidak terlalu besar. Perbedaan posisi antara hasil replikasi disebabkan karena metode docking yang digunakan adalah fleksibel *docking* kondisi ini menyebabkan ligan menjadi fleksibel sehingga memungkinkan ligan untuk melakukan penyesuaian struktur demi mencapai konformasi yang stabil saat berikatan dengan sisi aktif reseptor.

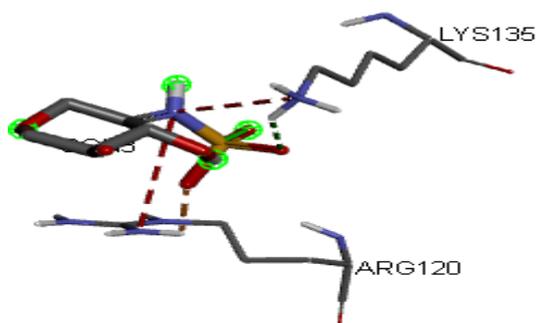
5 Sakarida



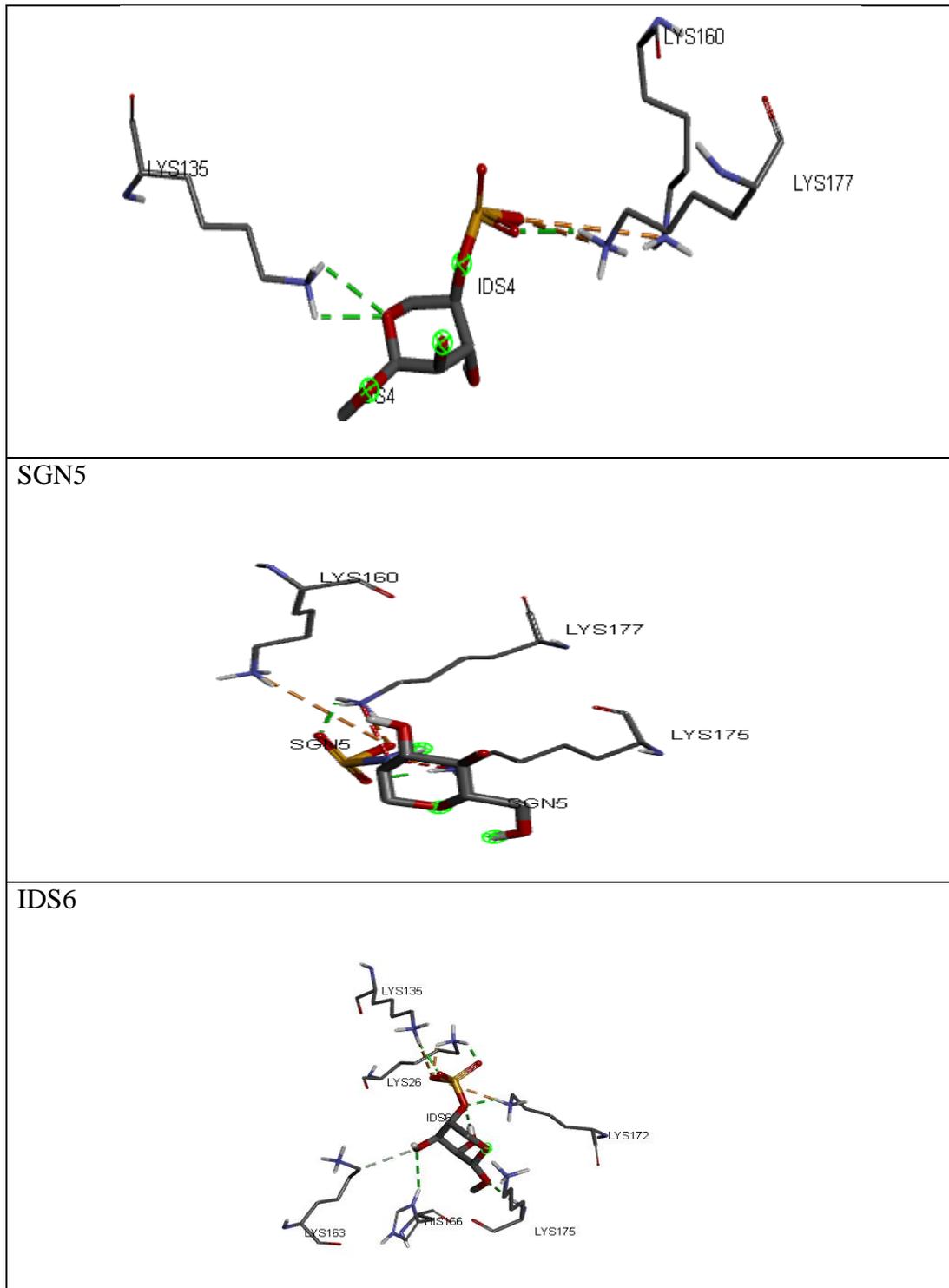
IDS2



SGN3



IDS4



Gambar 4.5 Visualisasi interaksi 5 sakarida 2SNS pada FGFR1-FGF2 Menggunakan Program DSV (Discovery Studio Visualizer)

Keterangan:

- Garis putus-putus warna orange : jembatan garam, interaksi tarik-menarik, interaksi elektrostatik
- Garis putus-putus warna hijau : ikatan hidrogen konvensional

-Garis putus-putus warna : ikatan hidrogen karbon

Heparin 5 sakarida 2S memiliki energi *binding* yang sangat rendah (semakin kuat) dengan nilai sebesar -16,48 kkal/mol. heparin ini berinteraksi dengan makromolekul akan membentuk ikatan hidrogen serta interaksi elektrostatik yang mengikat residu asam amino sama Arg 120,Asn 27, Lys 125, Lys 129, Lys 135, Lys 160, Lys 172, Lys 177, Ala 136. Interaksi yang terjadi pada heparin 5 sakarida 2S ini mengikat LYS129:N LYS125:N ARG120:N beberapa asam amino yang sama dengan heparin natif berupa Arg 120,Asn 27, Lys 125, Lys 129, Lys 135, Lys 160, Lys 172, Lys 177, Ala 136. Hal ini menunjukkan bahwa heparin ini memiliki aktivitas biologis yang berbeda dengan heparin natif akan tetapi masih menempati sisi aktif reseptor yang sama sehingga energi binding akan tetap lebih besar negatif. Nilai RMSD yang didapatkan adalah sebesar 1,792 Å.

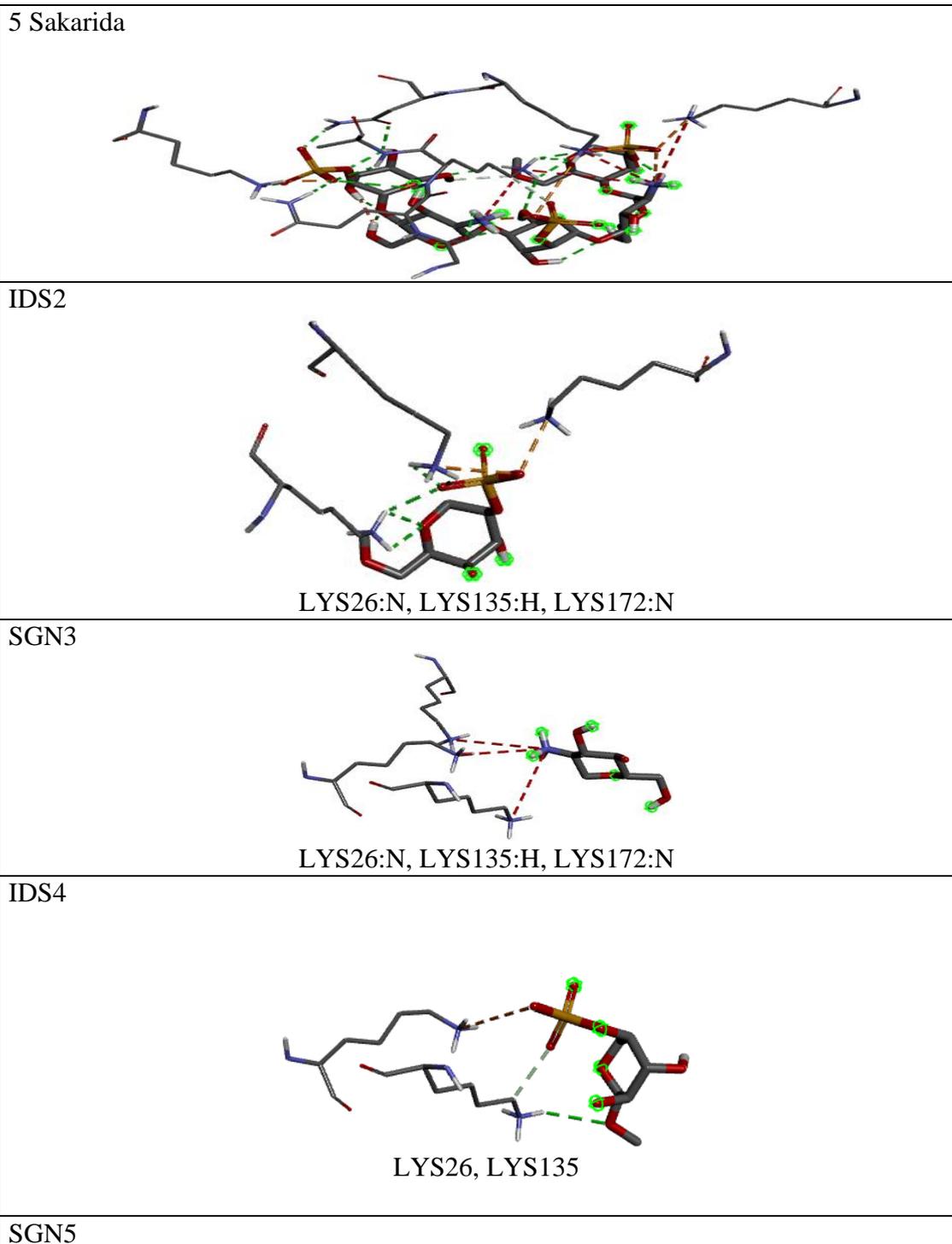
*Docking* heparin konformasi 2S pada sakarida 2-4 menghasilkan energi *binding* sebesar 2: -7,36 ; 3: -10,42; 4: -5,63. Pada docking heparin 2S sakarida 2-4 terdapat interaksi residu asam amino yang sama dengan heparin 8 sakarida natif dan yang mendominasi yaitu, Lys 26,Lys 135, Lys 177, Lys 160, Lys 163 , Lys 172. Interaksi yang mendominasi yaitu berupa ikatan hidrogen karbon, ikatan hidrogen konvensional dan jembatan garam. Ikatan Hidrogen konvensional terjadi antarmolekul dengan asam amino karena adanya atom donor ikatan hidrogen yang berikatan dengan akseptor yang sangat kuat sehingga terjadi yang namanya ikatan hidrogen konvensional. Biasanya yang terhubung dengan atom hidrogen adalah N, O, S , dan, P adalah atom donor ikatan hidrogen klasik atau konvensional. Ikatan hidrogen ini terjadi pada situs dari gugus —CH...O dan NH...O dan ikatan hidrogen karbon sendiri terjadi pada atom C dalam gugus asetilena atau ketika berdekatan

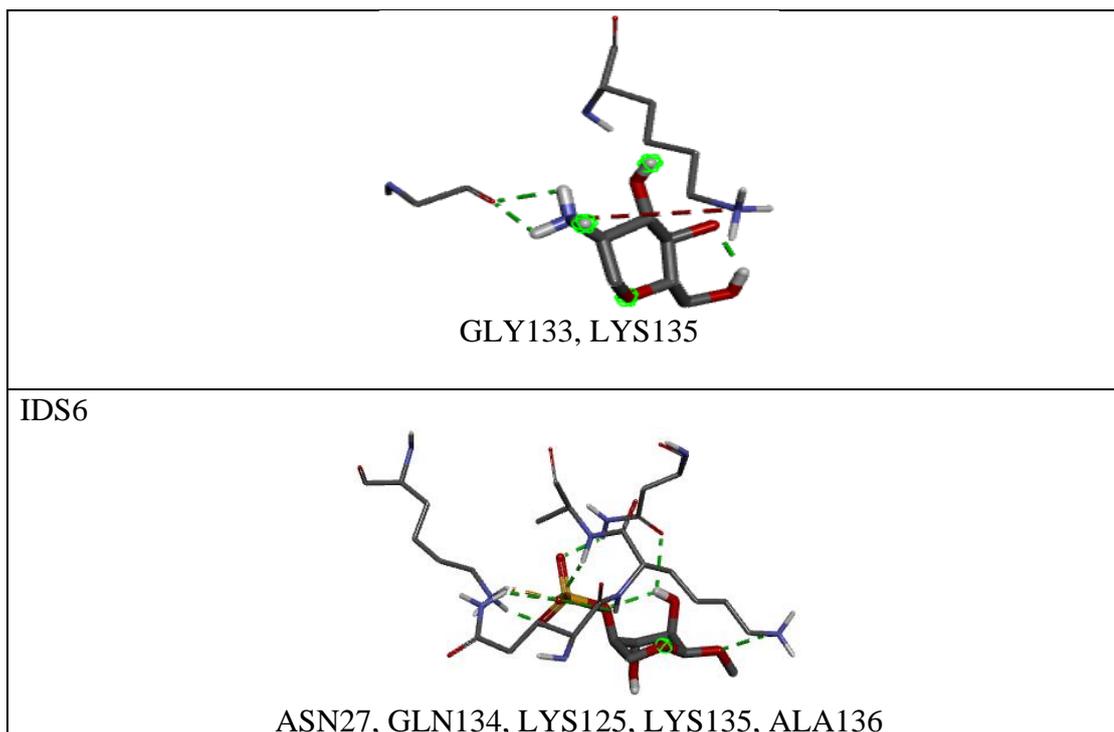
dengan atom O atau N. Dengan jarak yang ditentukan adalah sebesar 3,8 Å. Pada jembatan garam sendiri merupakan ikatan yang dapat terjadi ketika pasangan gugus bermuatan yang berlawanan serta diantaranya juga terjadi ikatan hidrogen. interaksi ini terjadi pada gugus  $N^+...O^-$ . Nilai RMSD yang didapatkan masing-masing ligan uji adalah sebesar 2: 1,822 Å ; 3: 1,792 Å; 4: 1,843 Å.

Hasil *docking* heparin konformasi 2S pada sakarida 6-9 menghasilkan energi *binding* sebesar 6: -0,94 ; 7: -4,61; 8: -3,20; dan 9: 0,13 . Pada docking heparin 2SNS sakarida 6-9 terdapat interaksi residu asam amino yang sama dengan heparin 8 sakarida natif yaitu, Arg 120 Lys 135, Lys 177, Lys 160, Lys 163 , Lys 172, Lys 175. Interaksi yang dihasilkan berupa ikatan hidrogen konvensional, ikatan hidrogen karbon, dan *Salt-bridge*. Ikatan Hidrogen konvensional terjadi antarmolekul dengan asam amino karena adanya atom donor ikatan hidrogen yang berikatan dengan akseptor yang sangat kuat sehingga terjadi yang namanya ikatan hidrogen konvensional. Biasanya yang terhubung dengan atom hidrogen adalah N, O, S , dan, P adalah atom donor ikatan hidrogen klasik atau konvensional. Ikatan hidrogen ini terjadi pada situs dari gugus – CH...O dan NH...O dan ikatan hidrogen karbon sendiri terjadi pada atom C dalam gugus asetilena atau ketika berdekatan dengan atom O atau N. Dengan jarak yang ditentukan adalah sebesar 3,8 Å. Jembatan garam sendiri merupakan ikatan yang dapat terjadi ketika pasangan gugus bermuatan yang berlawanan serta diantaranya juga terjadi ikatan hidrogen. interaksi ini terjadi pada gugus  $N^+...O^-$ . Nilai RMSD yang didapatkan masing-masing ligan uji adalah sebesar 6: 1,886 Å ; 7: 1,867 Å; 8: 1,869 Å; 9: 1,959 Å.

Hasil daripada *docking* heparin konformasi 2S pada sakarida 10-12 sendiri menghasilkan energi *binding* sebesar 10: 1,50 ; 11: 3,31; 12: -6,86 kkal/mol. Pada *docking* heparin 2SNS sakarida 10-12 ini memiliki nilai yang sangat besar karena dipengaruhi oleh fleksibilitas dan jumlah interaksi hidrogen yang sangat sedikit. fleksibilitas yang tinggi ditandai dengan adanya ikatan torsi melebihi 32 yang mana merupakan batas akhir dari ikatan torsi pada aplikasi Autodock.. Pada heparin 2SNS sakarida 2-12 ini terdapat interaksi residu asam amino yang sama dengan heparin 8 sakarida natif yaitu, Arg 120, Lys 119, Lys 125, Lys 129, Lys 135, Lys 177, Lys 160, Lys 175. Interaksi yang dihasilkan berupa ikatan hidrogen, interaksi elektrostatik. Ikatan Hidrogen konvensional terjadi antarmolekul dengan asam amino karena adanya atom donor ikatan hidrogen yang berikatan dengan akseptor yang sangat kuat sehingga terjadi yang namanya ikatan hidrogen konvensional. Biasanya yang terhubung dengan atom hidrogen adalah N, O, S, dan, P adalah atom donor ikatan hidrogen klasik atau konvensional. Ikatan hidrogen ini terjadi pada situs dari gugus —CH...O dan NH...O dan ikatan hidrogen karbon sendiri terjadi pada atom C dalam gugus asetilena atau ketika berdekatan dengan atom O atau N. Dengan jarak yang ditentukan adalah sebesar 3,8 Å. Nilai RMSD yang didapatkan masing-masing ligan uji adalah sebesar 10: 1,970 Å ; 11: 1,984 Å; 12: 2,262 Å. Hal ini menandakan bahwa ligan uji menempati posisi *docking* yang berbeda, walaupun perbedaan posisi tidak terlalu besar. Perbedaan posisi antara hasil replikasi disebabkan karena metode *docking* yang digunakan adalah fleksibel *docking* kondisi ini menyebabkan ligan menjadi fleksibel sehingga memungkinkan ligan

untuk melakukan penyesuaian struktur demi mencapai konformasi yang stabil saat berikatan dengan sisi aktif reseptor.



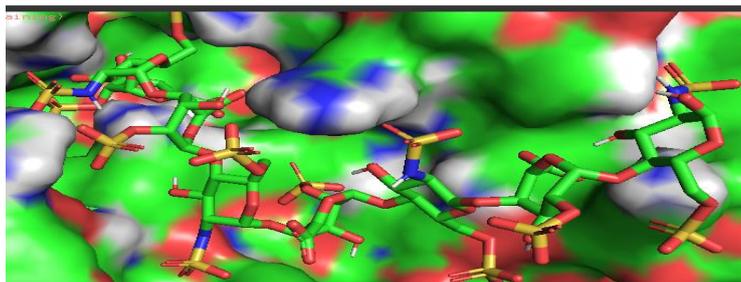


Gambar 4.6 Visualisasi interaksi 5 sakarida 2S pada FGFR1-FGF2  
Menggunakan Program DSV (Discovery Studio Visualizer)

Keterangan:

- Garis putus-putus warna orange : jembatan garam, interaksi tarik-menarik, interaksi elektrostatik
- Garis putus-putus warna hijau : ikatan hidrogen konvensional
- Garis putus-putus warna putih : ikatan hidrogen karbon

Dalam penentuan afinitas molekul *docking* akan melibatkan interaksi, karena interaksi mempunyai peranan penting dalam penentuan afinitas molekul *docking*. Ikatan hidrogen, interaksi elektrostatik, dan interaksi hidrofobik dapat mempengaruhi energi *binding* molekul. Menurut Plotnikov, dkk. (1999) Residu yang berinteraksi banyak dengan asam amino pada situs aktif FGF2 dan D2 FGFR1 maka ligan pada reseptor akan terstabilkan. Sehingga, dominasi energi elektrostatik dan ikatan hidrogen yang berikatan dengan asam amino di situs aktif akan mampu memberikan nilai tinggi pada energi *binding*.



Gambar 4.7 Visualisasi ligan dalam situs aktif FGF2- FGFR1 Menggunakan Program PyMOL

#### 4.6 Analisis Energi Binding dan Ki Molekul Heparin-FGFR1-FGF2

Tabel 4.5 Hasil energi *binding* heparin sulfasi 2S dan 2SNS

Sakarida Heparin	Energi <i>Binding</i> (kcal/mol)	
	Sulfasi 2S	Sulfasi 2SNS
2	-7.36	-13.74
3	-10.42	-16.19
4	-5.63	-15.83
5	-16.48	-17.02
6	-0.94	-16.66
7	-4.61	-15.64
8	-3.20	-15.70
9	-0.13	-13.80
10	+1.50	-10.68
11	+3.31	-10.31
12	+6.86	-6.11

Berdasarkan Tabel 4.5 energi *binding* docking heparin dan FGF2-FGFR1 diketahui energi terendah dan tertinggi pada tiap-tiap kluster. Energi *binding* selain dipengaruhi oleh interaksi juga dapat dipengaruhi oleh panjang sakarida. Panjang sakarida akan mempengaruhi interaksi molekul dengan cara mengikat lebih dari satu molekul FGF2 dan mendukung pembentukan komplek terner dengan FGFR (Guerrini dkk., 2007). *Docking* heparin konformasi 2S pada 12 sakarida memiliki energi paling tinggi (paling lemah) sebesar 6,86 kkal/mol dan heparin konformasi 2SNS pada 12 sakarida sebesar -6,11 kkal/mol. Heparin

dengan residu dodekasakarida mempunyai fleksibilitas yang tinggi karena hubungannya antara rantai molekul dan fluktuasi torsi pada ikatan yang menghubungkan residu glukosamin. Ikatan heparin ini dapat dikaitkan dengan perubahan ikatan glikosidik  $\alpha$  1-4 diukur dari variasi sudut torsi  $\Phi$ ,  $\Psi$  dan parameter helik pada molekul polisakarida (Guerrini dkk., 2007). Fleksibilitas yang tinggi dapat menyebabkan ikatan torsi yang dimiliki lebih banyak dan energi binding menjadi tinggi sehingga ikatannya lemah. Peningkatan fleksibilitas menghasilkan kontak lebih dekat dari N-sulfat dan O-sulfat terikat FGF2. Heparin dodekasakarida memiliki fleksibilitas tinggi dengan ikatan torsi sebanyak 78. Sedangkan, heparin konformasi 2S 5 sakarida memiliki ikatan torsi sebanyak 32 yang mana merupakan batas akhir dari ikatan torsi pada aplikasi Autodock. Heparin dengan residu lebih dari 5 sakarida memiliki fleksibilitas yang tinggi. Berbeda dengan heparin 2 sakarida yang tidak cukup memiliki afinitas kuat dengan FGF2. Selain itu, komposisi sulfat juga dapat berpengaruh terhadap ikatan heparin.

Komposisi sulfat yang terdapat pada residu iduronat 2-O-sulfat pada posisi (2S) dan N-sulfasi (2SNS). Komposisi sulfat pada heparin berpengaruh terhadap energi *binding*, semakin banyak sulfat yang terkandung maka nilai energi binding semakin besar. Berdasarkan Lampiran 5 Energi binding docking heparin FGF2- FGFR1 dipengaruhi oleh komposisi sulfasi sulfat dalam residu. Heparin sulfasi 2S menghasilkan energi pada sakarida 5: -6,48; 6: -0,94; 7: -4,61, lebih tinggi dibanding dengan heparin 2SNS yang lebih rendah pada sakarida 5: -17,02; 6: -16,66; 7: -15,64. Rendahnya energi *binding* pada heparin 2SNS dapat

terjadi karena 2-O sulfat iduronat dan N-sulfat glukosamin merupakan ikatan penting untuk berinteraksi antara FGF2 dan heparin (Cole dkk., 2010).

Afinitas ligan terhadap reseptor selain dipengaruhi oleh energi binding juga dapat ditentukan dari kemampuan interaksinya atau konstanta inhibisi (Ki). Kekuatan afinitas akan berbanding terbalik dengan nilai Ki. Semakin kecil nilai Ki, maka semakin besar afinitas ligan dengan reseptor (Muttuqin, dkk., 2019). Balle dan Liljefors (2016) menyatakan bahwa semakin negatif nilai  $\Delta G$ , semakin tinggi pula kecenderungan ligan dan reseptor untuk saling berikatan. Selain itu, semakin negatif nilai  $\Delta G$ , semakin rendah pula nilai konstanta inhibisi (Ki). Nilai Ki sendiri merupakan konsentrasi inhibitor yang dibutuhkan untuk menurunkan setengah dari aktivitas enzim. Semakin kecil nilai Ki, semakin kuat inhibitor tersebut. Nilai konstanta inhibisi dihitung dengan rumus (Morris et al., 1998):

$$K_i = K_d = \exp(\Delta G/RT) \quad (4.1)$$

Keterangan:

$\Delta G$  = Energi bebas gibbs (kkal/mol)

R = Konstanta Gas (1.986 kal/mol) = 0,001986 kkal/mol

T = 298,15 K

Tabel 4.6 Nilai konstanta inhibisi heparin sulfasi 2S dan 2SNS

Sakarida Heparin	Konstanta Inhibisi (nM)	
	Sulfasi 2S	Sulfasi 2SNS
2	3,99771E-06	8,36379E-11
3	2,27749E-08	1,33491E-12
4	7,4247E-05	2,45185E-12
5	8,17996E-13	3,28616E-13
6	0,204436017	6,03574E-13
7	0,000415717	3,37947E-12

8	0,004497399	3,05381E-12
9	0,802881696	7,55781E-11
10	12,59430895	1,46811E-08
11	267,7429534	2,74243E-08
12	79331,02635	3,30083E-05

Berdasarkan Tabel 4.6 nilai konstanta inhibisi molekul *docking* heparin koformasi 2SNS pada residu sakarida 4 hingga 10 memiliki nilai yang kecil daripada sakarida lain dengan sulfasi yang sama. Begitupun heparin sulfasi 2SNS memiliki konstanta inhibisi lebih kecil daripada heparin sulfasi 2S. Nilai konstanta inhibisi yang kecil serta energi binding negatif menunjukkan bahwa kompleks yang terbentuk antara ligan dan reseptor sangat kuat. Hal ini dapat membuat kompleks reseptor dan ligan lebih stabil.

#### 4.7 Optimasi Molekul *Docking*

Optimasi molekul hasil docking dilakukan untuk mencari energi paling terendah dengan konformasi stabil. Hasil energi dapat memvalidasi kemampuan simulasi dalam produksi pose ligan yang berinteraksi dengan reseptor target. Optimasi molekul docking menggunakan aplikasi Yasara. Optimasi menggunakan medan gaya Amber NOVA untuk melakukan perhitungan. Gaya amber diterapkan untuk perhitungan molekul protein dan asam nukleat. Sebelum itu, perhitungan single point dilakukan untuk menyamakan sistem kerja pada Yasara. Heparin sebelum minimasi yaitu hasil docking dari autodock dan sesudah minimasi merupakan hasil dari optimasi Yasara. Hasil optimasi 5 sakarida ditunjukkan pada Tabel 4.7.

Tabel 4.7 Energi *binding* heparin 5 sakarida 2SNS dan 2S dengan medan gaya NOVA menggunakan aplikasi Yasara

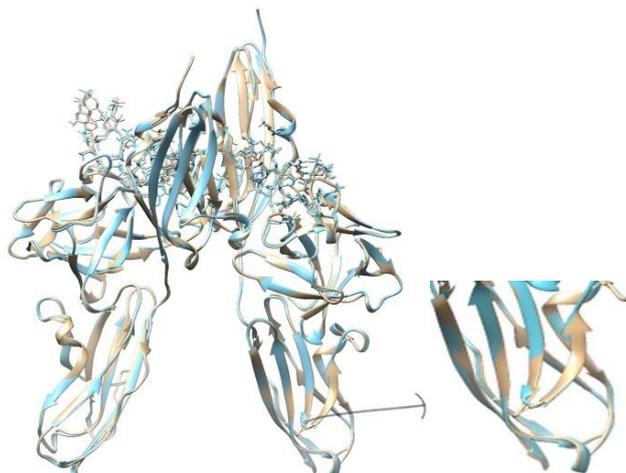
Kluster-Konformas i	Heparin 5 sakarida 2SNS		Kluster-Konformas i	Heparin 5 sakarida 2S	
	Sebelum Minimasi (KJ/mol)	Sesudah Minimasi (KJ/mol)		Sebelum Minimasi (KJ/mol)	Sesudah Minimasi (KJ/mol)
C1K1	3373914,07	-14692,27	C1K1	287170.27	-13731.158
C2K1	3403329,39	-14529,52	C2K1	293419.73	-13851.75

Keterangan :

- C1K1 : Cluster ke 1, Konformasi ke 1
- C2K1 : Cluster ke 2, Konformasi ke 1

Berdasarkan Tabel 4.7 energi setelah optimasi pada Yasara lebih stabil dengan energi paling rendah. Heparin 5 sakarida dari dua kluster, sulfasi 2SNS kluster 1 memiliki energi terendah sebesar -14692,27 Kj/mol. Perubahan energi disebabkan karena Yasara meminimasi molekul di ruang kristal dan menggunakan sel unit lengkap, sehingga medan gaya yang bekerja memiliki energi minimum yang stabil sedekat mungkin dengan struktur asli (Krieger dkk., 2002). Hasil energi dari optimasi kembali molekul docking dengan perubahan energi lebih besar (negatif). Hal ini menunjukkan bahwa energi struktur hasil docking masih belum merupakan energi minimum. Sehingga, dapat dikatakan bahwa heparin 5 sakarida tervalidasi sebagai obat pada target FGFR1-FGF2.

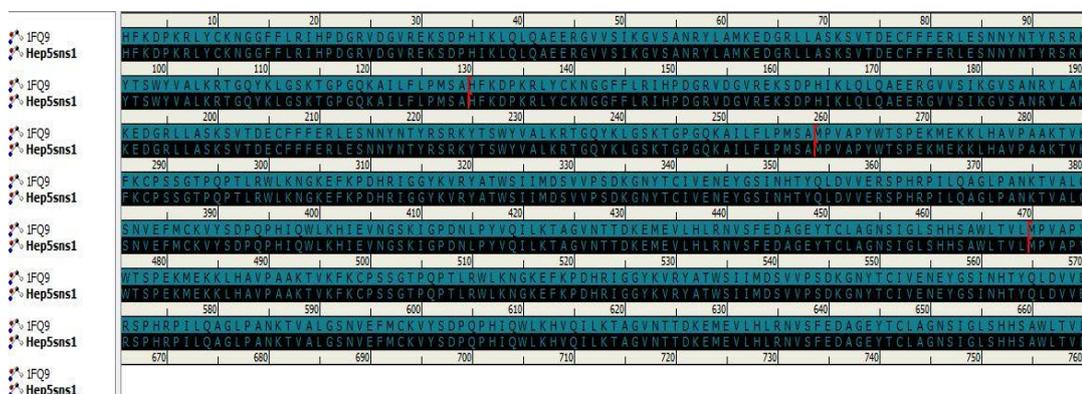
Energi yang berubah juga akan sedikit merubah molekul dalam hal posisi, ikatan atau atom. Pada heparin 5 sakarida 2SNS kluster 1 mengalami perubahan setelah minimasi energi. Molekul setelah minimasi berada lebih keluar (biru) dibanding molekul referensi heparin FGFR1-FGF2 pada 1FQ9 (abu-abu) dapat dilihat pada Gambar 4.8. Setelah minimasi, residu asam amino dari D Valin (Val) 308 berikatan dengan D Histidin (His) 292. Hal ini mengindikasikan bahwa energi hasil docking merupakan energi sistem yang belum mencapai energi dengan struktur yang paling stabil.



Gambar 4.8 Superimpose molekul sebelum dan sesudah minimasi menggunakan Program Chimera

Setelah optimasi maka jumlah residu yang berinteraksi dengan ligan heparin lebih sedikit daripada jumlah residu sebelum optimasi. Berkurangnya jumlah residu yang berinteraksi dengan ligan merupakan hasil optimasi yang memfokuskan ligan untuk berinteraksi dengan residu yang sesuai dengan ligan natif. Optimasi pada heparin 5 sakarida 2SNS pada cluster 1 terjadi penambahan jenis residu yang terikat melalui ikatan hidrogen yaitu Gln 134. Ikatan hidrogen carbon juga terbentuk antara ligan dan Gln 134. interaksi lain juga yang tidak melibatkan residu yang terdapat pada ligan natif yaitu Gly 133. Adapun interaksi lain juga melibatkan residu yang terdapat pada ligan natif yaitu Lys 125, Lys 135, Arg 120, dan Asn 27. Hal ini selaras dengan penelitian Plotnikov, dkk (1999) yang mengatakan bahwa situs pengikatan heparin berafinitas tinggi terdiri dari asam amino Asparagin (Asn) 27, Lisin (Lys) 125, Glutamin (Gln) 134, dan Arginin (Arg) 120 dan ikatan berafinitas rendah oleh asam amino Lys 26 dan Lys 135.

Molekul dari hasil docking dan setelah optimasi pada Yasara dalam bentuk struktur yang sama atau berbeda dilakukan tumpang tindih yang disebut simulasi RMSD. Simulasi ini dilakukan untuk mencari jarak posisi atom-atom antara molekul natif dan molekul eksperimen. Molekul dengan kemiripan rendah maka nilai RMSD (Root Mean Square Deviation)  $\geq 2 \text{ \AA}$ , sedangkan kemiripan tinggi RMSD  $\leq 2 \text{ \AA}$  (Kolina dkk., 2018). Superimpose dilakukan pada Discovery Studio Visualization dari molekul asli 1FQ9 dan molekul hasil optimasi pada Yasara heparin 5 sakarida konformasi 2SNS C2K1 (kluster 2 konformasi 1). Hasil menunjukkan rantai A, B, C, dan D pada reseptor FGFR1-FGF2 memiliki sequence residu yang sama 100% antara molekul asli dan hasil optimasi sehingga FGFR1-FGF2 tervalidasi sebagai target reseptor. Sequence residu dari reseptor FGFR1-FGF2 ditunjukkan pada Gambar 4.9.

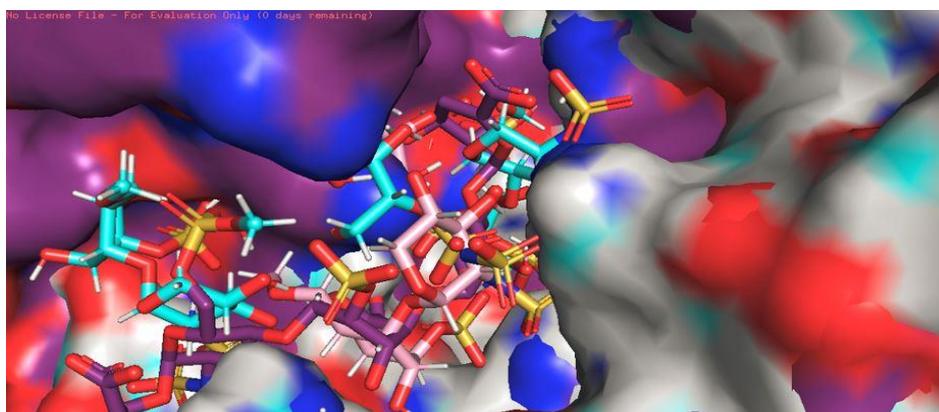


Gambar 4.9 Visualisasi sequence molekul asli dan molekul optimasi menggunakan Program DSV (Discovery Video Visualizer)

Hitung nilai RMSD untuk melihat penyimpangan dari dua molekul antara 1FQ9 dan hasil optimasi. Nilai RMSD dari dua energi terendah yaitu kluster 1 konformasi 1 (C1K1) : 1,385; kluster 2 konformasi 1 (C2K1): 1,380. Rantai utama FGFR1-FGF2 setelah minimasi menghasilkan nilai RMSD  $\leq 2 \text{ \AA}$ , maka

dari itu rantai utama A, B, C, D FGFR1- FGF2 memiliki kemiripan dengan struktur natif yaitu 1FQ9.

Hitung nilai RMSD untuk ligan heparin 5 sakarida 2SNS C1K1 dan C2K1 pada hyperchem didapatkan nilai sebesar 1,868867 Å dan 1,697471 Å. Nilai RMSD heparin eksperimen kurang dari 2 Å, artinya visualisasi pose ligan eksperimen tervalidasi dengan ligan natif memiliki kemiripan. Hal ini menunjukkan bahwa struktur dari dua ligan memiliki kemiripan posisi dan sudut dari setiap atomnya. Nilai RMSD yang dihasilkan pada heparin C2K1 memiliki konformasi lebih stabil dibandingkan heparin C1K1. Heparin C2K1 memiliki komposisi yang tak seharusnya mengikat FGF2 yaitu residu heparin GIG, sehingga molekul C1K1 lebih tepat untuk berikatan dengan FGF2.

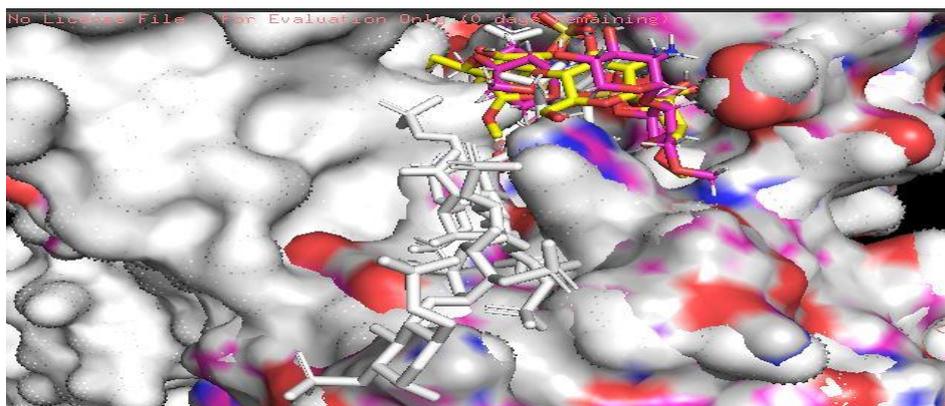


Gambar 4.10 Visualisasi heparin tumpang tindih antara 1FQ9 (ungu) dan a) C1K1 (merah muda) b) C2K1 (biru muda) menggunakan Program PyMOL

Berdasarkan Gambar 4.10 dapat dilihat jika pose 3D ligan heparin 5 sakarida 2SNS Cluster 1 dan Cluster 2 hasil optimasi menempari ruang 3D dari ligan natif. Pose 3D dari ligan natif ditunjukkan dengan ungu. Melalui pose 3D

maka dapat dikatakan jika ligan heparin hasil optimasi berpotensi memiliki kinerja seperti ligan natif.

Nilai RMSD dari heparin 5 sakarida konformasi 2S pada C1K1 dan C2K1 menghasilkan nilai sebesar 2,724037 Å dan 1,791668 Å. Nilai RMSD untuk heparin C1K1 lebih besar dari 2 Å dibanding heparin C2K1. Maka dari itu, heparin C2K1 memiliki konformasi yang lebih mirip, sedangkan C1K1 tidak tervalidasi karena perbedaan struktur dari posisi atom dan sudutnya dengan ligan natif dapat merubah fungsi dari ligan itu di dalam reseptor target. Ligan heparin C1K1 dan C2K1 dalam tumpang tindih dengan 1FQ9 ditunjukkan pada Gambar 4.11.



Gambar 4.11 Visualisasi heparin tumpang tindih antara 1FQ9 (putih) dan a) C1K1 (kuning) b) C2K1 (ungu) menggunakan Program PyMOL

#### **4.8 Prediksi Sifat Fisikokimia dengan Parameter ADME menggunakan web SwissADME.**

Sifat fisikokimia suatu senyawa berkaitan dengan absorpsi obat yang dapat diterima dan permeabilitasnya. Hal ini merupakan langkah awal dalam bioavailabilitas obat oral (Lipinski, 2004). Prediksi sifat fisikokimia yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan aplikasi SwissADME dengan metode

hukum lima Lipinski. Parameter hukum lima Lipinski meliputi Log P, Berat Molekul, jumlah ikatan antar atom yang dapat berotasi (*Torsion*), Ikatan Hidrogen Akseptor dan Ikatan Hidrogen Donor. Untuk memprediksi sifat fisikokimia senyawa uji dilakukan dengan memasukkan kode SMILES atau memasukkan jenis file .mol pada aplikasi SwissADME. Hasil prediksi sifat fisikokimia senyawa uji ditunjukkan pada Lampiran 8.

Menurut Lipinski (2004) hukum lima Lipinski mendefinisikan empat rentang parameter fisikokimia meliputi berat molekul suatu senyawa  $\leq 500$  g/mol, yang dinyatakan dengan jumlah gugus O-H dan Ikatan Hidrogen Donor N-H  $\leq 5$ , Ikatan Hidrogen Akseptor yang dinyatakan dengan jumlah atom O dan N  $\leq 10$ , dan nilai logaritma koefisien partisi oktanol/ air (Log P)  $\leq 5$ . Parameter tersebut sesuai dengan 90% obat oral yang telah mencapai fase klinis II. Menurut Chagas et al (2018) dalam penelitian lebih lanjut ditambahkan parameter berupa nilai *torsion* dan senyawa yang dikatakan baik apabila tidak memiliki lebih dari 10 ikatan hidrogen yang berotasi (*torsion*).

Penelitian mengenai sifat fisikokimia suatu senyawa yang berpotensi sebagai obat berdasarkan hukum lima Lipinski bertujuan untuk mengetahui karakteristik senyawa berupa berat molekul, Log P, Ikatan Hidrogen Donor, Ikatan Hidrogen Akseptor dan *Torsion*. Hukum Lima Lipinski ini dapat digunakan untuk menentukan sifat fisikokimia dari suatu senyawa atau ligan, apakah senyawa tersebut memiliki sifat hidrofobik atau hidrofilik ketika melalui membran sel dengan cara difusi pasif. Berat molekul berpengaruh pada kemampuan suatu senyawa untuk melewati membran sel secara difusi pasif, apabila senyawa memiliki berat molekul (BM) lebih dari 500 g/mol maka

kemampuan senyawa untuk berdifusi menembus membran sel semakin sulit. Pada parameter Log P menggambarkan mengenai kemampuan senyawa untuk dapat larut dalam oktanol/air (membran biologis). Nilai Log P yang tinggi maka senyawa tersebut dapat dikatakan semakin hidrofobik. Sehingga, hal tersebut cenderung memiliki nilai toksisitas yang tinggi dikarenakan tertahan lebih lama pada lipid bilayer dan terdistribusi luas di dalam tubuh sehingga selektifitas ikatan pada target berkurang. Namun jika nilai Log P suatu senyawa semakin negatif maka senyawa tersebut akan sulit melewati lipid bilayer. Ikatan hidrogen donor dan ikatan hidrogen aseptor merupakan parameter yang digunakan untuk mendeskripsikan kapasitas ikatan hidrogen suatu senyawa yang dibutuhkan dalam proses absorpsi, sehingga apabila jumlah ikatan hidrogen donor  $\geq 10$  dan akseptor  $\geq 5$ , maka energi yang dibutuhkan dalam proses absorpsi semakin tinggi. Ikatan hidrogen dapat mempengaruhi sifat kimia-fisika senyawa seperti titik didih, titik lebur, kelarutan dalam air, kemampuan dalam pembentukkan kelat dan keasaman. Secara umum adanya hukum lima lipinski digunakan untuk menggambarkan solubilitas senyawa dalam menembus sel oleh difusi pasif (Patrick, 2001, Lipinski, 2004, Widianti, 2013, Syahputra dkk., 2014). Selain parameter Hukum Lima Lipinski terdapat parameter lain yaitu nilai Torsion. Senyawa dapat dikatakan baik apabila memiliki ikatan hidrogen yang berotasi (Torsion) tidak lebih dari 10. Torsion ini berhubungan dengan fleksibilitas dan permeabilitas obat.

Berdasarkan Lampiran 8 terkait hasil prediksi sifat fisikokimia dengan parameter ADME diketahui bahwa senyawa heparin 2S pada sakarida 2 memenuhi semua parameter hukum lima Lipinski tanpa ada satu penyimpangan

dalam setiap parameternya. Dari hasil prediksi tersebut dapat diprediksi bahwa senyawa tersebut mudah untuk diabsorpsi serta memiliki permeabilitas yang baik. Sedangkan senyawa heparin 2SNS pada sakarida 2,3, dan 4 dan juga pada heparin 2S pada sakarida 3 tidak memenuhi hukum lima Lipinski karena memiliki berat molekul lebih dari 500 g/mol dan Hidrogen Akseptor lebih dari 10 dan hidrogen donor lebih dari 10. Menurut Lipinski (2004) jika senyawa gagal memenuhi hukum lima Lipinski maka kemungkinan besar terdapat masalah terkait absorpsi obat secara oral. Namun, suatu senyawa yang memenuhi hukum lima Lipinski tidak menjamin memiliki aktivitas yang baik karena hukum ini tidak berkaitan dengan struktur kimia tertentu yang terdapat dalam suatu senyawa. Namun berdasarkan pernyataan dari Chander et al (2017) dikemukakan bahwa 95% obat yang telah disetujui secara klinis sifat fisikokimia dengan kisaran sebagai berikut : Berat Molekul (130 sampai 725 g/mol), Ikatan Hidrogen Donor (0 sampai 6), Ikatan Hidrogen Akseptor (2 sampai 20), Log P (-2 sampai 6.5), dan Atom yang dapat berotasi (0–15). Berdasarkan pernyataan dari Chander et al (2017) maka senyawa heparin 2SNS pada sakarida 2, 3, dan 4 serta pada heparin 2S pada sakarida 3 masih memenuhi syarat apabila akan digunakan sebagai senyawa obat baru dengan cara meningkatkan permeabilitasnya. Hal tersebut juga dikuatkan oleh pernyataan Lipinski (2004) dan Chagas et al (2018) bahwa apabila suatu senyawa gagal memenuhi hukum lima Lipinski maka kemungkinan besar terdapat masalah terkait absorpsi obat secara oral. Namun, suatu senyawa yang memenuhi hukum lima Lipinski tidak menjamin memiliki aktivitas yang baik karena hukum ini tidak berkaitan dengan struktur kimia tertentu yang terdapat dalam suatu senyawa.

#### 4.9 Uji Aktivitas Biologi Senyawa Heparin dengan PassOnline

Tahap ini merupakan uji prediksi aktivitas senyawa heparin dalam mencegah, membunuh atau menghambat pertumbuhan dan penyebaran (anti neoplastik) pada kanker. Uji ini menggunakan software PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances). Analisis PASS berdasarkan pada SAR (Structure Activity Relationship) atau hubungan antara struktur dari senyawa tersebut dengan aktivitas biologinya (Filimonov dkk, 2014).

Berdasarkan hasil uji PASS (Prediction of Activity Spectra for Substance) senyawa heparin 2SNS pada sakarida 2, 3, 4, dan 5 memiliki nilai Pa lebih dari 0,7 ( $Pa > 0,7$ ). Sementara itu pada heparin 2S pada sakarida 2, 3, 4, dan 5 juga memiliki nilai Pa lebih dari 0,7 ( $Pa > 0,7$ ). Sedangkan pada sakarida 6 memiliki nilai Pa dalam rentang  $0,5 < Pa < 0,7$  (Lihat gambar 4.12).

Tabel 4.8. Nilai Pa (Probable activity) dan Pi (Probable inactivity) aktivitas anti-neoplastik Senyawa heparin oligomer 2S dan 2SNS 2-6 Sakarida

Sakarida	2S		2SNS	
	Pa	Pi	Pa	Pi
2	0,786	0,014	0,819	0,010
3	0,868	0,005	0,886	0,005
4	0,868	0,005	0,886	0,005
5	0,846	0,007	0,867	0,005
6	0,687	0,005	-	-

Data di atas menunjukkan bahwa pada heparin 2S dan 2SNS pada sakarida 2, 3, 4, dan 5 memiliki aktivitas anti-neoplastik yang tinggi dalam skala laboratorium karena memiliki nilai Pa lebih dari 0,7 ( $Pa > 0,7$ ). Sedangkan pada heparin 2S pada sakarida 6 memiliki aktivitas anti-neoplastik yang sedang dalam skala laboratorium karena memiliki nilai Pa dalam rentang  $0,5 < Pa < 0,7$  (Chelliah, 2008). Namun hal ini tidak menyatakan bahwa senyawa yang masih terbukti

rendah dalam skala laboratorium memiliki aktivitas yang rendah. Hanya saja senyawa-senyawa tersebut belum banyak yang meneliti dalam skala laboratorium sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut.

Senyawa yang memiliki nilai  $pa$  lebih besar dari 0,7 dianggap memiliki aksi farmakologis yang lebih baik, demikian pula senyawa yang memiliki nilai kurang dari 0,7 memiliki kemungkinan yang lebih kecil untuk diamati aktivitasnya (Habibiyar et al., 2016).

#### **4.10 Heparin sebagai Kandidat Senyawa Antikanker dalam Perspektif Islam**

Berbagai macam penyakit yang telah diberikan oleh Allah Swt terhadap hamba-Nya pasti akan mendapatkan obatnya diiringi dengan usaha serta sabar dan ikhlas untuk mencarinya. Sebagaimana hadits Nabi Muhammad Saw. Yang telah dijelaskan dalam riwayat Imam Muslim:

عَنْ جَابِرٍ عَنِ رَسُولِ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ أَنَّهُ قَالَ لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ فَإِذَا أُصِيبَ دَوَاءُ الدَّاءِ بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ عَزَّ وَجَلَّ

dari Abu Az Zubair dari Jabir dari Rasulullah shallallahu 'alaihi wasallam, beliau bersabda: *“Setiap penyakit memiliki obat. Bila obat sesuai dengan penyakitnya maka dia akan sembuh atas seizin Allah Subhanahu wa Ta'ala.”* (HR. Muslim)

Sesungguhnya Allah Swt telah menyediakan berbagai macam obat untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit yang diderita oleh hamba-Nya. Al-Audah (2014) menerangkan hadits di atas untuk memberi motivasi terhadap orang yang sakit agar tidak mudah putus asa serta ikhlas dalam mencari kesembuhan. Pada era sekarang ini segala penyakit seperti kanker dapat diusahakan untuk mencari kesembuhan melalui berbagai macam metode dengan

mengikuti perkembangan zaman melalui kecanggihan dan tidak terlepas atas izin Allah Swt. Walaupun manusia mampu mengembangkan berbagai penemuan baru bisa juga tidak akan terjadi tanpa seizin Allah. Sesungguhnya kesembuhan yang didapatkan bukanlah semata-mata dari obat yang diciptakan manusia, tetapi dari Allah yang mengizinkan obat tersebut membawa kesembuhan.

Ligan heparin mampu merangsang migrasi sel endotel yang mengaktivasi serta stabilisasi FGF sebagai angiogenik *Growth Factor (GF)*. *Fibroblast Growth Factor* mampu mengikat ligan dengan afinitas tinggi untuk *signal transduction complex* sehingga mengakibatkan replikasi sel. Aktivitas biologis heparin sebagai antikanker yaitu heparin dengan afinitas tinggi pada sakarida oktasakarida hingga dodekasakarida.

Heparin dapat dianggap sebagai senyawa antikanker dengan didasarkan pada tiga aspek yang meliputi: energi pengikatan, nilai konstanta inhibisi, dan interaksi antara ligan dan reseptor. Pada heparin oligomer 2S memiliki energi *binding* kurang dari -22,00 kkal/mol, konstanta inhibisi yang kecil, serta adanya sedikit interaksi pada situs aktif protein karena kurangnya senyawa sulfat yang berinteraksi. Namun berdasarkan pada penelitian Cole, dkk. (2010) Oligosakarida 2S heparin dari 2 sakarida tidak berpengaruh sebagai antikanker, dengan sedikitnya efek pada migrasi sel endotel yang diinduksi oleh FGF2 untuk merespon angiogenik. Namun, pada 12 sakarida mampu memberikan efek sebesar 55% dengan adanya reseptor sitokin (FGFR). Pembentukan tabung endotel serta fosforilasi tidak dipengaruhi oligosakarida 2S sehingga aktivitas kanker dalam tubuh oleh pertumbuhan pembuluh darah abnormal angiogenesis tidak dapat dihambat.

Aktivitas biologis sebagai antikanker terdapat pada Heparin 2SNS 5 sakarida hingga 12 sakarida dengan beberapa varian presentase. Interaksi terbanyak pada situs aktif FGF2-FGFR1 terdapat pada heparin sakarida 5,6, dan 7 dengan energi yang sangat besar sehingga dapat digunakan sebagai obat antikanker. Sebesar 89% migrasi sel endotel dapat dihambat dengan transduksi sinyal oleh FGF2 yang dibantu oleh FGFR1 dengan bantuan mediasi heparin 2SNS. Proliferasi sel endotel dapat dihambat sebesar 35% dan 59% ketika heparin 10 dan 12 sakarida berinteraksi dengan FGF2 dan sebesar 68% ketika berinteraksi FGFR. Mekanisme kerja pada penyakit kanker dapat dihambat dengan mengurangi fosforilasi pada protein oleh heparin. Hal ini sesuai dengan penelitian yang menunjukkan energi *binding* bernilai negatif, konstanta inhibisi kecil. Serta banyaknya interaksi pada situs aktif FGF2-FGFR1. Heparin 11 dan 12 sakarida 2SNS mempunyai energi binding kecil karena dipengaruhi oleh panjang residu, akan tetapi masih dapat dianggap sebagai aktivitas biologis.

## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

- a. Docking heparin <sup>4</sup>C<sub>1</sub> 2-12 sakarida 2S dan 2SNS pada FGFR1-FGF2 menunjukkan nilai energi binding negatif. Hasil energi binding docking heparin 2SNS 5-10 sakarida dan heparin 2S pada 4-9 sakarida menghasilkan energi lebih rendah. Kestabilan molekul yang lebih baik ditunjukkan pada sulfasi heparin 2SNS 5 sakarida dengan energi sebesar -17,02 kkal/mol.
- b. Interaksi untuk molekul docking tergantung pada sulfasi dan panjang heparin. Interaksi yang berperan penting dalam mengikat sisi aktif yaitu Lys 26, Lys 119, Lys 125, Lys 129, Lys 135, Lys 160, Lys 163, Lys 172, Lys 175, Lys 177, Lys 207, Asn 27, Arg 120, dan Thr 173. Interaksi yang terbentuk yaitu ikatan hidrogen, interaksi elektrostatik, jembatan garam, ikatan hidrofobik, dan ikatan pi. Heparin 2-12 sakarida 2SNS berinteraksi lebih kuat dibandingkan heparin 2S pada sisi aktif FGFR1-FGF2.
- c. Heparin 2SNS 5 sakarida pada FGFR1-FGF2 memberikan energi kluster ke-2 sebesar -14529,52 kJ/mol. RMSD reseptor pada C2K1 sebesar 1,380 dan RMSD ligan 2SNS C2K1 sebesar 1,697471 Å.
- d. Hasil prediksi sifat fisikokimia dengan SwissADME menunjukkan bahwa heparin 2S pada sakarida 2 memenuhi Hukum Lima Lipinski sedangkan pada heparin 2SNS pada sakarida 2, 3, dan 4 tidak memenuhi Hukum Lima Lipinski. Sementara hasil prediksi aktivitas biologi menunjukkan bahwa pada heparin 2S dan

2SNS pada sakarida 2, 3, 4, dan 5 memiliki aktivitas anti-neoplastik yang tinggi dalam skala laboratorium karena memiliki nilai  $P_a$  lebih dari 0,7 ( $P_a > 0,7$ ).

## 5.2 Saran

Berdasarkan adanya kekurangan pada penelitian ini maka disarankan :

- a. Terkait dengan fleksibilitas protein yang lebih tinggi sehingga diperlukan menggunakan aplikasi yang mampu mencakup protein yang lebih besar dengan torsi besar seperti GOLD, Surflex, ZeDock.
- b. Terkait dengan hasil energi docking yang masih belum merupakan energi minimum, maka perlu dilakukan optimasi hasil docking seperti melihat energi interaksi antara reseptor-ligan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abraham D.J, editor. *Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery*. 6th ed. Volume 1. Wiley Interscience. New York. 2003. hal : 286-290. E-Book.
- Al-Audah, Salman. 1998. Bersama Sang Nabi edisi 1. Terjemahan oleh Nur, Fuad Syaifudin. 2014. Jakarta: Pustaka Al-Kautsar.
- Al-Huwaimil, Shalih bin Rasyid. Ketika Allah Mengabulkan Doa. Terjemahan oleh Afnan, Abu. 2018. Jakarta: Mirqat Publishing.
- Babik, Sandor., Samsonov, Sergey A., dan Pisabarro, M Teresa. 2017. Computational Drill Down on FGF1-Heparin Interactions Through Mthodological Evaluation. *Glycoconjugate Journal*, 34(3): 427-440.
- Bernard, W.I. 2000. "Disorders in Cell Circuitry During Multistage Carcinogenesis:The Role of Homeostasis." *Carcinogenesis* 21. 857-64.
- Biasini M, Bienert S, Waterhouse A, Arnold K, Stunder G, Sxhmidt T, Kiefer F, Cassarino TG, Bertoni M, Bordoli L, Schwede T (2014). "SWISS-MODEL. Modelling protein tertiary and quaternary structure using evolutionary information". *Nucleic Acids Research*.42 (W1): 195-201.
- Bikfalvi A, Klein S, Pintucci G, Rifkin DB. Biological roles of fibroblast growth factor-2. *Endocrine reviews*. 1997;18(1):26-45.
- Black, J., dan Hawks, J. 2014. Keperawatan Medikal Bedah: Manajemen Klinis untuk Hasil yang Diharapkan. Dialih bahasakan oleh Nampira R. Jakarta: Salemba Emban Patria.
- B. Casu, M. Petitou, A. provasoli, P. Sinay, *Trends Biochem. Sci*. 1988, 13, 221-225; B. Mulloy, M. J. Forster, *Glycobiology* 2000, 10, 1147-1156.
- Brandon, Christopher J., Martin, Benjamin P., McGee, Kelly J., Stewatr, James. J.P., dan Braund-Sand, Sonja B. 2015. An Approach to Creating a more Realistic Working Model from a Protein Data Bank Entry. *Journal Molecule Model*, 21(1): 2520
- Canales, A.; Angulo, J.; Ojeda, R.; Bruix, M.; Fayos, R.; Lozano, R.; Gimenez-Gallego, G.; Martin-Lomas, M.; Nieto, P. M.; Jimenez-Barbero, J. J. *Am. Chem. Soc*. 2005, 127, 5778.
- Chagas, C. M., Moss, S., & Alisaraie, L. 2018. Drug metabolites and their effects on the development of adverse reactions: Revisiting Lipinski's Rule of Five. *International journal of pharmaceutics*, 549(1-2), 133–149.

- Corwin EJ. Handbook of Pathophysiology 3rd edition. USA: LippincottWilliams and Wilkins. 2008. hal : 66-81. E-Book
- Casu, B.; Lindahl, U. Adv. Carbohydr. Chem. Biochem. 2001, 57, 159.
- Chesi, M., Nardini, E., Brents, L.A., Schrock, E., Ried, T., Kuehl, W.M. & Bergsagel, P.L. (1997) Frequent translocation t(4;14)(p16.3;q32.3) in multiple myeloma is associated with increased expression and activating mutation of fibroblast growth factor receptor 3. *Nature Genetic*, 16, 260-264.
- Cieplak, Piotr., Cornell, Wendy D., Bayly, Christopher., dan Kollman, Peter A. 1995. Application of the Multimolecule and Multiconformational RESP Methodology to Biopolymers: Charge Derivation for DNA, RNA, and Proteins. *Journal of Computational Chemistry*, 16(11): 1357-1377.
- Cole, Claire L., Hansen, Steen U., Baráth, Marek., Rushton, Graham., Gardiner, John M., Avizienyte, Egle., dan Jayson, Gordon C. 2010. Synthetic Heparan Sulfate Oligosaccharides Inhibit Endothelial Cell Functions Essential for Angiogenesis. *PLoS ONE*, 5(7): e11644.
- Faham S., Hileman R.E., Fromm J.R., Linhardt R.J., Rees D.C. (1996) Heparin structure and interaction with basic fibroblast growth factor. *Science*;271:1116.
- Farrell, Brendan., dan Breeze, Alexander L. 2018. Structure, Activation and Dysregulation of Fibroblast Growth Factor Receptor Kinases: Perspectives for Clinical Targeting. *Biochemical Society Transaction*, 46(6): 1753-1770
- Ferreira. (2015). Molecular Docking and Structure-Based Drug Design Strategies. *Molecules*. *Molecules* 2015, 20, 13384-13421.
- Ferro D.R., Provasoli A., Ragazzi M., Casu B., Torri G., Bossennec V. et al. (1990) Conformer populations of L-iduronic acid residues in glycosaminoglycan sequences. *CarbohydratesRes*;195:157–167.
- Filion RJ, Popel AS. A Reaction-Diffusion Model of Basic Fibroblast Growth Factor Interactions with Cell Surface Receptors. *Annals of Biomedical Engineering*. 2004; 32(5): 645-63.
- Fuhrmann, Jan., Rurainski, Alexander., Lenhof, Hans-Peter., dan Neuhmann, Dirk. 2010. A New Lamarckian Genetic Algorithm for Flexible Ligand-Receptor Docking. *Journal of Computational Chemistry*, 31(9): 1911-1918.
- Giancarlo Gishelli. Heparin Binding Proteins as Therapeutic Target: An Historical Account and Current. 29 July 2019.

- Gilson, M.K., Zhou, H. X. 2007. Calculation of protein-ligand binding affinities. *Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure*. 36:21-42.
- Gomez-Jeria, Juan S., Robles-Navarro, Andres., Kpotin, Gaston Assongba., dan Gatica-Diaz, Nelson. 2020. Some Remarks about the Relationships between the Common Skeleton Concept within the Klopman-Peradejordi-Gomez QSAR Method and the Weak Molecule-Site Interactions. *Chemistry Pharmaceuticl Design*, 13(20): 2045-2056.
- Gross, P. L., dan Weitz J. L., 2009. New Antithrobotic Drugs. *Clinical Pharmacology & Therapeutics* (86): 139-146.
- Hammes, D., dan Hooper, N. 2005. *Biochemistry Third edition*. Leeds, UK: Taylor & Francis Group.
- Hanahan, D. And R.A. Weinber. 200. The Hallmarks of cancer. *Cell*. 100: 57-70.
- Herbst RS. Therapeutic options to target angiogenesis in human malignancies. *Expert Opin Emerg Drugs*. 2006;11(4):635-50
- Hevener, K., Zhao, W., Ball, D., Babaoglu, K., Qi, J.J., White, S., Lee, R. 2009. Validation of molecular docking programs for virtual screening against dihydropteroate synthase. *J of Chemical Information and Modeling*. 46(2):444460.
- Hricovini M., Guerrini M., Basio A., Torri G., Naggi A., Casu B. (2002) Active conformation of glycoaminoglicans. NMR determination of the conformation of heparin sequences complexed with antithrombin and fibroblast factor in solution. *Semio Thromb Hermost*, 28:325-334.
- Huey, Written Ruth., dan Morris, Garrett M. 2006. Using Autodock with Autodocktools: A Tutorial. *The Scripps Research*.
- Idrees, S., Ashfaq, U.A. 2014. Discovery and design of cyclic peptides as dengue virus inhibitors through structure-based molecular docking. *Asian Pasifi Journal of Tropical Medicine*. 7(7):513-516.
- I. Capila, R. J. Linhardt, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 426-450; *Angew. Chem. Int. Ed.* 2002, *41*, 390-412.
- Joyce, James., Baker, Colin., dan Swain, Helem. 2002. Prinsip-prinsip Sains untuk Keperawatan. Terjemahan oleh Wardhani, Indah Retno. 2008. Jakarta: Erlangga.
- Kan M, Wang F, Xu J, Crabb JW, Hou J, McKeehan WL. An essential heparin-binding domain in the fibroblast growth factor receptor kinase. *Science*. 1993;259(5103):1918-21.

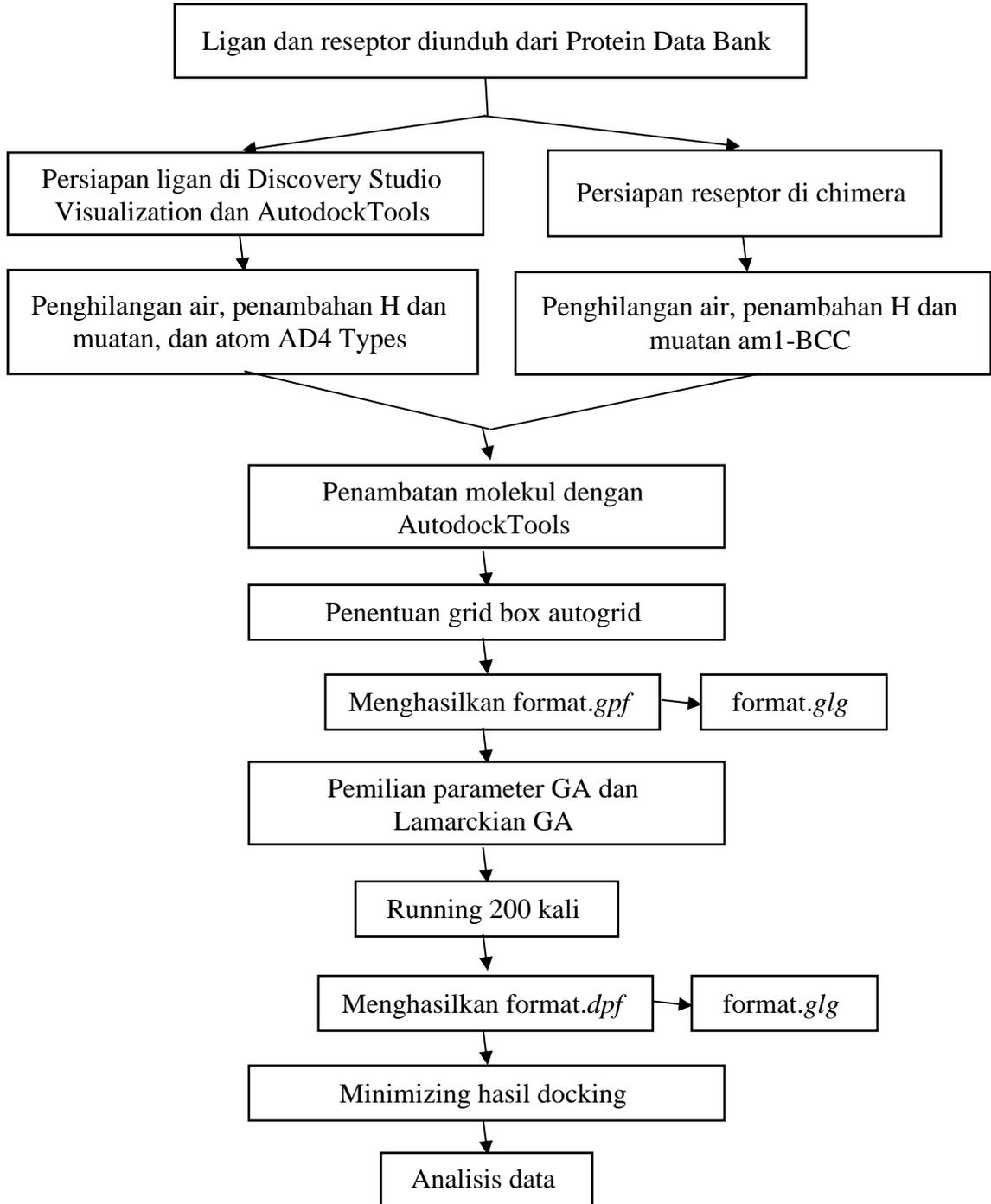
- Katili, Abubakar Sidik. 2009. Struktur dan Fungsi Protein Kolagen. *Jurnal Pelangi Ilmu*, 2(5).
- Kolina, Jennifer., Sumiwi, Sri Adi., dan Levita, Jutti. 2018. Mode Ikatan Metabolit Sekunder di Tanaman Akar Kuning (*Arcangelista flava* L) dengan Nitrat Oksida Sintase. *Fitofarmaka Jurnal Ilmiah Farmasi*, 8(1): 50-58.
- Kuchel, Philip W., Ralston, Gregory B. 2002. *Biokimia*. Terjemahan oleh Laelasari, Eva. 2006. Jakarta: Erlangga.
- Ling ling, Si Kee Tan, Ting Hwee Goh, Edwin Cheung, Victor Nurcombe, Andre J. Van Wijnem and Simon M.Cool. (2015). Targeting the heparin-binding domain of fibroblast growth factor receptor 1 as a potential cancer therapy. *Molecular Cancer*. DOI 10.1186/s12943-015-0391-4.
- Lipinski C. A. 2004. Lead- and drug-like compounds: the rule-of-five revolution. *Drug discovery today. Technologies*, 1(4), 337–341.
- Marco Guerrini, Milos Hricovini and Giangiacomo Torri, 2007. Interaction of Heparins with Fibroblast Growth Factors: Conformational Aspects. *Current Pharmaceutical Design*. 13,2045-2056
- Morris, Garrett M. Et al. 2009. “AutoDock 4.2 User Guide.” *The Scripps Research Institute*.:1-66.
- Morris, Goodsell, Pique, Lindstrom, dan Huey. 2014. User Guide AutoDock Version 4.2. Updated for Version 4.2.6. USA: The Scripps Research Institute.
- Mukesh, B. Dan Rakesh, K. 2011. Molecular Docking; A Review. *Int. Journal of Research in Ayurveda & Pharm*, 2 (6): 1746-1751
- Mulloy, B., Forster, M.J., Jones, C. and Davies, D.B. (1993) NMR molecular modelling studies of the solution conformation of heparin. *Biochem. J.* 293, 849-858.
- Murray, R. K., Granner D.K., Mayes P. A., dan Rodwell V. W. 2003. *Biokimia Harper*. Diterjemahkan oleh Andry Hartono. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC Medical Publisher.
- Nafriadi, S.A. *Famakologi dan Terapi Edisi 5*. Departemen Farmakologidan Terapeutik Fakultas Kedokteran UI. Jakarta. hal : 732
- Nelson, David L., dan Cox, Michael M. 2008. *Lehninger Principle of Biochemistry* Fitfh ed. New York: W.H. Freeman and Company.

- Novalina. 2003. Penggunaan Tanaman Obat Sebagai Upaya Alternatif dalam Terapi Kanker. Pengantar ke Falsafah Sain. PPS Institut pertanian Bogor.
- Otrock ZK, Mahfouz RAR, Makarem JA, Shamseddine AI. Understanding the Biology of Angiogenesis: Review of the Most Important Molecular Mechanisms. *Blood Cells, Molecules, and diseases*. 2007; 39: 212-20.
- Peterson D, Harward S, Lawson J.H. Anticoagulation Strategies for venous thrombo embolism. *Perspect Vasc Surg Endovasc Ther* 2009; 21;125.
- Plotnikov, Alexander N., Schlessinger, Joseph., Hubbard, Stevan R., dan Mohammadi, Moosa. 1999. Structural Basis for FGF Receptor Dimerization and Activation. *Cell*, 98: 641–650.
- Poveda, A. and Barbero J.J. (1998) NMR studies of carbohydrate protein interactions in solution. *Chem. Soc. Rev.* 27,133-143.
- Purnomo, H. 2013. Kimia komputasi: molecular docking plants penambatan molekul plants [protein-ligand-and-system] (“ilmu semut”). Pustaka pelajar. Yogyakarta. 62-63.
- Raffi, S. 2002. Efficient mobilization and recruitment of marrow-derived endothelial and hematopoietic stem cells by adenoviral vectors expressing angiogenic factors. *J. Ther.* 9:631-641.
- Ragazzi, M., Ferro, D.M. and Provasoli, M. (1986). A force-field study of the conformational characteristics of the iduronate rings. *J. Comp. Chem.* 7, 105112
- Rester, U. 2008. From virtuality to reality virtual screening in lead discovery and lead optimization: a medicinal chemistry perspective. *Current Opinion in Drug Discovery & Development*. 11: 559-568.
- Sandeep, G, Nagasree, K. P., Hanisha, M., & Kumar, K. 2011. AutoDock LE: A GUI for Virtual Screening with AutoDock Vina. *BMC Research Notes*.
- Sari, Indah Wulan., Junaidin., dan Pratiwi, Dina., 2020. Molecular Docking Study Flavanoid Compounds from Kumis Kucing (*Orthosiphon stamineus B.*) in  $\alpha$ -Glukosidase Receptor as Antidiabetic Type 2. *Jurnal Farmagazine*, 7(2): 54-60
- Schumacher MA, Choi KY, Zalkin H and Brennan RG (1994) Crystal structure of LacI member, PurR, bound to DNA: minor groove binding by  $\alpha$ -helices. *Science*, 266, 763-770.
- Setyabudi, R., dan Nafriadi, Gunawan, S. G., 2007, Farmakologi dan Terapi, Edisi kelima, Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.

- Soliman, S. d. (2016). Decomposition of Intermolecular Interactions in the Crystal Structure of Some Diacetyl Platinum(II) Complexes. *Combined Hirshfeld, AIM, and NBO Analyses. Molecules*, 21(12), 1669.
- Sousa, S.F, Fernandes, P.A., Ramos, M.J. 2006. Protein-ligand docking: current status and future challenges. *Proteins*. 65(1):15-26.
- S. K. Das, J-M. Mallet, J. Esnault, P-A. Driguez, P. Duchaussoy, P. Sizun, J,-P. Herault, J,-M. Herbert, M. Petitou, P.Sinay , *Angew. Chem.* 2001, 113, 1723-1726; *Angew. Chem. Int. End.* 2001, 40, 1670-1673.
- Tangkery, R.A.B., Paransa, D.S., dan Rumengan, A. (2013). Uji Aktivitas Antikoagulan Ekstrak Mangrove *Aegiceras corniculatum*. *Jurnal pesisir dan Laut Tropis*. 1(1): 7-14.
- UCSF CHIMERA : An Extensible Molecular Modelling System.* (2010). Diunduh tanggal 7 januari 2010 pukul 08.41 dari <http://www.cgl.ucsf.edu/chimera/>
- Wang X, Gong Y, Wang D, Xie Q, Zheng M, Zhou Y, et al. Analysis of Gene Expression Profiling in Meningioma: Deregulated Signaling Pathways Associated with Meningioma and EGFL6 Overexpression in Benign Meningioma Tissue and Serum. *PLOS ONE*. 2012; 7(12): 1-10.
- Wang Z, et al. (1995). The yeast TFB1 and SSL1 genes, which encode subunits of transcription factor IIH, are required for nucleotide excision repair and RNA polymers TT transcription. *Mol Cell Biol* 15(4):2288-93.
- Weingarten, N. 2011. Autodock.<https://appdb.ebi.eu/store/software/autodock.vina>
- Wu XY, Xu H, Wu ZF, Chen C, Liu JY, Wu GN, et al. Formononetin, a Novel, FGFR2 Inhibitor, Potently Inhibits Angiogenesis and Tumor Growth in Preclinical Models. *Oncotarget*. 2015; 6(42): 44563-78.

## LAMPIRAN

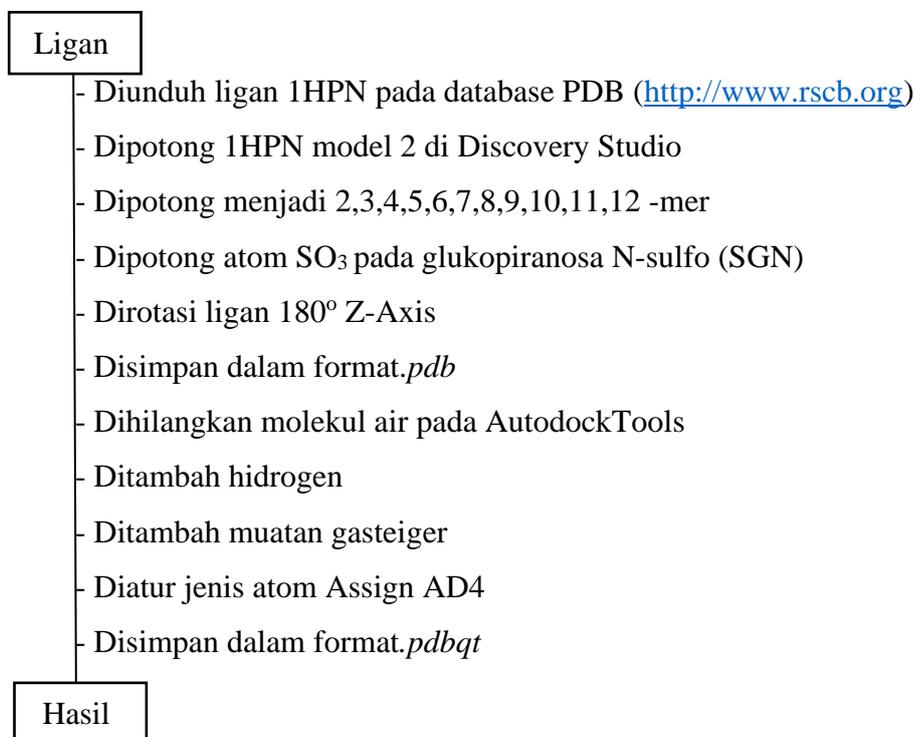
### Lampiran 1. Rancangan Penelitian



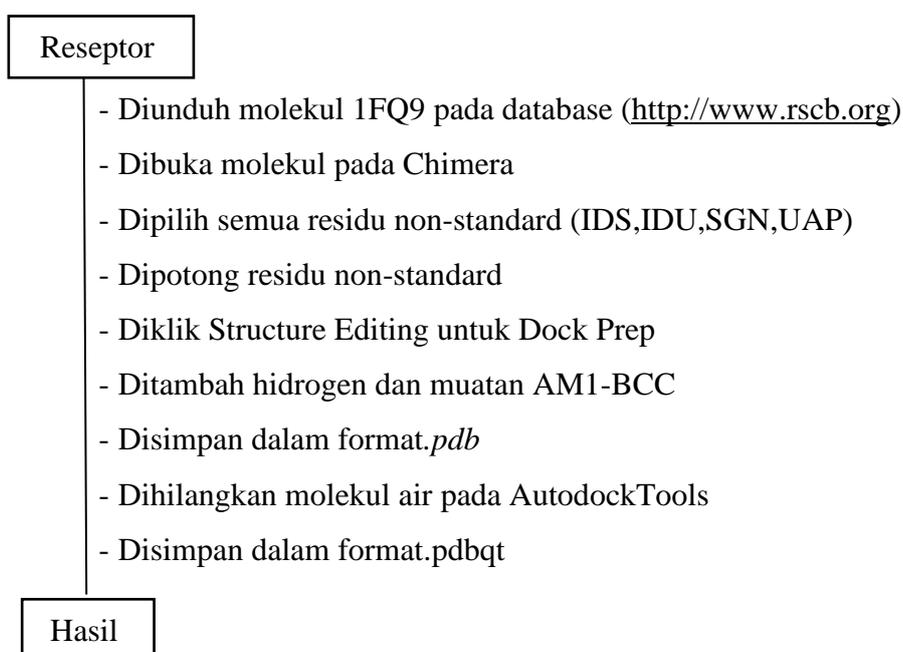
## Lampiran 2 Diagram Alir

### 2.1 Penyiapan Ligan dan Reseptor

#### 2.1.1 Penyiapan Ligan



#### 2.1.2 Penyiapan Reseptor



## 2.2 Proses Molekuler Docking

### Ligan dan Reseptor

- Dibuka format *.pdbqt* pada AutodockTools
- Dipilih makromolekul pada grid
- Dipilih ligan untuk Set Map Types
- Diatur grid box dengan pusat koordinat X: 80.4594 Y: 23.0947 Z: 104.054, volume grid 90 x 90 x 90 Å, dan spacing 0.375
- Disimpan dalam format *.gpf*
- Dipilih makromolekul kaku untuk docking
- Dipilih ligan
- Dipilih parameter Genetic Algorithm
- Diatur Number of GA Runs 200 kali dengan Maximum Number of Energy Evaluations medium 250.000
- Diklik Docking Parameter
- Dipilih Lamarckian GA
- Disimpan dalam format *.dpf*
- Dibuka *command prompt*
- Dilakukan running `autogrid4.exe -p docking.gpf -l docking.glg`
- Dilakukan running `autodock4.exe -p docking.gpf -l docking.glg`

### Hasil

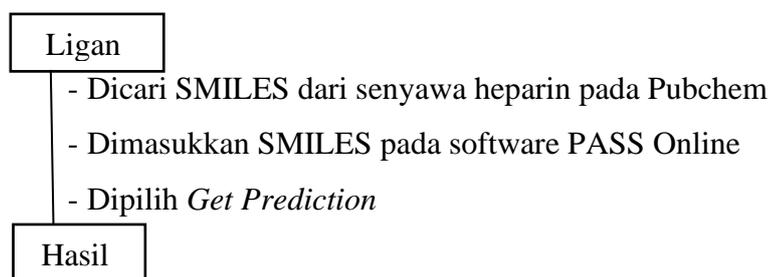
## 2.3 Uji Kemiripan Obat dengan SwissADME

### Ligan

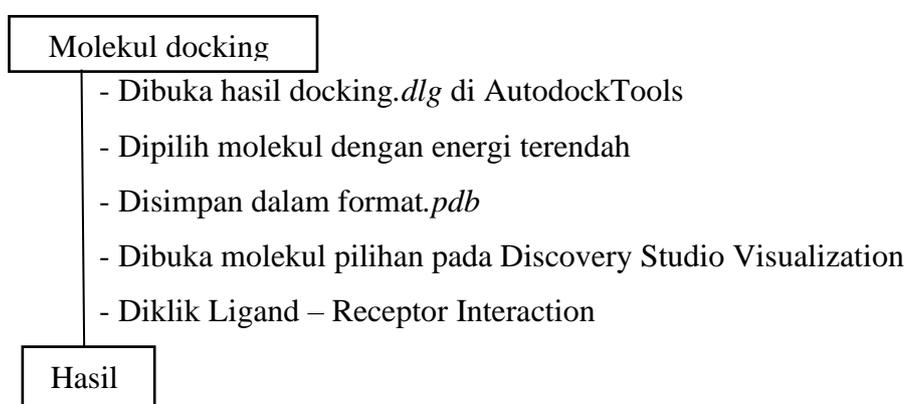
- Dicari SMILES senyawa heparin pada [pubchem.ncbi.nlm.nih.gov](http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov).
- Dickey SMILES yang digunakan
- Dibuka web SwissADME ([www.swissadme.com](http://www.swissadme.com))
- Dipaste SMILES yang digunakan pada kolom sebelah kanan yang bertuliskan 'list SMILES'
- Diklik tombol Run dan tunggu beberapa saat

### Hasil

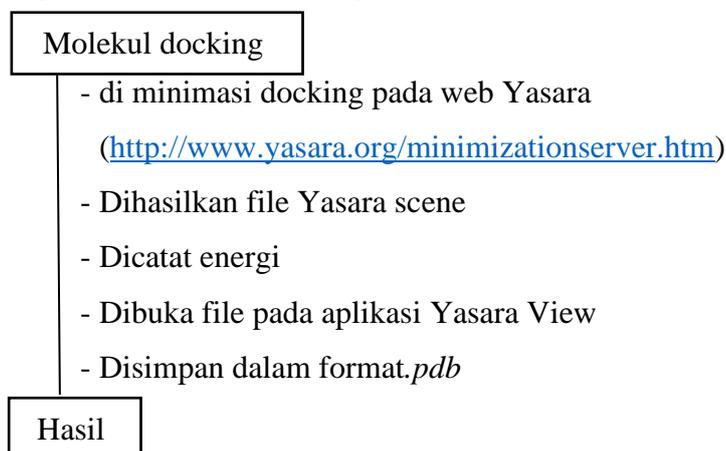
## 2.4 Prediksi Aktivitas Anticancer Menggunakan PASS Online (*Prediction of Activity Spectra for Substances*)



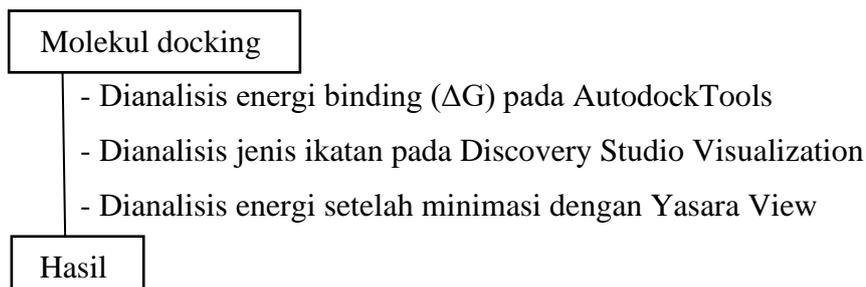
## 2.5 Visualisasi molekul



## 2.6 Optimasi Molekul Docking

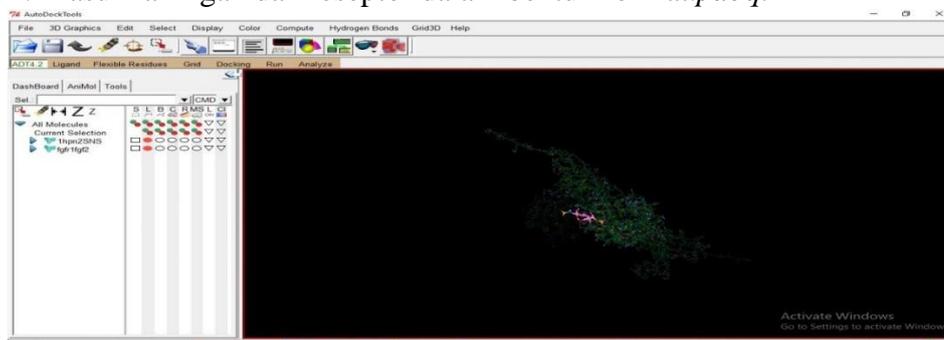


## 2.7 Analisis Data

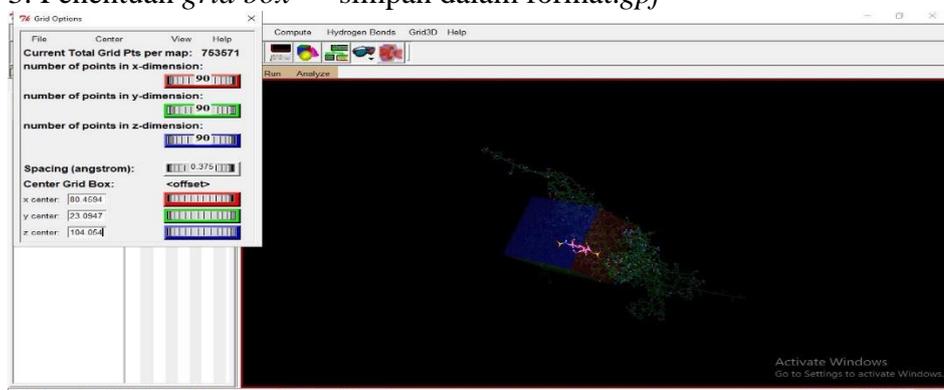


### Lampiran 3. Proses Manual Docking

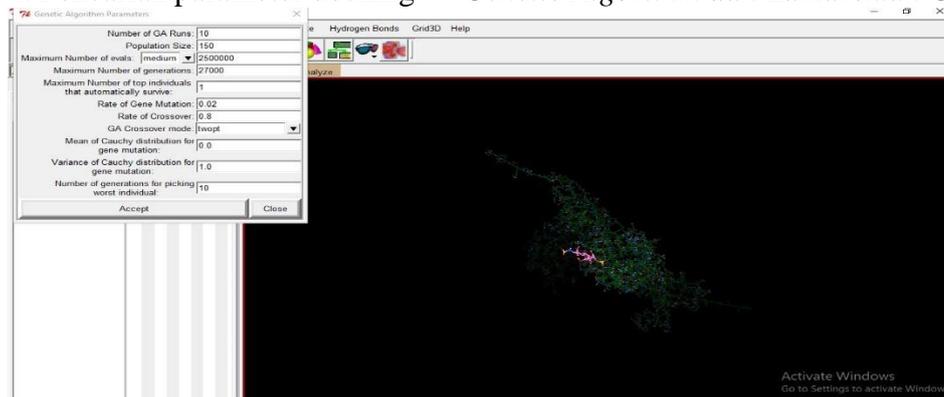
1. Buka aplikasi AutodockTools
2. Masukkan ligan dan reseptor dalam bentuk format *.pdbqt*

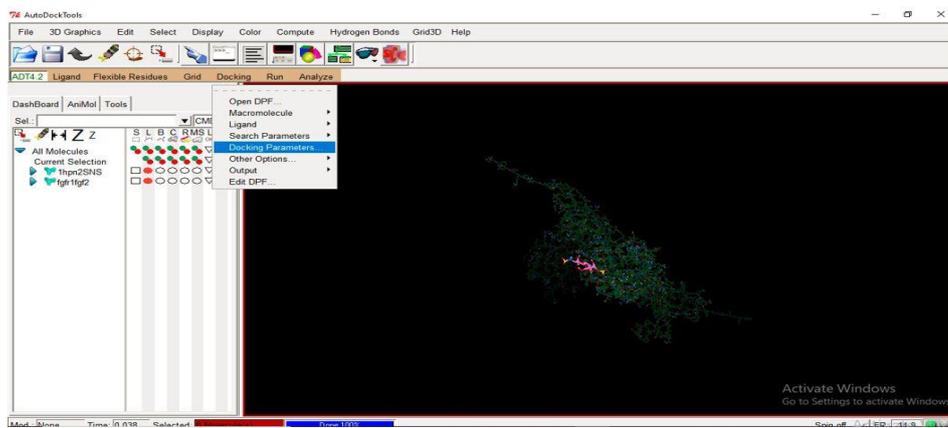
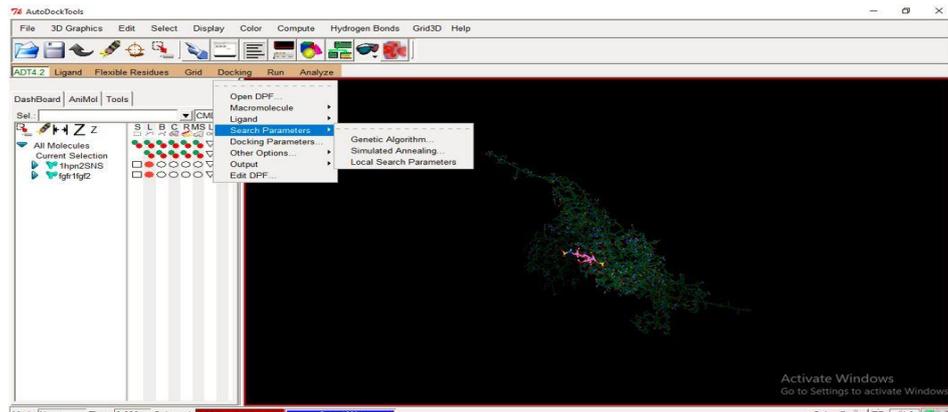


3. Penentuan *grid box* → simpan dalam format *.gpf*

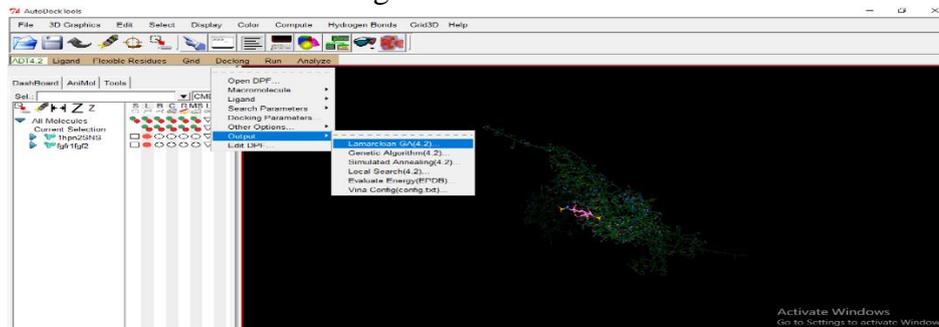


4. Pencarian parameter docking → *Genetic Algorithm dan Lamarckian GA*

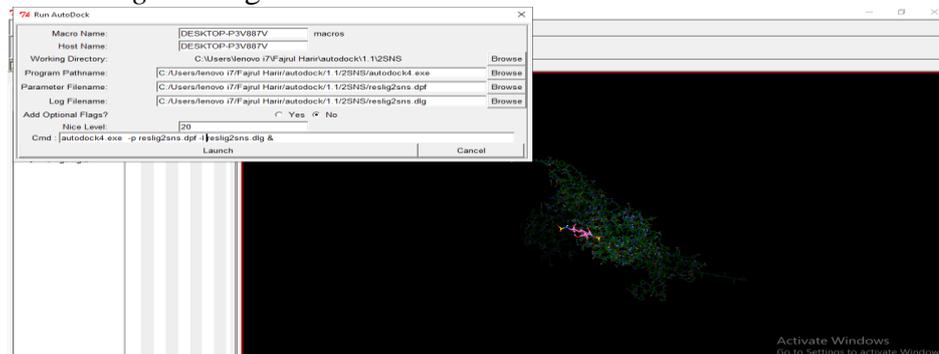




## 5. Hasil file keluaran docking



## 6. Running docking



## 7. Hasil file.glg

```

reslig2sns - Notepad
File Edit Format Lihat Bantuan
GPF> npts 90 90 90 # num.grid points in xyz

Number of grid points in x-direction: 91
Number of grid points in y-direction: 91
Number of grid points in z-direction: 91

GPF> gridfld fgfr1fgf2.maps.fld # grid_data_file
Creating (AVS-readable) grid maps file : fgfr1fgf2.maps.fld
Creating (AVS-readable) grid-coordinates extrema file : fgfr1fgf2.maps.xyz

GPF> spacing 0.375 # spacing(A)
Grid Spacing : 0.375 Angstrom

GPF> receptor_types A C HD N NA OA SA # receptor atom types
GPF> ligand_types HD C S OA N # ligand atom types

Atom type names for ligand atom types 1-5 used for ligand-atom affinity grid maps:

Atom type number 0 corresponds to atom type name "HD".
Atom type number 1 corresponds to atom type name "C".
Atom type number 2 corresponds to atom type name "S".
Atom type number 3 corresponds to atom type name "OA".
Atom type number 4 corresponds to atom type name "N".
  
```

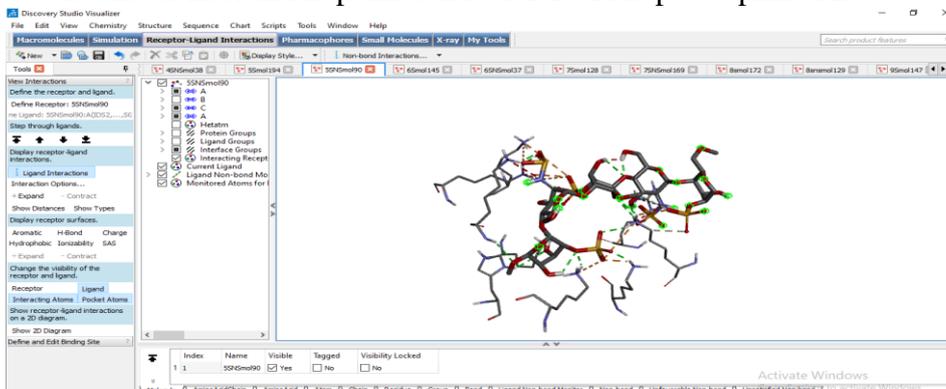
## 8. Hasil file.dlg

reslig2sns - Notepad  
File Edit Format Lihat Bantuan

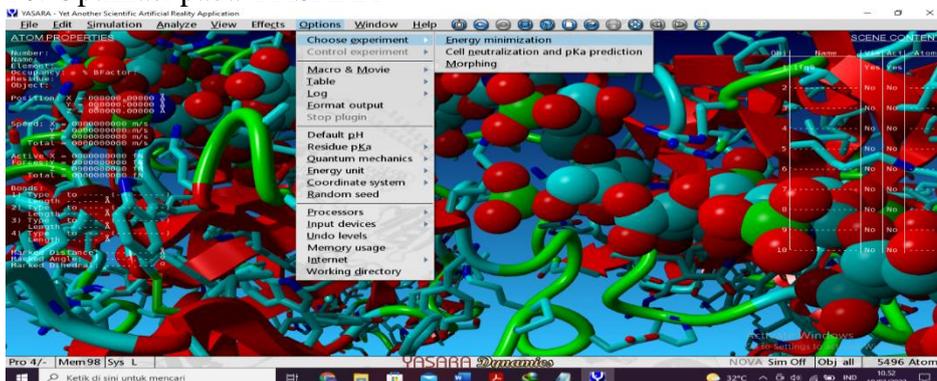
RMSD TABLE

Rank	Sub-Rank	Run	Binding Energy	Cluster RMSD	Reference RMSD	Grep Pattern
1	1	170	-12.72	0.00	139.12	RANKING
1	2	146	-12.17	0.63	139.09	RANKING
1	3	44	-12.04	1.11	138.31	RANKING
1	4	37	-11.88	1.08	138.66	RANKING
1	5	106	-11.86	1.70	138.97	RANKING
1	6	113	-11.74	1.13	139.30	RANKING
1	7	133	-11.46	0.83	139.08	RANKING
1	8	10	-11.31	0.93	139.31	RANKING
1	9	129	-11.06	1.35	139.64	RANKING
1	10	88	-10.87	1.96	138.72	RANKING
1	11	117	-10.68	1.79	139.00	RANKING
1	12	82	-10.64	1.66	139.40	RANKING
1	13	64	-10.14	1.50	139.10	RANKING
1	14	49	-10.11	1.37	138.07	RANKING
1	15	9	-10.02	1.96	138.94	RANKING

## 9. Visualisasi interaksi heparin dan FGF2-FGFR1 pada aplikasi DSV



## 10. Optimasi pada YASARA



## Lampiran 4. File DLG heparin 5 sakarida 2SNS dan FGF2-FGFR1

```

reslig5sns - Notepad
File Edit Format Lihat Bantuan

Number of multi-member conformational clusters found = 10, out of 200

RMSD TABLE

Rank  Sub-Rank  Run  Binding Energy  Cluster RMSD  Reference RMSD  Grep Pattern
1      1      90    -17.02          0.00        121.59          RANKING
2      1     163    -16.63          0.00        122.28          RANKING
3      1     189    -15.82          0.00        120.12          RANKING
4      1      12    -14.64          0.00        119.81          RANKING
5      1     88    -14.60          0.00        126.01          RANKING
6      1     147    -14.44          0.00        117.60          RANKING
7      1      11    -14.44          1.96        116.74          RANKING
8      1     115    -14.38          0.00        118.27          RANKING
9      1     164    -14.20          0.00        118.23          RANKING
10     1     186    -14.19          0.00        118.47          RANKING
11     2     60    -14.08          0.00        122.50          RANKING
12     1     157    -14.05          0.00        119.10          RANKING
13     1     103    -13.74          0.00        119.40          RANKING
14     1     116    -13.67          0.00        119.45          RANKING
15     1     82    -13.61          0.00        115.97          RANKING
16     2     95    -13.32          1.97        115.69          RANKING
17     1     125    -13.27          0.00        118.75          RANKING
18     1     209    -13.16          0.00        120.37          RANKING
19     2      8    -11.98          1.70        119.02          RANKING
20     1     45    -11.83          0.00        120.37          RANKING
21     2     190    -12.83          1.96        119.86          RANKING
22     1     87    -13.02          0.00        123.16          RANKING

reslig5sns - Notepad
File Edit Format Lihat Bantuan

INPUT LIGAND PDBQT FILE:

INPUT-LIGAND-PDBQT: REMARK      32 active torsions:
INPUT-LIGAND-PDBQT: REMARK status: ('A' for Active; 'I' for Inactive)
INPUT-LIGAND-PDBQT: REMARK      1 A  between atoms: C2_2 and O2_7
INPUT-LIGAND-PDBQT: REMARK      2 A  between atoms: C3_3 and O3_8
INPUT-LIGAND-PDBQT: REMARK      3 A  between atoms: C4_4 and O4_10
INPUT-LIGAND-PDBQT: REMARK      4 A  between atoms: C5_5 and C5_6
INPUT-LIGAND-PDBQT: REMARK      5 A  between atoms: C6_6 and O6_12
INPUT-LIGAND-PDBQT: REMARK      6 A  between atoms: O2_7 and S_13
INPUT-LIGAND-PDBQT: REMARK      7 A  between atoms: O4_10 and C1_18
INPUT-LIGAND-PDBQT: REMARK      8 A  between atoms: C2_19 and N2_24
INPUT-LIGAND-PDBQT: REMARK      9 A  between atoms: C3_20 and O3_26
INPUT-LIGAND-PDBQT: REMARK     10 A  between atoms: C4_21 and O4_28
INPUT-LIGAND-PDBQT: REMARK     11 A  between atoms: C5_22 and C6_23
INPUT-LIGAND-PDBQT: REMARK     12 A  between atoms: C6_23 and O6_30
INPUT-LIGAND-PDBQT: REMARK     13 A  between atoms: N2_24 and S1_32
INPUT-LIGAND-PDBQT: REMARK     14 A  between atoms: O4_28 and C1_36
INPUT-LIGAND-PDBQT: REMARK     15 A  between atoms: C2_37 and O2_42
INPUT-LIGAND-PDBQT: REMARK     16 A  between atoms: C3_38 and O3_43
INPUT-LIGAND-PDBQT: REMARK     17 A  between atoms: C4_39 and O4_45
INPUT-LIGAND-PDBQT: REMARK     18 A  between atoms: C5_40 and O5_44
INPUT-LIGAND-PDBQT: REMARK     19 A  between atoms: O2_42 and S_47
INPUT-LIGAND-PDBQT: REMARK     20 A  between atoms: O4_45 and C1_52
INPUT-LIGAND-PDBQT: REMARK     21 A  between atoms: C2_53 and N2_58
INPUT-LIGAND-PDBQT: REMARK     22 A  between atoms: C3_54 and O3_60
INPUT-LIGAND-PDBQT: REMARK     23 A  between atoms: C4_55 and O4_62
INPUT-LIGAND-PDBQT: REMARK     24 A  between atoms: C5_56 and C6_57
INPUT-LIGAND-PDBQT: REMARK     25 A  between atoms: C6_57 and O6_64
INPUT-LIGAND-PDBQT: REMARK     26 A  between atoms: N2_58 and S1_66
INPUT-LIGAND-PDBQT: REMARK     27 A  between atoms: O4_62 and C1_70
INPUT-LIGAND-PDBQT: REMARK     28 A  between atoms: C2_71 and O2_76
INPUT-LIGAND-PDBQT: REMARK     29 A  between atoms: C3_72 and O3_77
INPUT-LIGAND-PDBQT: REMARK     30 A  between atoms: C4_73 and O4_79

reslig5sns - Notepad
File Edit Format Lihat Bantuan

AutoDock 4.2 Release 4.2.6
(C) 1989-2012 The Scripps Research Institute
AutoDock comes with ABSOLUTELY NO WARRANTY.
AutoDock is free software, and you are welcome
to redistribute it under certain conditions;
for details type 'autodock4 -C'

main.cc $Revision: 1.213 $

Compiled on Jul 18 2014 at 15:34:58

This file was created at: 10:35 23" p.m., 01/25/2022
on host: "DESKTOP-P3V887V"
Current Working Directory = "C:\Users\lenovo i7\Fajrul Harir\autodock\1.1\5SNS"

SETTING UP DEFAULT PARAMETER LIBRARY

Random number generator was seeded with values 2788, 1643124923.
Docking parameter file (DPF) used for this docking: reslig5sns.dpf
DPF> autodock_parameter_version 4.2 # used by autodock to validate parameter set

Autodock parameter version 4.2.
DPF> outlev 1 # diagnostic output level

Output Level = 1 ADT-COMPATIBLE OUTPUT DURING DOCKING.
DPF> intelc # calculate internal electrostatics

Electrostatic energies will be calculated for all non-bonds between moving atoms.
DPF> seed pid time # seeds for random generator

Random number generator was seeded with values 2788, 1643124923.

Opening Grid Map Dimensions file: fgfr1fgf2.maps.fld
Grid Point Spacing = 0.375 Angstroms

Even Number of User-specified Grid Points = 90 x-points
90 y-points
90 z-points

Coordinates of Central Grid Point of Maps = (80.459, 23.095, 104.054)
Macromolecule file used to create Grid Maps = fgfr1fgf2.pdbat
Grid Parameter file used to create Grid Maps = reslig5sns.gpf
Minimum coordinates in grid = (63.584, 6.220, 87.179)
Maximum coordinates in grid = (97.334, 39.970, 120.929)

DPF> map fgfr1fgf2.HD.map # atom-specific affinity map
DPF> map fgfr1fgf2.C.map # atom-specific affinity map
DPF> map fgfr1fgf2.S.map # atom-specific affinity map
DPF> map fgfr1fgf2.OA.map # atom-specific affinity map
DPF> map fgfr1fgf2.N.map # atom-specific affinity map
DPF> elecmap fgfr1fgf2.e.map # electrostatics map
DPF> desolvmap fgfr1fgf2.d.map # desolvation map
DPF> move lhpn5snsfix.pdbqt # small molecule

1,4-Interactions will be ignored in the non-bonded internal energy calculation.
Ligand PDBQT file = "lhpn5snsfix.pdbqt"
INPUT LIGAND PDBQT FILE:

```

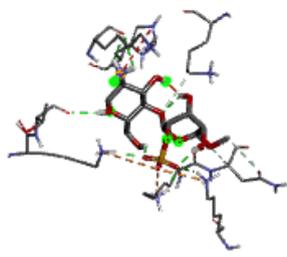
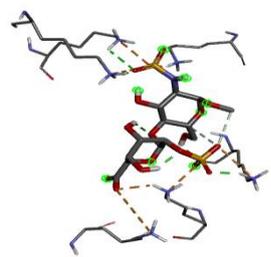
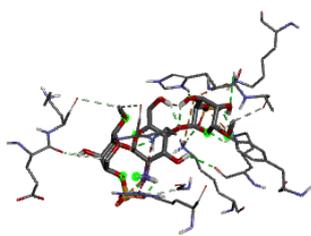
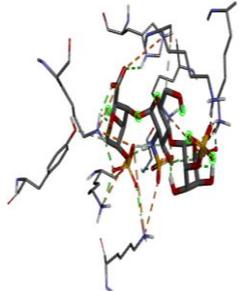
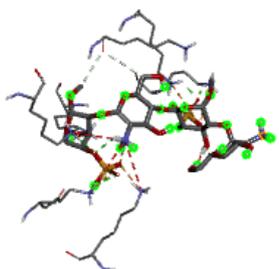
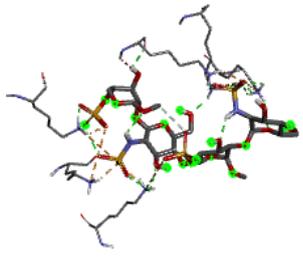
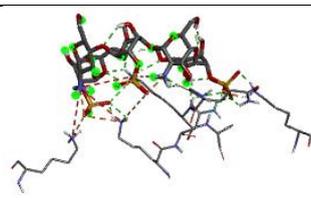
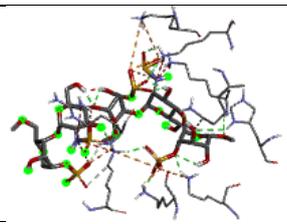
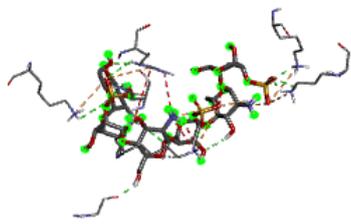
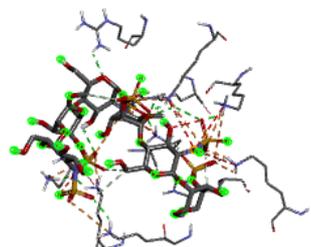
**Lampiran 5. Energi *binding* 10 kluster terendah Heparin 2-12 sakarida 2S dan 2SNS**

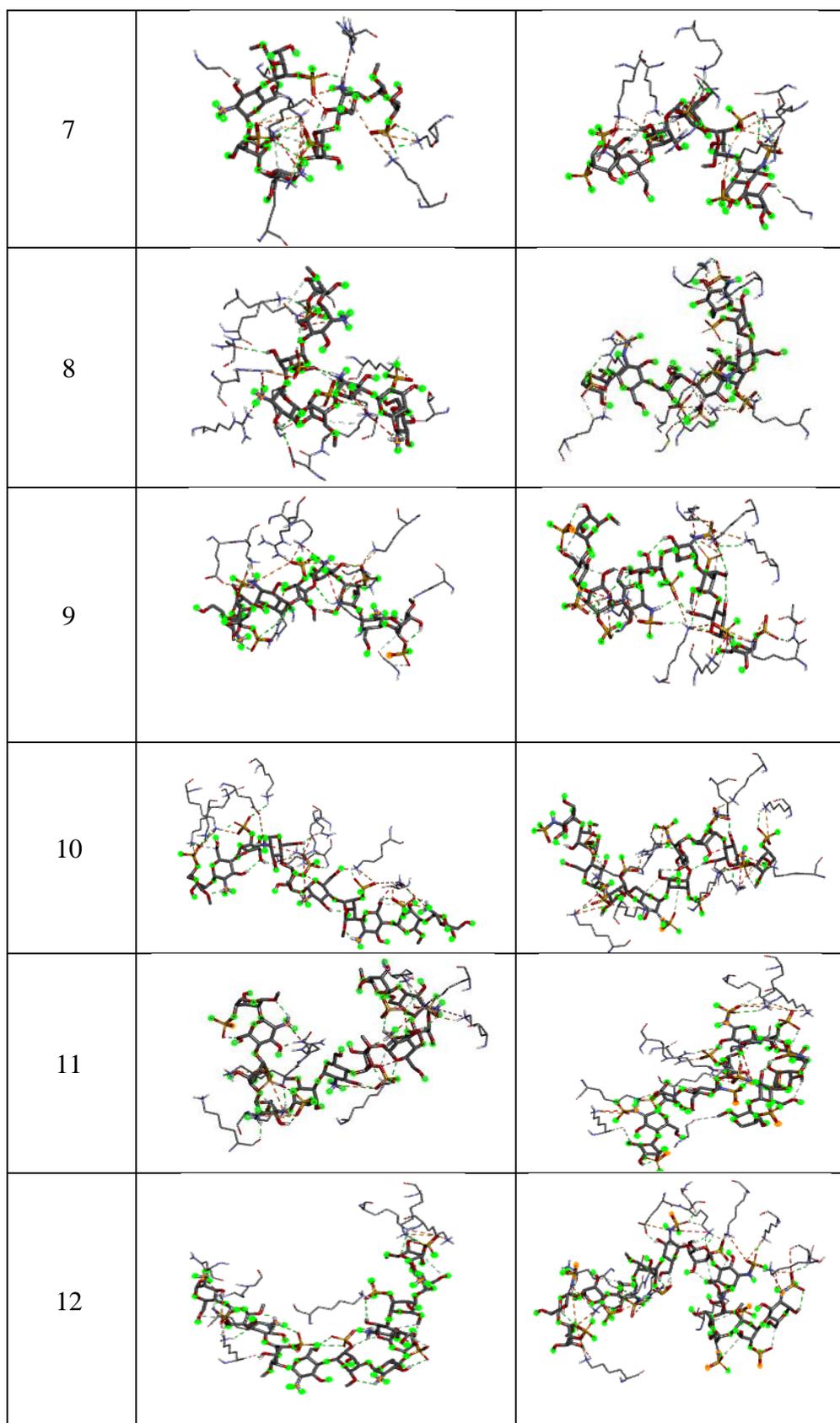
Sakarid a	2S			2SNS		
	kluste r	konformas i	Energi Binding (kkal/mol )	kluste r	konformas i	Energi Binding (kkal/mol )
2	1	1	-7,36	1	1	-13,74
	2	1	-7,08	2	1	-13,29
	3	1	-5,37	3	1	-13,21
	4	1	-5,21	4	1	-12,78
	5	1	-7,,27	5	1	-12,75
	6	1	-6,53	6	1	-12,73
	7	1	-6,19	7	1	-12,69
	8	1	-5,92	8	1	-12,67
	9	1	-5,87	9	1	-12,50
	10	1	-5,76	10	1	-12,41
3	1	1	-10,42	1	1	-16,19
	2	1	-9,73	2	1	-15,78
	3	1	-9,51	3	1	-15,60
	4	1	-7,97	4	1	-14,64
	5	1	-7,03	5	1	-14,49
	6	1	-8,88	6	1	-13,51
	7	1	-8,76	7	1	-13,38
	8	1	-8,39	8	1	-12,48
	9	1	-7,80	9	1	-11,46
	10	1	-8,70	10	1	-10,50
4	1	1	-5,63	1	1	-15,83
	2	1	-5,59	2	1	-15,5
	3	1	-5,51	3	1	-15,44
	4	1	-5,03	4	1	-15,05
	5	1	-3,76	5	1	-15,03
	6	1	-4,83	6	1	-15,01
	7	1	-4,49	7	1	-14,82
	8	1	-4,42	8	1	-14,69
	9	1	-4,33	9	1	-14,67
	10	1	-4,13	10	1	-12,88
5	1	1	-16,48	1	1	-17,02
	2	1	-15,46	2	1	-16,63
	3	1	-15,25	3	1	-15,82
	4	1	-15,20	4	1	-14,64
	5	1	-14,85	5	1	-14,60
	6	1	-14,85	6	1	-14,44
	7	1	-14,67	7	1	-9,44
	8	1	-14,16	8	1	-14,38

	9	1	-14,05	9	1	-14,24
	10	1	-12,08	10	1	-14,20
6	1	1	-0,94	1	1	-16,66
	2	1	-0,48	2	1	-15,85
	3	1	-0,28	3	1	-15,83
	4	1	-0,19	4	1	-18,72
	5	1	-0,16	5	1	-15,04
	6	1	-0,16	6	1	-14,48
	7	1	-0,06	7	1	-14,44
	8	1	0,01	8	1	-14,40
	9	1	0,03	9	1	-14,36
	10	1	0,19	10	1	-14,09
7	1	1	-4,61	1	1	-15,64
	2	1	-2,64	2	1	-14,74
	3	1	-2,51	3	1	-13,17
	4	1	-2,24	4	1	-12,78
	5	1	-2,18	5	1	-12,71
	6	1	-2,14	6	1	-12,71
	7	1	-2,11	7	1	-12,56
	8	1	-2	8	1	-12,54
	9	1	-1,69	9	1	-12,25
	10	1	-1,41	10	1	-12,18
8	1	1	-3,20	1	1	-15,70
	2	1	0,49	2	1	-15,70
	3	1	0,53	3	1	-14,80
	4	1	1,23	4	1	-12,82
	5	1	2,25	5	1	-12,82
	6	1	2,58	6	1	-12,81
	7	1	2,96	7	1	-12,51
	8	1	2,98	8	1	-12,32
	9	1	3,30	9	1	-12,15
	10	1	3,33	10	1	-11,94
9	1	1	-0,13	1	1	-13,80
	2	1	0,87	2	1	-13,10
	3	1	1,09	3	1	-12,68
	4	1	1,25	4	1	-11,49
	5	1	1,77	5	1	-11,07
	6	1	2,16	6	1	-11,04
	7	1	2,33	7	1	-10,68
	8	1	2,41	8	1	-10,65
	9	1	2,73	9	1	-10,40
	10	1	2,81	10	1	-10,26
10	1	1	1,50	1	1	-10,68
	2	1	3,84	2	1	-10,52
	3	1	4,19	3	1	-10,23
	4	1	4,71	4	1	-10

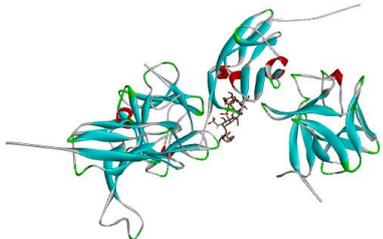
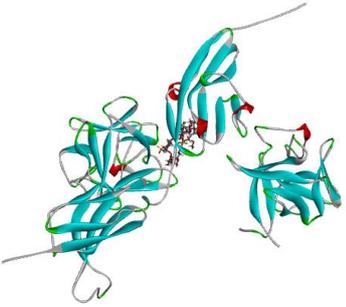
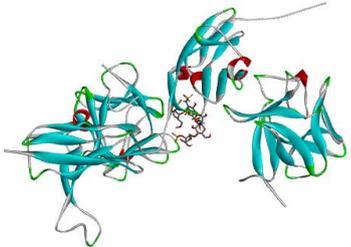
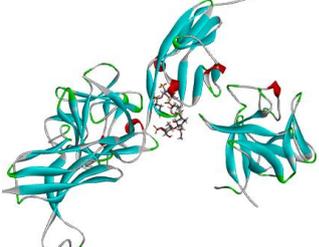
	5	1	5,11	5	1	-9,91
	6	1	5,16	6	1	-9,89
	7	1	5,22	7	1	-9,63
	8	1	5,44	8	1	-9,47
	9	1	5,47	9	1	-9,16
	10	1	5,52	10	1	-8,91
11	1	1	3,31	1	1	-10,31
	2	1	3,87	2	1	-8,92
	3	1	5,08	3	1	-8,65
	4	1	5,36	4	1	-8,44
	5	1	5,65	5	1	-8,38
	6	1	6,25	6	1	-8,30
	7	1	6,47	7	1	-8,19
	8	1	6,47	8	1	-8,01
	9	1	6,68	9	1	-7,27
	10	1	6,81	10	1	-7,20
12	1	1	6,86	1	1	-6,11
	2	1	7,53	2	1	-5,98
	3	1	8,20	3	1	-5,73
	4	1	8,36	4	1	-5,66
	5	1	8,41	5	1	-5,43
	6	1	8,61	6	1	-5,38
	7	1	8,73	7	1	-5,23
	8	1	8,74	8	1	-5,04
	9	1	8,99	9	1	-5,04
	10	1	9,09	10	1	-5,02

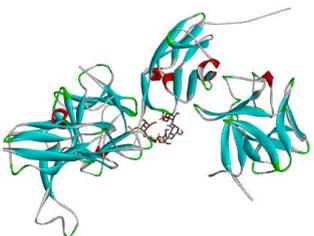
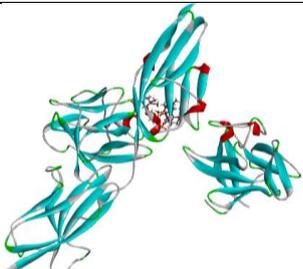
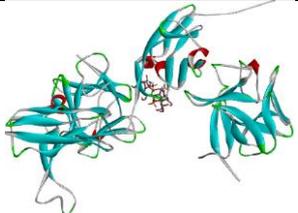
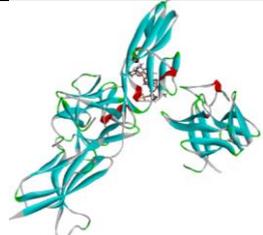
**Lampiran 6. Visualisasi interaksi heparin 2S dan 2SNS oleh FGF2-FGFR1**

Sakarida	2S	2SNS
2		
3		
4		
5		
6		



**Lampiran 7. Visualisasi molekul *docking* 5 sakarida sebelum dan sesudah optimasi**

Kluster-Konformasi	Heparin 5 sakarida 2SNS	
	Sebelum Minimasi	Sesudah Minimasi
C1K1		
C2K1		

Kluster-Konformasi	Heparin 5 sakarida 2S	
	Sebelum Minimasi	Sesudah Minimasi
C1K1		
C2K1		

**Lampiran 8** Hasil Prediksi Sifat Fisikokimia dengan Parameter ADME

Senyawa	Parameter					Kesesuaian
	BM (g/mol)	Log P	Ikatan Hidrogen Donor	Ikatan Hidrogen Akseptor	Atom Berotasi	
<b>2S</b>	422.38	-5.93	5	10	3	Ya (Tidak ada Penyimpangan)
<b>2SNS</b>	501.44	-6.26	7	17	5	Tidak (3 Penyimpangan)
<b>3S</b>	645.56	-8.95	8	21	3	Tidak (3 Penyimpangan)
<b>3SNS</b>	728.65	-8.83	8	24	7	Tidak (3 Penyimpangan)
<b>4S</b>	812.77	-10.82	12	26	6	Tidak (3 Penyimpangan)

Keterangan:

1. BM (Berat Molekul)  $\leq 500$  g/mol
2. Log P (Koefisien Partisi)  $\leq 5$
3. Ikatan Hidrogen Donor  $\leq 5$
4. Ikatan Hidrogen Aseptor  $\leq 10$
5. Atom yang dapat berotasi  $\leq 10$