

**STUDI INTERAKSI IN SILICO SENYAWA TURUNAN
2,4-DIAMINOPIRIDO[2,3-d]PIRIMIDIN TERHADAP
ENZIM DIHIDROFOLAT REDUKTASE
BAKTERI DAN SEL MAMALIA**



Oleh :

**Debby Arwianto
14103037A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2013**

**STUDI INTERAKSI IN SILICO SENYAWA TURUNAN
2,4-DIAMINOPIRIDO[2,3-d]PIRIMIDIN TERHADAP
ENZIM DIHIDROFOLAT REDUKTASE
BAKTERI DAN SEL MAMALIA**

SKRIPSI

 *Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
derajat Sarjana Farmasi (S.Farm)
Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

**Oleh :
Debby Arwianto
14103037A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2013**

PENGESAHAN SKRIPSI
berjudul
**STUDI INTERAKSI IN SILICO senyawa turunan 2,4-diaminopirido[2,3-d]
pirimidin TERHADAP ENZIM DIHIDROFOLAT REDUKTASE
BAKTERI DAN SEL MAMALIA**

Oleh :

Debby Arwianto
14103037A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 18 Juni 2013

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi

Dekan,



Prof. Dr. R. A. Oetari, SU.MM., Apt.

Pembimbing,

Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt.

Pembimbing Pendamping,

Nuraini Harmastuti, S.Si., M.Si.

Penguji:

1. Dwi Ningsih, M.Farm., Apt.
2. Iswandi, M.Farm., Apt.
3. Nuraini Harmastuti, S.Si., M.Si.
4. Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt.

PERSEMBAHAN

Hai orang-orang yang beriman! Makanlah di antara rezeki yang baik yang kami berikan kepadamu. Dan bersyukurlah kepada Allah jika memang hanya dia saja yang kamu sembah. (Al-Baqarah: 172)

Tinggalkanlah kesenangan yang menghalangi pencapaian kecemerlangan hidup yang diidamkan. Dan berhati-hatilah, karena beberapa kesenangan adalah cara gembira menuju kegagalan. (**Mario Teguh**)

Masalah-masalah kita adalah buatan manusia, maka dari itu, dapat diatasi oleh manusia. Tidak ada masalah dalam takdir manusia yang tidak terjangkau oleh manusia. (John F. Kennedy)

adalah sebuah dosa jika kita tidak selalu melakukan yang terbaik untuk orang yang kita cintai. (Danu Umbara : 1943-1965)

Persembahan

*Skripsi ini penulis persembahkan kepada :
Agama, Bangsa, Negara serta almamaterku yang tercinta.
Bapak, Ibu, Adekku dan Sayangku yang
tercinta yang senantiasa memberi do'a, dukungan dan kasih sayangnya.
Sahabatku yang selalu ada terima kasih buat dukungan dan doanya.
Semua temanku thank's atas supportnya.*

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 18 Juni 2013

Tanda tangan

Debby Arwianto

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, segala puji kehadiran Allah SWT, yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini guna memenuhi persyaratan untuk mencapai derajat Sarjana Farmasi (S.Farm) di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

Dalam Skripsi ini penulis mengambil judul **“STUDI INTERAKSI IN SILICO senyawa turunan 2,4-diaminopirido[2,3-d] pirimidin TERHADAP ENZIM DIHIDROFOLAT REDUKTASE BAKTERI DAN SEL MAMALIA”** diharapkan dapat memberikan sumbangan yang bermanfaat dibidang farmasi, khususnya dalam pengembangan obat baru secara kimia komputasi.

Dalam penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan, bimbingan dan dukungan dari banyak pihak, maka pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Winarso Suryolegowo, SH, M. Pd., selaku Rektor Universitas Setia Budi yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas kepada penulis dalam melaksanakan penelitian.
2. Prof. Dr. R. A. Oetari, SU.,MM., Apt, selaku Dekan Universitas Setia Budi, yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas kepada penulis dalam pelaksanaan dan penulisan skripsi.
3. Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt, selaku pembimbing utama dengan penuh kesabaran telah memberikan bimbingan, dukungan, saran dan pengarahan pada penulis.

4. Nuraini Harmastuti, S.Si., M.Si. selaku pembimbing pendamping yang banyak memberikan kritik, saran, pengetahuannya serta semangat yang lebih dari penulis harapkan, sehingga penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
5. Dewan penguji Dwi Ningsih, M.Farm., Apt. dan Iswandi, M.Farm., Apt. yang telah berkenan meluangkan waktu untuk menguji skripsi ini.
6. Perpustakaan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta yang berkenan menyediakan literatur untuk penulisan skripsi ini.
7. Instansi-instansi yang terkait dalam penulisan skripsi ini.
8. Bapak, ibu, adikku dan sayangku yang kucintai, terimakasih atas dukungannya.
9. Teman-teman “TRASNFERIA” yang selalu memberikan dukungan kepada penulis sehingga skripsi ini terselesaikan dengan baik.
10. Adik tingkat (Kimia Komputasi '10) yang selalu meluangkan waktunya apabila penulis bertanya.
11. Semua pihak yang tidak disebutkan satu persatu yang telah membantu dalam penyusunan Skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa penelitian ini jauh dari sempurna, maka dengan segala kerendahan hati penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun sangat penulis harapkan.

Akhir kata, penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis dan pembaca supaya bisa menambah pengetahuan dan wawasan berpikir Ilmiah.

Surakarta, 18 Juni 2013

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xiv
ABSTRACT.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	3
B. Perumusan Masalah.....	4
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Kegunaan Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. Imunitas pada Pasien AIDS.....	5
B. Antimetabolit.....	7
C. Inhibitor Dihidrofolat Reduktase.....	9
1. Trimetoprim.....	9
2. Metotreksat.....	11
D. Aktivitas Penghambatan Dihidrofolat Reduktase senyawa turunan 2,4-diaminopirido[2,3-d] pirimidin	13
E. Analisis <i>Docking</i> Molekuler.....	15
1. Tinjauan Umum <i>Docking</i> Molekuler.....	15
2. Prinsip Kerja <i>Docking</i> Molekuler.....	17
3. Pemilihan dan Preparasi Target.....	19
4. Pemilihan dan Preparasi Ligan.....	19

5. <i>Docking</i>	20
6. Evaluasi Hasil <i>Docking</i>	20
F. <i>AutoDock Vina</i>	21
G. Landasan Teori	23
H. Keterangan Empiris	24
BAB III METODE PENELITIAN	26
A. Populasi dan Sampel.....	26
B. Variabel Penelitian	26
1. Identifikasi Variabel Utama.....	26
2. Klasifikasi Variabel Utama	26
3. Definisi Operasional Variabel Utama.....	27
C. Alat dan Bahan	28
1. Alat	28
2. Bahan	29
D. Jalannya Penelitian	29
1. Preparasi Protein Target	30
2. Preparasi Ligan dan Optimasi Geometri	30
3. Validasi Metode <i>Docking</i> Molekuler	30
4. <i>Docking</i> Ligan Terhadap Tempat Pengikatan Dihidrofolat Reduktase.....	32
5. Analisa <i>Docking</i> Molekuler.....	32
E. Analisa Hasil.....	32
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	33
A. Preparasi Target.....	33
B. Preparasi Ligan	34
C. Validasi Metode <i>Docking</i>	35
D. <i>Docking</i> Ligan Terhadap senyawa turunan 2,4-diaminopirido[2,3-d] pirimidin	37
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	42
A. Kesimpulan.....	42
B. Saran	42
DAFTAR PUSTAKA	43

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1 Biosintesis Timidin Monofosfat dan Pembentukan Kembali N ⁵ , N ¹⁰ – metilen THF	8
Gambar 2 Rumus Bangun Trimetoprim dan Pirimetamin	10
Gambar 3 Cara Kerja Sulfonamid dan Trimetoprim.....	11
Gambar 4 Rumus Bangun Metotreksat	12
Gambar 5 Cara Kerja Resisten Sel Tumor Terhadap Metotreksat.....	13
Gambar 6 Struktur 2,4-diaminopirido[2,3-d]pirimidin	15
Gambar 7 Alur <i>Docking</i> Molekuler	18
Gambar 8 Skema Jalannya Penelitian	33
Gambar 9 Asam amino yang terlibat pada <i>binding site</i> DHFR bakteri melalui interaksi hidrofobik (biru) dan ikatan hidrogen (hitam) trimetoprim (putih).....	34
Gambar 10 Asam amino yang terlibat pada <i>binding site</i> DHFR sel mamalia melalui interaksi hidrofobik (biru) dan ikatan hidrogen (hitam) metotreksat (putih)	35
Gambar 11 Hasil <i>overlay</i> ligan asli (hijau) dan ligan <i>copy</i> (putih) dengan nilai afinitas pengikatan -7,8 kcal/mol DHFR bakteri	37
Gambar 12 Hasil <i>overlay</i> ligan asli (hijau) dan ligan <i>copy</i> (putih) dengan nilai afinitas pengikatan -10,6 kcal/mol DHFR sel mamalia	38
Gambar 13 Interaksi senyawa trimetoprim dengan <i>binding site</i> DHFR bakteri. Garis hitam putus-putus : Ikatan hidrogen. Garis hijau : Ikatan hidrofobik	40
Gambar 14 Interaksi senyawa turunan struktur no. 2 dengan <i>binding site</i> DHFR bakteri.....	41

Gambar 15 Interaksi senyawa metotreksat dengan <i>binding site</i> DHFR sel mamalia. Garis hitam putus-putus : Ikatan hidrogen. Garis hijau : Ikatan hidrofobik	42
Gambar 16 Interaksi senyawa turunan struktur no. 2 dengan <i>binding site</i> DHFR sel mamalia.....	43

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Data Inhibitor DHFR <i>M.avium</i> dan DHFR Rat Liver oleh penggantian 2-4 diamino-hetrocyclic analogs	15
2. Energi terendah dari 15 senyawa turunan 2,4-diaminopirido[2,3-d] pirimidin.....	35
3. Afinitas pengikatan dari 15 senyawa turunan 2,4-diaminopirido[2,3-d] pirimidin.....	38
4. Jarak ikatan dengan 15 senyawa turunan 2,4-diaminopirido[2,3-d] pirimidin.....	39

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Hasil optimasi geometri struktur 3 dimensi dari 15 senyawa turunan 2,4-diaminopirido[2,3-d] pirimidin menggunakan metode Mekanika Molekuler (MM+) dengan <i>software</i> HyperChem Release 7.0	44
2. Pola interaksi dari 15 senyawa turunan 2,4-diaminopirido[2,3-d] pirimidin dan 2,4-diaminopirrolo[2,3-d]pirimidin pada DHFR bakteri	48
3. Pola interaksi dari 15 senyawa turunan 2,4-diaminopirido[2,3-d] pirimidin dan 2,4-diaminopirrolo[2,3-d]pirimidin pada DHFR sel mamalia	50
4. Jarak ikatan hidrogen dengan senyawa turunan 2,4-diaminopirido[2,3-d] pirimidin pada DHFR bakteri.....	53
5. Jarak ikatan hidrogen dengan senyawa turunan 2,4-diaminopirido[2,3-d] pirimidin pada DHFR sel mamalia	61

INTISARI

ARWIANTO, D., 2013, STUDI INTERAKSI IN SILICO senyawa turunan 2,4-diaminopirido[2,3-d] pirimidin TERHADAP ENZIM DIHIDROFOLAT REDUKTASE PADA BAKTERI DAN SEL MAMALIA, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Senyawa turunan 2,4-diaminopirido[2,3-d] pirimidin dilaporkan mempunyai aktivitas penghambat enzim dihidrofolat reduktase pada bakteri dan sel mamalia sehingga memberikan efek antimetabolit. STUDI INTERAKSI IN SILICO senyawa turunan 2,4-diaminopirido[2,3-d] pirimidin terhadap enzim DHFR diperlukan untuk mengetahui afinitas dan pola interaksi antara senyawa diatas dengan DHFR bakteri dan DHFR sel mamalia. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui afinitas dan pola interaksi senyawa turunan 2,4-diaminopirido[2,3-d] pirimidin terhadap bakteri dan sel mamalia.

Senyawa turunan 2,4-diaminopirido[2,3-d] pirimidin dioptimasi geometri menggunakan perangkat lunak Hyperchem selanjutnya dilakukan dengan cara preparasi target, preparasi ligan, validasi metode *docking*, dan analisis *docking* menggunakan *autodock vina* sehingga didapatkan interaksi ligan dengan target, energi bebas pengikatan, ikatan hidrogen, dan pola interaksi.

Afinitas dari senyawa turunan 2,4-diaminopirido[2,3-d] pirimidin lebih tinggi bakteri dibandingkan sel mamalia. Pola interaksi dilihat pada lima belas senyawa turunan 2,4-diaminopirido[2,3-d] pirimidin dengan enzim DHFR bakteri menunjukkan ikatan hidrogen dengan asam amino Asp31A dan DHFR sel mamalia menunjukkan ikatan hidrogen dengan asam amino Glu30A dan Val115A.

Kata kunci : DHFR bakteri dan sel mamalia, Hyperchem, PyRx, Studi Interaksi

ABSTRACT

ARWIANTO, D., 2013, INTERACTION STUDY DERIVED COMPOUNDS ON 2,4-DIAMINOPIRIDO [2,3-d] PYRIMIDINE WITH DIHIDROFOLAT ENZYME IN BACTERIA AND MAMMALIAN CELLS, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, UNIVERSITY OF SETIA BUDI, SURAKARTA.

DERIVED COMPOUNDS 2,4-DIAMINOPIRIDO [2,3-d] pyrimidine was reported to have dihidrofolat reductase enzyme inhibitory activity in bacteria and mammalian cells that give effect antimetabolite. STUDY THEIR INTERACTION IN COMPOUND 2,4-silico DIAMINOPIRIDO [2,3-d] pyrimidine against DHFR enzymes necessary to determine the affinity and interaction patterns between the above compounds with bacterial DHFR and DHFR mammalian cells. This study aims to determine the affinity and interaction patterns DERIVED COMPOUNDS 2,4-DIAMINOPIRIDO [2,3-d] pyrimidine against bacteria and mammalian cells.

DERIVED COMPOUNDS 2,4-DIAMINOPIRIDO [2,3-d] pyrimidine geometry optimized using Hyperchem software then performed by way of target preparation, ligand preparation, docking method validation, and analysis of docking using AutoDock vina so we get to the target ligand interactions, free energy bonding, hydrogen bonding, and interaction patterns.

Affinity of 2,4-DERIVED COMPOUNDS DIAMINOPIRIDO [2,3-d] pyrimidine higher bacteria than mammalian cells. Interaction pattern seen in sixteen 2,4-DERIVED COMPOUNDS DIAMINOPIRIDO [2,3-d] pyrimidine with bacterial DHFR enzyme showed hydrogen bonding with amino acids and DHFR Asp31A mammalian cells indicate hydrogen bonds with amino acids and Val115A Glu30A.

Keywords: DHFR bacteria and mammalian cells, Hyperchem, PyRx, Interaction Studies

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Pada dasarnya *Acquired Immune Deficiency Syndrome* (AIDS), dan berbagai infeksi virus, jamur, atau bakteri dikarenakan gangguan sistem kekebalan tubuh yang menyebabkan terjadinya peningkatan kerentanan infeksi dan perlambatan proses penyembuhan penyakit. Oleh karena itu terapi didasarkan pada penemuan zat yang dapat menghambat replikasi autoimun (Neal 2005).

Pada penderita AIDS sistem imunitas menurun, sehingga memudahkan penderita terinfeksi bakteri patogen salah satunya adalah *M. avium*. Pada terapi penyakit autoimun dipilih golongan sulfa karena penghambatan dihidrofolat reduktase bakteri poten yang menunjukkan spektrum antibakteri mirip dengan sulfa. Sehingga dipilihlah trimetoprim sebagai penghambat dihidrofolat reduktase untuk menangani infeksi bakteri pada penderita AIDS. Penghambatan dihidrofolat reduktase (DHFR) terjadi secara langsung maupun tidak langsung sehingga menyebabkan sel tidak berkembang biak dan mengalami kematian. Struktur antimetabolit berhubungan erat dengan struktur metabolit normal dan bersifat antagonis (Siswandono & Soekardjo 1995; Goodman & Gilman 2010).

Jain *et al* (2002) mengembangkan senyawa turunan 2,4-diaminopirido[2,3-d] pirimidin sebagai penghambat DHFR yang selektif terhadap DHFR sel bakteri. 2,4-diaminopirido[2,3-d] pirimidin mengandung fenil atau aromatik tersubstitusi cincin yang melekat pada C6 melalui jembatan pendek terdiri dari rangkaian

lipofilik kecil molekul anti-folates, dengan potensi penerapan dalam pengobatan dan pencegahan autoimun terkait dengan kemungkinan infeksi mikroba.

DHFR bakteri dibandingkan dengan DHFR sel mamalia sangatlah berbeda, dapat ditinjau dari jumlah ribosomnya. Bakteri mempunyai 70S ribosom, sedangkan sel mamalia mempunyai 80S ribosom. Subunit dari masing-masing tipe ribosom, komposisi kimianya, dan spesifikasi fungsinya mempunyai perbedaan, hal ini menerangkan mengapa antimikroba tidak dapat mempengaruhi ribosom mamalia. Bakteri mempunyai perbedaan biokimia dengan sel-sel mamalia. Beberapa obat-obat antibakteri bersifat non-toksik terhadap sel mamalia (Neal 2005).

Penelitian yang dilakukan Oefner *et al.* (2009) menunjukkan bahwa struktur kristal DHFR rekombinan manusia dengan ikatan folat aktif yang telah ditentukan dengan model struktur yang telah diperbaiki. Studi yang pertama tentang inhibitor trimetoprim dan metotreksat ke apoenzim manusia telah dilakukan. Konformasi kimia sangat mirip dengan ligan folat dan metotreksat, satu substrat lain merupakan inhibitor yang poten berbeda secara substansial dalam cincin pteridin. Trimetoprim lebih selektif dibandingkan metotreksat yang toksik untuk manusia tetapi metotreksat dapat digunakan untuk mengatasi keparahan leukimia meskipun sementara. DHFR bakteri berbeda dengan DHFR sel mamalia karena pada DHFR bakteri mempunyai afinitas yang sangat kuat dan secara efektif dapat menghambat enzimnya, yang dapat diperhitungkan sebagai toksisitas selektif obat (Goodman & Gilman 2007).

Docking AutoDock Vina merupakan perangkat lunak yang dipakai penulis untuk men-*docking*-kan senyawa turunan 2,4-diaminopirido[2,3-d] pirimidin terhadap enzim DHFR dengan bakteri (*M. avium*) dan sel mamalia (*rat liver*). Kelebihan perangkat lunak ini yaitu penghapusan rantai senyawa yang tidak diinginkan dapat dilakukan, tidak perlu preparasi sebelum men-*docking*-kan seperti penghilangan air dan atom H, ketelitian perangkat lunak ini lebih tinggi. Sedangkan kekurangan perangkat lunak ini yaitu kotak *grid* untuk analisa ini tidak secara otomatis, memerlukan beberapa perangkat lunak lain sebagai pendukung perangkat ini.

Penelitian ini dirancang untuk mengetahui afinitas dan pola interaksi senyawa turunan 2,4-diaminopirido[2,3-d] pirimidin terhadap enzim DHFR dengan bakteri (*M. avium*) dibandingkan dengan sel mamalia (*rat liver*). Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai dasar untuk melakukan penelitian eksperimental selanjutnya.

Pemilihan senyawa turunan 2,4-diaminopirido[2,3-d] pirimidin karena didasarkan pada gugus fenil yang tersubstitusi atau cincin aromatik yang melekat pada C6 melalui jembatan pendek terdiri dari rangkaian lipofilik kecil molekul anti-folates, dalam penerapan potensi dalam pengobatan dan pencegahan infeksi mikroba. Sehingga memungkinkan adanya keterkaitan antara gugus fenil atau cincin aromatic yang ada pada senyawa turunan 2,4-diaminopirido[2,3-d] pirimidin dengan struktur trimetoprim dan metotreksat.

B. Perumusan Masalah

1. Apakah senyawa turunan 2,4-diaminopirido[2,3-d] pirimidin mempunyai afinitas yang lebih tinggi terhadap enzim DHFR bakteri dibandingkan DHFR sel mamalia?
2. Bagaimana pola interaksi antara senyawa turunan 2,4-diaminopirido[2,3-d] pirimidin dengan enzim DHFR bakteri maupun DHFR sel mamalia?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui afinitas senyawa turunan 2,4-diaminopirido[2,3-d] pirimidin terhadap enzim DHFR bakteri dibandingkan sel mamalia.
2. Mengetahui pola interaksi senyawa turunan 2,4-diaminopirido[2,3-d] pirimidin dengan enzim DHFR bakteri maupun DHFR sel mamalia.

D. Kegunaan Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat tentang informasi dan pengetahuan pada aplikasi analisis *docking* molekuler, studi interaksi dan afinitas senyawa turunan 2,4-diaminopirido[2,3-d] pirimidin terhadap penghambatan enzim DHFR dengan bakteri (*M. avium*) dibandingkan dengan sel mamalia (*rat liver*). Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai dasar untuk melakukan penelitian eksperimental selanjutnya.