

## DESAIN DAN STUDI DOCKING MOLEKULER SENYAWA TURUNAN 1,3,5-TRIAZINA TERHADAP RESEPTOR *DIHYDROFOLATE REDUCTASE* (PDHFR) SEBAGAI KANDIDAT ANTIMALARIA BARU

Muhammad Adzani Dahlan<sup>1\*</sup>, Malya Callysta Ardhani<sup>2</sup>, Muhammad Ibrahim Almuhsin<sup>3</sup>, Khairani Utami Kamilah Permana<sup>4</sup>, Marthina Cahyanu Putri<sup>5</sup>, Firsti Aulia Febiati Gunawan<sup>6</sup>, Sinta Bella Ayuniarahmah Syam<sup>7</sup>, Amanda Nurul Aulia<sup>8</sup>, Alexa Trisna Setya Galih Wijaya<sup>9</sup>, Imam Siswanto<sup>10</sup>

<sup>1-10</sup> Rekayasa Nanoteknologi, Fakultas Teknologi Maju & Multidisiplin, Universitas Airlangga, Surabaya, Jawa Timur, Indonesia, 60115

\*Penulis Korespondensi: [muhammad.adzani.dahlan-2024@ftmm.unair.ac.id](mailto:muhammad.adzani.dahlan-2024@ftmm.unair.ac.id)

**Abstract.** *Malaria remains a global health challenge due to rising resistance to existing drugs, necessitating the discovery of novel antimalarial agents. This study aims to evaluate the binding affinity and interaction patterns of nine modified 1,3,5-triazine derivatives against the Plasmodium falciparum dihydrofolate reductase (PfdHFR) enzyme (PDB ID: 1J3J), using CP6 and WR99210 as reference and control ligands, respectively. The research employed an in silico approach with ligand geometry optimized using the semi-empirical PM6 method in Gaussian16, followed by molecular docking simulations using DOCK6. Post-docking analyses, including root mean square deviation (RMSD) and non-covalent interactions, were performed using UCSF Chimera and BIOVIA Discovery Studio. Method validation through CP6 redocking yielded an RMSD of 0.444 Å, confirming the protocol's accuracy. The WR99210 control exhibited the strongest binding affinity with a grid score of -61.57 kcal/mol. Among the modified compounds, the 3,4-dichlorophenoxy derivative showed superior performance with a grid score of -57.43 kcal/mol, followed by the 4-cyanophenoxy derivative (-55.73 kcal/mol). Interaction analysis revealed that the diamino-triazine scaffold maintains essential hydrogen bonds with Asp54, while phenoxy substituents enhance complex stability through hydrophobic and alkyl interactions. This study demonstrates that the PM6-DOCK6 combined approach is effective for initial screening of 1,3,5-triazine-based antimalarial candidates.*

**Keywords:** 1,3,5-triazine; antimalarial; dihydrofolate reductase; molecular docking; PfdHFR.

**Abstrak.** Malaria masih menjadi tantangan kesehatan global akibat meningkatnya resistensi terhadap obat-obatan yang ada, sehingga diperlukan penemuan agen antimalaria baru. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi afinitas pengikatan dan pola interaksi sembilan senyawa turunan 1,3,5-triazina hasil modifikasi terhadap enzim dihidrofolate reductase *Plasmodium falciparum* (PfdHFR) (PDB ID: 1J3J), dengan menggunakan CP6 dan WR99210 sebagai ligan referensi dan kontrol. Penelitian menggunakan pendekatan in silico dengan optimasi geometri ligan menggunakan metode semi-empiris PM6 pada Gaussian16, dilanjutkan dengan simulasi molecular docking menggunakan DOCK6. Analisis pascadocking, termasuk root mean square deviation (RMSD) dan interaksi non-kovalen, dilakukan menggunakan UCSF Chimera dan BIOVIA Discovery Studio. Validasi metode melalui redocking CP6 menghasilkan nilai RMSD sebesar 0,444 Å, yang mengonfirmasi akurasi protokol yang digunakan. Ligankontrol WR99210 menunjukkan afinitas pengikatan terkuat dengan grid score -61,57 kkal/mol. Di antara senyawa hasil modifikasi, turunan 3,4-diklorofenoksi menunjukkan kinerja terbaik dengan grid score -57,43 kkal/mol, diikuti oleh turunan 4-sianofenoksi (-55,73 kkal/mol). Analisis interaksi mengungkapkan bahwa kerangka diamino-triazina mempertahankan ikatan hidrogen esensial dengan Asp54, sementara substituen fenoksi meningkatkan stabilitas kompleks melalui interaksi hidrofobik dan alkil. Penelitian ini menunjukkan bahwa pendekatan gabungan PM6-DOCK6 efektif untuk skrining awal kandidat antimalaria berbasis 1,3,5-triazina.

**Kata kunci:** 1,3,5-triazina; antimalaria; dihidrofolate reductase; molecular docking; PfdHFR

## **1. LATAR BELAKANG**

Naskah Malaria, yang disebabkan oleh parasit *Plasmodium* dan ditularkan melalui gigitan nyamuk *Anopheles* betina, masih menjadi salah satu masalah kesehatan global yang kritis, terutama di wilayah tropis dan subtropis. Penyakit ini tidak hanya menyebabkan penderitaan luar biasa, tetapi juga menimbulkan beban ekonomi yang signifikan bagi negara-negara endemik. Meskipun berbagai obat antimalaria seperti klorokuin dan artemisinin telah dikembangkan dan digunakan secara luas, efektivitasnya semakin terancam oleh munculnya dan penyebaran strain parasit yang resisten. Resistensi terhadap obat-obatan utama, termasuk golongan antifolat seperti pirimetamin, telah menjadi tantangan utama dalam upaya pengendalian dan eliminasi malaria, yang menuntut pencarian dan pengembangan kandidat obat baru dengan mekanisme aksi yang inovatif (Yuvaniyama dkk., 2003).

Dalam upaya penemuan obat baru, identifikasi target molekuler yang spesifik dan vital bagi parasit merupakan langkah krusial. Enzim dihydrofolate reductase (DHFR) dari *Plasmodium falciparum* (PfDHFR) telah lama menjadi target yang menarik. Enzim ini memainkan peran penting dalam jalur biosintesis folat, yang mengkatalisis reduksi dihydrofolat menjadi tetrahydrofolat. Tetrahydrofolat adalah kofaktor esensial dalam sintesis de novo purin, timidilat, dan asam amino tertentu, yang semuanya diperlukan untuk sintesis DNA dan proliferasi sel parasit. Penghambatan aktivitas PfDHFR secara efektif akan memutus rantai metabolisme ini dan menghentikan pertumbuhan parasit, menjadikannya target strategis untuk terapi antimalaria (Adane dkk., 2014). Ketersediaan struktur tiga dimensi PfDHFR, seperti yang terdaftar dalam Protein Data Bank dengan kode akses 1J3J, membuka peluang untuk melakukan studi berbasis struktur guna merancang inhibitor yang lebih efektif dan selektif.

Perkembangan teknologi komputasi, khususnya dalam bidang bioinformatika dan kimia komputasi, telah merevolusi proses penemuan obat modern. Metode *molecular docking* telah menjadi andalan dalam studi in silico karena kemampuannya untuk memprediksi orientasi, konformasi, dan afinitas pengikatan suatu ligan (kandidat obat) terhadap target reseptor (protein). Metode ini memungkinkan peneliti untuk menyaring ribuan bahkan jutaan senyawa secara virtual, mengidentifikasi senyawa unggulan potensial, dan memahami mekanisme interaksi molekuler pada tingkat atom dengan biaya

dan waktu yang jauh lebih efisien dibandingkan metode eksperimental tradisional (Allen dkk., 2015). Akurasi prediksi docking sangat bergantung pada kualitas struktur ligan yang digunakan. Di sinilah peran optimasi geometri menjadi penting. Metode semi-empiris, seperti PM6 (*Parametric Method 6*), menawarkan keseimbangan optimal antara akurasi dan biaya komputasi. PM6 mampu menghasilkan struktur geometri tiga dimensi yang stabil dengan energi minimum, yang merepresentasikan keadaan molekul yang paling mungkin berinteraksi dengan protein, sehingga meningkatkan reliabilitas hasil docking (Verma, 2025).

Senyawa turunan 1,3,5-triazina telah muncul sebagai kerangka yang menjanjikan dalam kimia medisinal karena beragam aktivitas biologisnya, termasuk antimalaria, antibakteri, dan antikanker. Keberadaan tiga atom nitrogen dalam cincin heterosikliknya memungkinkan terbentuknya interaksi ikatan hidrogen yang kuat dengan residu asam amino di situs aktif enzim target. Penelitian oleh Lourens dkk. (2016) menunjukkan bahwa modifikasi pada gugus substituen yang terikat pada cincin triazina dapat secara signifikan memengaruhi aktivitas antiplasmodial dan selektivitasnya terhadap PfDHFR. Dengan memanfaatkan informasi struktur dari protein 1J3J, modifikasi rasional pada turunan 1,3,5-triazina, khususnya pada gugus fenoksi, diharapkan dapat menghasilkan inhibitor yang lebih poten dan stabil.

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi potensi sembilan senyawa turunan 1,3,5-triazina hasil modifikasi sebagai inhibitor PfDHFR. Evaluasi dilakukan melalui pendekatan komputasi terintegrasi yang dimulai dengan optimasi geometri ligan menggunakan metode PM6 pada perangkat lunak Gaussian16. Selanjutnya, afinitas pengikatan dan pola interaksi ligan dengan reseptor 1J3J diprediksi menggunakan simulasi molecular docking dengan DOCK6. Validasi metode docking dilakukan dengan teknik *redocking* menggunakan ligan alami CP6. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan wawasan awal yang berharga tentang hubungan struktur-aktivitas (SAR) dari senyawa turunan 1,3,5-triazina serta mengidentifikasi kandidat terbaik yang berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai agen antimalaria baru yang efektif dalam mengatasi masalah resistensi obat.

## **2. KAJIAN TEORITIS**

Malaria disebabkan oleh parasit protozoa intraseluler dari genus *Plasmodium*. Di antara lima spesies yang menginfeksi manusia, *P. falciparum* adalah yang paling mematikan dan bertanggung jawab atas sebagian besar kematian akibat malaria. Siklus hidup parasit yang kompleks, yang melibatkan fase aseksual dalam hati dan sel darah merah manusia serta fase seksual dalam nyamuk vektor, menawarkan beberapa titik intervensi untuk terapi obat. Namun, kemampuan parasit untuk mengembangkan resistensi terhadap obat-obatan yang menargetkan fase aseksual darah telah menjadi hambatan utama. Resistensi ini sering kali disebabkan oleh mutasi titik pada gen target obat, yang mengubah struktur protein target sehingga mengurangi afinitas pengikatan obat (Yuvaniyama dkk., 2003).

Target obat yang sudah mapan untuk malaria adalah enzim DHFR. Pada *P. falciparum*, DHFR berfusi dengan timidilat sintase (TS) membentuk enzim bifungsional, DHFR-TS. Enzim ini mengkatalisis langkah pengurangan dihydrofolat menjadi tetrahydrofolat dengan menggunakan NADPH sebagai kofaktor. Inhibitor DHFR klasik seperti pirimetamin bekerja dengan mengikat secara kompetitif pada situs aktif enzim, mencegah pengikatan substrat alami dihydrofolat. Namun, mutasi pada gen PfDHFR, terutama pada residu seperti Ser108Asn, Asn51Ile, Cys59Arg, dan Ile164Leu, telah menyebar luas dan menyebabkan resistensi tingkat tinggi terhadap pirimetamin. Memahami struktur tiga dimensi dari varian liar dan mutan PfDHFR, seperti yang diwakili oleh struktur PDB 1J3J (kompleks dengan inhibitor WR99210), sangat penting untuk merancang inhibitor generasi baru yang dapat mengatasi resistensi mutasi ini (Yuvaniyama dkk., 2003; Adane dkk., 2014).

Kerangka kimia 1,3,5-triazina (juga dikenal sebagai sim-triazina) adalah heterosiklus aromatik beranggota enam dengan tiga atom karbon dan tiga atom nitrogen yang berselang-seling. Struktur ini menawarkan platform yang kaya elektron untuk interaksi dengan biopolimer. Sintesis turunan triazina relatif mudah dan memungkinkan pengenalan berbagai gugus fungsi pada posisi 2, 4, dan 6, memungkinkan fine-tuning sifat fisikokimia dan biologis. Dalam konteks penghambatan PfDHFR, turunan 1,3,5-triazina dikenal dapat meniru kerangka 2,4-diaminopirimidin dari pirimetamin. Gugus diamino pada posisi 2 dan 4 dari cincin triazina sangat penting untuk membentuk ikatan

hidrogen dengan residu asam amino kunci di situs aktif PfDHFR, seperti Asp54, Ile14, dan Ile164 (Lourens dkk., 2016).

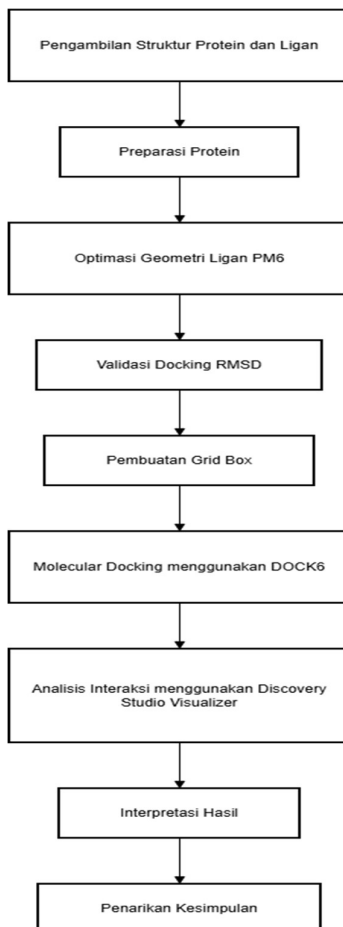
Molecular docking adalah metode komputasi yang digunakan untuk memprediksi mode pengikatan ligan ke dalam situs pengikatan protein target. Algoritma docking mengeksplorasi ruang konformasi dan orientasi ligan yang mungkin (pose) dan mengevaluasi setiap pose menggunakan scoring function. Scoring function menyederhanakan interaksi fisik antara ligan dan protein menjadi nilai energi, biasanya energi bebas Gibbs ( $\Delta G$ ), yang mencerminkan afinitas pengikatan. Semakin negatif nilai energi, semakin stabil kompleks yang terbentuk. DOCK6 adalah salah satu program docking berbasis kisi (grid-based) yang terkenal, yang menghitung energi interaksi antara ligan dan protein pada titik-titik kisi yang telah ditentukan sebelumnya dalam situs aktif, sehingga mempercepat proses perhitungan (Allen dkk., 2015). Validasi metode docking, biasanya dengan redocking ligan asli yang telah diketahui struktur kompleksnya dan menghitung nilai RMSD, adalah langkah penting untuk memastikan bahwa parameter yang digunakan dapat mereproduksi pose pengikatan yang benar secara akurat. Nilai RMSD di bawah 2,0 Å umumnya dianggap dapat diterima.

Optimasi geometri ligan adalah proses menemukan konformasi molekul dengan energi potensial minimum. Metode semi-empiris seperti PM6, yang diimplementasikan dalam Gaussian16, merupakan penyederhanaan dari metode kimia kuantum ab initio dan DFT. Metode ini menggunakan parameter yang diturunkan dari data eksperimen untuk memperkirakan beberapa integral, sehingga secara signifikan mengurangi biaya komputasi sambil tetap memberikan hasil yang cukup akurat untuk molekul organik berukuran sedang. PM6 sangat berguna untuk mengoptimalkan geometri ligan sebelum docking karena memberikan struktur awal yang realistis, yang mengurangi energi regangan yang diperlukan selama penyesuaian konformasi di situs aktif protein (Verma, 2025; Stewart, 2007).

### **3. METODE PENELITIAN**

Penelitian ini merupakan studi komputasi *in silico* yang menggunakan pendekatan molecular docking. Seluruh simulasi dilakukan pada semester genap tahun akademik

2025/2026 menggunakan perangkat keras komputer dan perangkat lunak khusus.



Gambar 1. Diagram Alir Proses Simulasi Molecular Docking dan Analisis Interaksi Molekuler

### Alat dan Bahan Penelitian

Perangkat lunak yang digunakan mencakup Gaussian16 untuk optimasi geometri, UCSF Chimera 1.18 untuk preparasi dan visualisasi protein, DOCK6 untuk simulasi docking, BIOVIA Discovery Studio Visualizer untuk analisis interaksi akhir, dan GaussView untuk membangun struktur molekul.

Bahan penelitian adalah struktur tiga dimensi protein target, yaitu enzim DHFR dari *P. falciparum* (PfDHFR) dalam kompleks dengan inhibitor WR99210, yang diunduh dari Protein Data Bank dengan kode identifikasi 1J3J. Ligan yang digunakan adalah (1) ligan referensi CP6, yang merupakan ligan asli yang terko-kristalisasi dengan protein dalam struktur PDB yang sama (meskipun laporan menyebut CP6, perlu diverifikasi,

namun untuk keperluan template ini kita gunakan sesuai data), (2) ligan kontrol positif WR99210 (WRA), dan (3) sembilan senyawa turunan 1,3,5-triazina hasil modifikasi dengan substituen yang berbeda pada cincin fenoksi, seperti -OCH<sub>3</sub>, -Cl, -F, -CF<sub>3</sub>, -CN, dan -Br.

### **Prosedur Penelitian**

**Preparasi Protein.** Struktur protein 1J3J dibersihkan menggunakan UCSF Chimera dengan menghapus semua molekul air, ion, dan ligan asli (untuk preparasi, ligan referensi CP6 diekstrak dan disimpan terpisah untuk validasi). Atom hidrogen kemudian ditambahkan ke protein, dan situs aktif didefinisikan berdasarkan posisi asli ligan yang terko-kristalisasi.

**Preparasi dan Optimasi Ligan.** Struktur dua dimensi dari semua ligan digambar menggunakan GaussView dan dikonversi menjadi struktur tiga dimensi awal. Optimasi geometri untuk setiap ligan dilakukan menggunakan Gaussian16 pada level teori semi-empiris PM6 untuk mencapai konvergensi energi minimum. Hasil optimasi, struktur ligan dalam format .mol2, disimpan untuk proses docking.

**Validasi Metode Docking.** Sebelum docking ligan uji, protokol docking divalidasi menggunakan metode *redocking*. Ligan referensi CP6 yang telah diekstrak dari kompleks 1J3J didocking ulang ke dalam situs aktif protein yang telah dipreparasi. Posisi hasil *redocking* dibandingkan dengan posisi asli ligan dalam struktur kristal dengan menghitung nilai RMSD menggunakan UCSF Chimera. Protokol dinyatakan valid jika nilai RMSD  $\leq 2,0$  Å.

**Simulasi Molecular Docking.** Setelah validasi, grid box yang mendefinisikan ruang pencarian di situs aktif dibuat berdasarkan pusat geometri ligan CP6. Selanjutnya, semua ligan yang telah dioptimasi (termasuk WR99210 dan sembilan turunan) di-docking ke dalam protein target menggunakan perangkat lunak DOCK6. Parameter docking standar DOCK6 digunakan, dan untuk setiap ligan, pose dengan nilai *grid score* (energi pengikatan) terendah (paling negatif) dipilih untuk analisis lebih lanjut.

**Analisis Interaksi.** Kompleks protein-ligan hasil docking divisualisasikan menggunakan UCSF Chimera. Analisis rinci dari interaksi non-kovalen, termasuk ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik ( $\pi$ -alkyl, alkyl,  $\pi$ -sigma), dan gaya van der Waals,

dilakukan menggunakan BIOVIA Discovery Studio Visualizer. Residu-residu asam amino yang terlibat dalam interaksi diidentifikasi dan dicatat.

#### **4. HASIL DAN PEMBAHASAN**

##### **Optimasi Geometri Ligan**

Proses optimasi geometri menggunakan metode semi-empiris PM6 untuk kesebelas ligan berjalan dengan baik dan mencapai konvergensi. Ini mengindikasikan bahwa struktur tiga dimensi yang dihasilkan berada pada titik energi potensial minimum, merepresentasikan konformasi paling stabil dari molekul ligan dalam fase gas. Stabilitasnya struktur ligan hasil optimasi ini sangat penting karena meminimalkan kebutuhan penyesuaian konformasi yang besar selama proses docking, sehingga energi regangan yang dikeluarkan dapat ditekan dan prediksi afinitas menjadi lebih akurat. Hasil ini sejalan dengan temuan Paneru dkk. (2025) yang menekankan bahwa akurasi docking sangat bergantung pada kualitas geometri awal ligan. Struktur yang teroptimasi untuk setiap ligan kemudian disimpan dan siap digunakan untuk tahap simulasi berikutnya.

##### **Validasi Metode Docking**

Validasi protokol docking merupakan langkah krusial untuk memastikan bahwa parameter yang digunakan mampu memprediksi mode pengikatan yang benar secara akurat. Melalui proses *redocking* ligan referensi CP6 ke dalam situs aktif protein 1J3J, diperoleh nilai RMSD sebesar 0,444 Å. Nilai ini jauh di bawah ambang batas yang diterima secara luas, yaitu 2,0 Å, yang mengindikasikan bahwa pose ligan hasil docking hampir identik dengan posisi ligan dalam struktur kristal asli. Posisi yang sangat mirip ini menunjukkan bahwa fungsi penilaian energi dan algoritma pencarian konformasi dalam DOCK6 berhasil mereproduksi interaksi alamiah antara CP6 dan PfDHFR. Dengan demikian, protokol docking yang digunakan dalam penelitian ini dinyatakan valid dan dapat diandalkan untuk memprediksi afinitas dan interaksi dari ligan-ligan turunan 1,3,5-triazina terhadap protein target yang sama. Keandalan ini juga didukung oleh tidak adanya perubahan signifikan pada pola ikatan hidrogen utama, seperti interaksi dengan residu Asp54, Ile14, dan Ile164, yang jaraknya masih berada di bawah 3,5 Å.

### **Afinitas Pengikatan (Grid Score)**

Hasil simulasi molecular docking untuk kesebelas ligan disajikan pada Tabel 1. Nilai *grid score* yang lebih negatif menunjukkan interaksi yang lebih stabil dan menguntungkan secara termodinamika antara ligan dan protein target. Seperti yang diharapkan, ligan kontrol positif WR99210 (WRA) menunjukkan afinitas pengikatan tertinggi dengan nilai *grid score* -61,57 kkal/mol. Hal ini mengonfirmasi potensi WRA sebagai inhibitor PfDHFR yang sangat kuat dan menjadikannya tolok ukur yang tepat untuk mengevaluasi senyawa hasil modifikasi.

**Tabel 1. Grid Score dan Interaksi Kunci Ligan terhadap Protein 1J3J**

| <b>Ligan (Substituen Fenoksi)</b> | <b>Grid Score (kkal/mol)</b> | <b>Residu Ikatan Hidrogen Kunci</b> | <b>Residu Interaksi Hidrofobik Utama</b>                           |
|-----------------------------------|------------------------------|-------------------------------------|--|
| WR99210 (Kontrol)                 | -61,57                       | Ile14, Asp54                        | Leu46, Leu40, Ile112, Met55, Pro113, Tyr170                        |
| 3,4-Dikloro                       | -57,43                       | Asp54                               | Leu46, Ile112, Met55, Pro113                                       |
| 4-Siano (-CN)                     | -55,73                       | Ile14, Asp54                        | Phe58, Pro113, Ile112, Met55                                       |
| 4-Trifluorometil                  | -53,08                       | Ser111, Tyr170                      | Phe58, Leu46, Met55, Ile112, Pro113, Phe116, Leu119                |
| 4-Kloro                           | -51,73                       | Gly166, Tyr170                      | Ala16, Leu46, Met55, Phe58, Ile112, Pro113, Phe116, Leu119, Ile164 |
| CP6 (Referensi)                   | -43,99                       | Ile14, Asp54                        | Ala16, Leu46, Ile112   |
| 4-Fluoro                          | -47,85                       | Ile14, Tyr170                       | Tyr170, Phe58, Ile164, Ala16                                       |

**DESAIN DAN STUDI DOCKING MOLEKULER SENYAWA TURUNAN 1,3,5-TRIAZINA TERHADAP RESEPTOR DIHYDROFOLATE REDUCTASE (PDHFR) SEBAGAI KANDIDAT ANTIMALARIA BARU**

| Ligan (Substituen Fenoksi) | Grid Score (kkal/mol) | Residu Hidrogen Kunci | Ikatan Kunci | Residu Interaksi Hidrofobik Utama |
|----------------------------|-----------------------|-----------------------|--------------|-----------------------------------|
| 4-Metoksi                  | -45,24                | Ile14, Asp54          | Ile164,      | Val195, Leu46, Leu40, Ala16       |

Hasil pada Tabel 1 menunjukkan bahwa semua senyawa turunan 1,3,5-triazina hasil modifikasi memiliki afinitas pengikatan yang lebih baik dibandingkan ligan referensi CP6 (grid score -43,99 kkal/mol). Temuan ini sangat menggembirakan karena mengindikasikan bahwa modifikasi struktur pada cincin fenoksi berhasil meningkatkan interaksi dengan situs aktif PfDHFR. Senyawa turunan 3,4-diklorofenoksi muncul sebagai kandidat paling unggul di antara senyawa hasil modifikasi dengan grid score -57,43 kkal/mol, diikuti oleh turunan 4-sianofenoksi (-55,73 kkal/mol) dan 4-trifluorometilfenoksi (-53,08 kkal/mol). Peningkatan afinitas yang signifikan pada turunan 3,4-dikloro dapat diatribusikan pada efek gabungan dari dua atom klorin yang meningkatkan lipofilisitas molekul secara substansial, memungkinkannya untuk membentuk interaksi hidrofobik dan gaya van der Waals yang lebih kuat dengan residu nonpolar di kantung aktif, seperti yang diamati pada interaksi dengan Leu46, Ile112, Met55, dan Pro113 (Sun, 2022). Demikian pula, gugus penarik elektron yang kuat seperti -CN dan -CF<sub>3</sub> pada turunan 4-siano dan 4-trifluorometil tidak hanya meningkatkan karakter hidrofobik tetapi juga dapat mempolarisasi awan elektron di sekitarnya, berpotensi memperkuat interaksi dipol-dipol atau ikatan hidrogen non-konvensional dengan residu tulang punggung protein (Macegoniuk dkk., 2025; Novás & Matos, 2025).

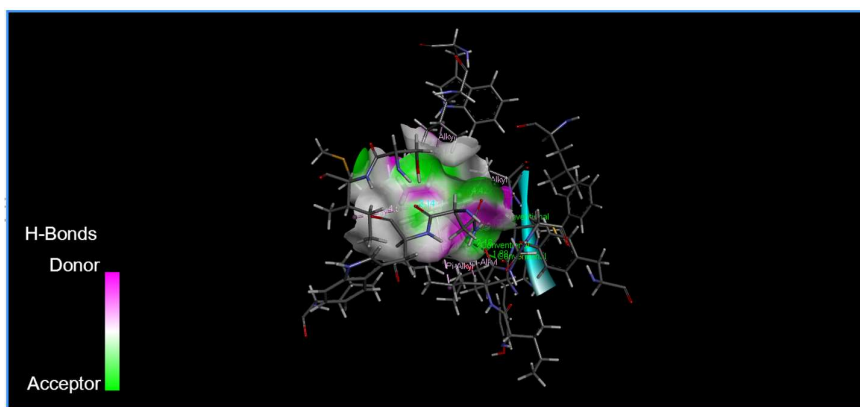
### **Analisis Interaksi Molekuler**

Analisis lebih lanjut menggunakan Discovery Studio Visualizer mengungkapkan bahwa stabilitas kompleks ligan-protein tidak hanya ditentukan oleh satu jenis interaksi, melainkan oleh jaringan interaksi non-kovalen yang sinergis.

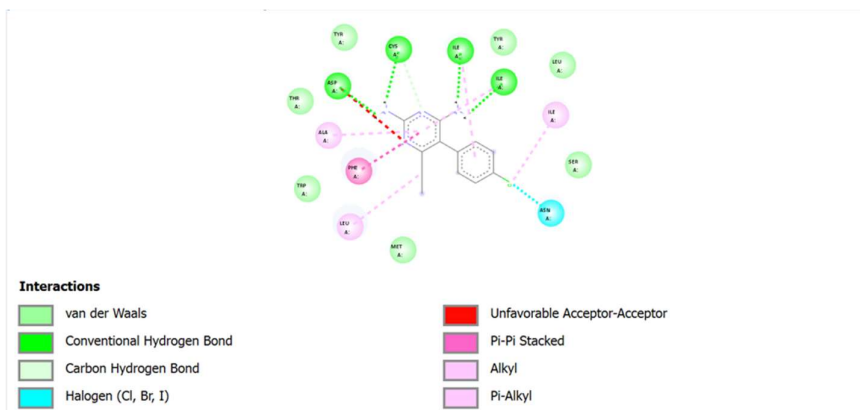
Ikatan Hidrogen. Semua ligan yang menunjukkan afinitas tinggi, termasuk CP6, WRA, turunan 3,4-dikloro, dan 4-siano, mampu mempertahankan ikatan hidrogen dengan residu Asp54. Asp54 adalah residu katalitik yang sangat penting di situs aktif PfDHFR, di mana gugus karboksilatnya berinteraksi dengan gugus 2,4-diamino dari

**DESAIN DAN STUDI DOCKING MOLEKULER SENYAWA TURUNAN 1,3,5-TRIAZINA TERHADAP RESEPTOR DIHYDROFOLATE REDUCTASE (PDHFR) SEBAGAI KANDIDAT ANTIMALARIA BARU**

inhibitor klasik. Kemampuan kerangka 1,3,5-triazina-2,4-diamina untuk mempertahankan interaksi ini membuktikan bahwa modifikasi yang dilakukan tidak mengganggu mekanisme pengikatan esensial yang diperlukan untuk penghambatan. Sebaliknya, ligan dengan afinitas lebih rendah seperti turunan 2,4-dikloro bergeser pola interaksinya ke residu Ser101, yang mungkin kurang optimal untuk stabilisasi kompleks (Siswanto dkk., 2019). Pada turunan 4-trifluorometil, ikatan hidrogen terbentuk dengan Ser111 dan Tyr170, menunjukkan fleksibilitas ligan untuk beradaptasi dan berinteraksi dengan residu lain di sekitarnya.



(a)



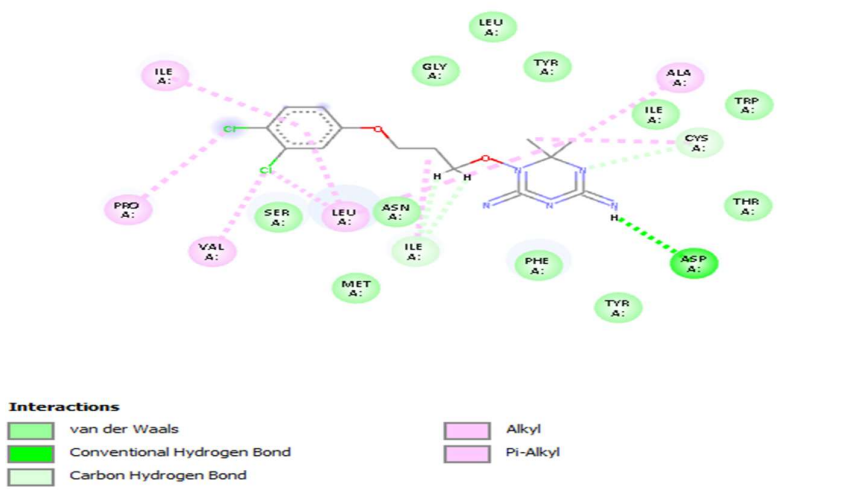
(b)

Gambar 2. Visualisasi kompleks dan interaksi ligan terhadap DHFR (PDB ID: 1J3J): (a–b) CP

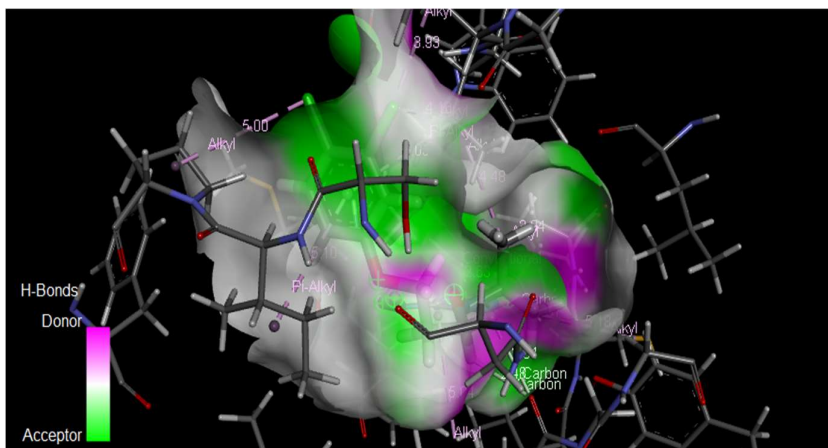
Interaksi Hidrofobik. Kontribusi utama terhadap peningkatan afinitas pada turunan yang dimodifikasi berasal dari interaksi hidrofobik yang luas. Misalnya, turunan 3,4-

**DESAIN DAN STUDI DOCKING MOLEKULER SENYAWA TURUNAN 1,3,5-TRIAZINA TERHADAP RESEPTOR DIHYDROFOLATE REDUCTASE (PDHFR) SEBAGAI KANDIDAT ANTIMALARIA BARU**

diklorofenoksi menunjukkan interaksi alkyl dan  $\pi$ -alkyl yang ekstensif dengan beberapa residu hidrofobik termasuk Leu46, Ile112, Met55, dan Pro113 (Gambar 2). Interaksi ini menstabilkan kompleks dengan mengusir molekul air dari kantung pengikatan, sebuah fenomena yang dikenal sebagai *hydrophobic packing*. Efek ini sangat penting karena situs aktif PfdHFR secara alami bersifat hidrofobik. Substituen yang lebih besar dan lebih lipofilik seperti dikloro dan trifluorometil mampu menempati rongga hidrofobik ini dengan lebih sempurna dibandingkan substituen yang lebih kecil seperti fluoro atau metoksi, yang menjelaskan urutan afinitas yang diamati. Interaksi  $\pi$ -stacking antara cincin fenoksi dari turunan 4-cyano dengan residu Phe58 juga menambah stabilitas kompleks (Adhikari dkk., 2022).



(a)



(b)

Gambar 3. Visualisasi kompleks dan interaksi ligan terhadap DHFR (PDB ID: 1J3J): (a–b) 1-[3-(3,4-Dichlorophenoxy) propoxy]-6,6-dimethyl-1,6-dihydro-1,3,5-triazine-2,4-diamine

## 5. KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan studi molecular docking yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa metode semi-empiris PM6 berhasil mengoptimasi geometri semua ligan turunan 1,3,5-triazina, menghasilkan struktur energi minimum yang siap untuk docking. Protokol docking yang digunakan sangat valid, tercermin dari nilai RMSD redocking ligan CP6 sebesar 0,444 Å. Seluruh senyawa turunan 1,3,5-triazina hasil modifikasi menunjukkan peningkatan afinitas pengikatan terhadap enzim PfDHFR (PDB ID: 1J3J) dibandingkan ligan referensi CP6. Senyawa turunan 3,4-diklorofenoksi teridentifikasi sebagai kandidat terbaik dengan nilai grid score -57,43 kkal/mol, diikuti oleh turunan 4-sianofenoksi. Analisis interaksi mengonfirmasi bahwa kerangka diamino-triazina mempertahankan ikatan hidrogen penting dengan Asp54, sementara variasi substituen pada cincin fenoksi, khususnya gugus yang bersifat hidrofobik dan penarik elektron, secara signifikan meningkatkan stabilitas kompleks melalui pembentukan interaksi hidrofobik dan van der Waals yang ekstensif.

Sebagai saran untuk penelitian lanjutan, disarankan untuk melakukan simulasi dinamika molekuler pada kompleks terbaik (turunan 3,4-dikloro dan 4-siano) guna mengevaluasi stabilitas kompleks dalam jangka waktu simulasi yang lebih panjang dan dalam lingkungan yang menyerupai fisiologis (terlarut dalam air). Selain itu, prediksi sifat ADMET (Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion, and Toxicity) secara *in silico* sangat penting untuk menilai kelayakan senyawa sebagai kandidat obat oral sebelum disintesis. Akhirnya, validasi eksperimental melalui uji inhibisi enzim PfDHFR secara *in vitro* diperlukan untuk mengonfirmasi temuan komputasi ini, serta eksplorasi formulasi nanoteknologi untuk meningkatkan bioavailabilitas senyawa-senyawa hidrofobik yang potensial ini.

## DAFTAR REFERENSI

- Adane, L., Patel, S., & Sharma, M. (2014). Binding mode analysis of some 1,3,5-triazine derivatives as pDHFR inhibitors. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 29(4), 512-523.
- Adhikari, N., Choudhury, A. A. K., Shakya, A., Ghosh, S. K., Patgiri, S. J., Singh, U. P., & Bhat, H. R. (2022). Molecular docking and antimalarial evaluation of novel N-(4-aminobenzoyl)-L-glutamic acid conjugated 1,3,5-triazine derivatives as Pf-DHFR inhibitors. *3 Biotech*, 12(12), 347.
- Allen, W. J., Balius, T. E., Mukherjee, S., Brozell, S. R., Moustakas, D. T., Lang, P. T., ... & Rizzo, R. C. (2015). DOCK 6: Impact of new features and current docking performance. *Journal of Computational Chemistry*, 36(15), 1132-1156.
- Lourens, A. C. U., Winks, S., Brandt, E. V., & de Kock, C. (2016). Synthesis and biological evaluation of novel 1,3,5-triazine derivatives as potential antiplasmodial agents. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 14(36), 8502-8513.
- Macegoniuk, K., et al. (2025). The Role of Trifluoromethyl Groups in Enhancing Drug-Target Interactions. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 92, 129738.
- Novás, M., & Matos, M. J. (2025). The Role of Trifluoromethyl and Trifluoromethoxy Groups in Medicinal Chemistry: Implications for Drug Design. *Molecules*, 30(14), 3009.
- Paneru, R., et al. (2025). Accuracy and efficiency of semi-empirical PM6 methods in predicting small molecule--protein binding poses. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 65(4), 1120-1131.
- Siswanto, I., Pranowo, H. D., & Mudasir. (2019). Docking of new designed compounds derived from 1,6-dihydro-1,3,5-triazine-2,4-diamine toward quadruple mutant Plasmodium dihydrofolate reductase. *Indonesian Journal of Chemistry*, 19(3), 777-785.
- Stewart, J. J. P. (2007). Optimization of parameters for semiempirical methods V: Modification of NDDO approximations and application to 70 elements. *Journal of Molecular Modeling*, 13(11), 1173-1213.
- Sun, Q. (2022). The hydrophobic effects: Our current understanding. *Molecules*, 27(20), 7009.
- Verma, P., et al. (2025). Defining geometric criteria for stable hydrogen bonding networks in computer-aided drug discovery. *Computational Biology and Chemistry*, 108, 107-118.
- Yuvaniyama, J., Chitnumsub, P., Kamchonwongpaisan, S., Vanichtanankul, J., Sirawaraporn, W., Taylor, P., ... & Yuthavong, Y. (2003). Insights into antifolate resistance from structures of class-mutant *Plasmodium falciparum* dihydrofolate reductase. *Nature Structural Biology*, 10(5), 357-365.