

**EVALUASI INTERAKSI NANOBODI TERMODIFIKASI  
DENGAN KORTISOL MENGGUNAKAN METODE  
PENAMBATAN MOLEKUL**

**SKRIPSI**

**ANGGIE MELINDA HERMAWAN**

**A 181 004**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA  
YAYASAN HAZANAH  
BANDUNG  
2022**

**EVALUASI INTERAKSI NANOBODI TERMODIFIKASI  
DENGAN KORTISOL MENGGUNAKAN METODE  
PENAMBATAN MOLEKUL**

**SKRIPSI**

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi

**ANGGIE MELINDA HERMAWAN**

**A 181 004**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA  
YAYASAN HAZANAH  
BANDUNG  
2022**

**EVALUASI INTERAKSI NANOBODI TERMODIFIKASI DENGAN  
KORTISOL MENGGUNAKAN METODE PENAMBATAN MOLEKUL**

**ANGGIE MELINDA HERMAWAN  
A 181 004**

Juli 2022

Disetujui oleh

Pembimbing

Pembimbing

Nur Asni Setiani, M.Si

Umi Baroroh, S.Si., M.Biotek

Kutipan atau saduran baik sebagian ataupun seluruh naskah, harus menyebut nama pengarang dan sumber aslinya, yaitu Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

Skripsi ini dipersembahkan kepada kedua orang tua yang saya muliakan, adik yang saya cintai, astronout, Kober0099sc, gtjyt, kucing serta playlist lagu yang selalu menemani.

the possibility of all those possibilities being possible is just another possibility that can possibly happen (biiznillah) -mkl

## ABSTRAK

Kadar kortisol perlu dipantau berkala agar tidak melebihi ambang normal karena dapat memicu sindrom Cushing dan Addison. Deteksi kortisol dapat dilakukan dengan menggunakan nanobodi karena sifat-sifatnya yang dapat membuat pendeteksian lebih efektif dan efisien. Nanobodi merupakan domain variabel rantai berat antibodi pada *Camelidae*. Nanobodi 6ITP memiliki afinitas yang kurang baik terhadap kortisol sehingga dilakukan modifikasi menjadi T53I (mutan). . Salah satu metode komputasi yaitu dengan penambatan molekul. Afinitas dapat diketahui menggunakan penambatan molekul reseptor dengan ligan secara komputasi sehingga diketahui prediksi ikatan dan total energi Struktur kortisol yang akan ditambatkan dengan ligan divalidasi dahulu untuk memastikan metode penambatan telah valid, kemudian penambatan dilakukan terhadap kortisol dan senyawa kortikosteroid yang mirip dengan kortisol yaitu prednison, testosteron, dan estradiol. Senyawa yang memiliki kemiripan ini dikhawatirkan akan menghasilkan positif palsu. Hasil penambatan molekul pada nanobodi natif maupun mutan menunjukkan energi paling rendah dihasilkan oleh prednison lalu testosteron, kortisol, dan estradiol. Pada nanobodi mutan dengan ligan uji terjadi penambahan interaksi dan penurunan total energi. Dapat disimpulkan bahwa nanobodi mutan menghasilkan energi pengikatan lebih rendah dibandingkan natif yang menunjukkan afinitas yang lebih baik, namun pengikatan nanobodi terhadap kortisol masih belum spesifik.

**Kata kunci:** penambatan molekul, nanobodi, kortisol, afinitas, spesifisitas

## **ABSTRACT**

*Cortisol levels need to be monitored regularly so as not to exceed the normal limit because it can trigger Cushing and Addison syndrome. Cortisol detection can be done using nanobodies because of its properties that can make detection more effective and efficient. A nanobody is a variable domain of an antibody heavy chain in Camelidae. 6ITP nanobodies have poor affinity for cortisol, so they were modified to become T53I (mutant). Affinity can be determined by computationally docking the receptor molecule with ligands so that the prediction of bonding and total energy is known. One of the computational methods is molecular docking. The structure of cortisol, which will be tethered with ligands, is validated first to ensure that the tethering method is valid, then tethering is carried out on cortisol and corticosteroid compounds similar to cortisol, namely prednisone, testosterone, and estradiol. Compounds that have this resemblance are feared to produce false positives. The results of molecular anchoring on both native and mutant nanobodies showed that the lowest energy was produced by prednisone and then testosterone, cortisol, and estradiol. In the mutant nanobodies with the test ligands there was an increase in interactions and a decrease in the total energy. It can be concluded that the mutant nanobody produces lower binding energy than the native which shows better affinity, but the binding of nanobodies to cortisol is not yet specific.*

**Keywords:** *molecular docking, nanobody, cortisol, affinity, specificity*

## KATA PENGANTAR

*Bismillahirrahmanirrahim,*

Puji dan puja hanyalah milik Allah SWT, kepada-Nya penulis memanjatkan syukur dan meminta berkah atas selesainya penelitian dan penulisan skripsi yang berjudul **“Evaluasi Interaksi Nanobodi Termodifikasi-Kortisol dengan Menggunakan Metode Penambatan Molekul”**. Penelitian dan penulisan skripsi ini dilakukan untuk memenuhi syarat untuk mendapatkan gelar sarjana pada prodi Farmasi di Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Nur Asni Setiani, M.Si dan Umi Baroroh, S.Si., M.Biotek atas bimbingan, dukungan dan nasihat yang diberikan. Penulis tak lupa mengucapkan terimakasih kepada:

1. Dr. Apt. Adang Firmansyah, M.Si selaku Ketua Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.
2. Dr. Apt. Diki Prayugo W, M.Si selaku Wakil Ketua I bidang Akademik
3. Dr. Apt. Wiwin Winingsih, M.Si selaku Ketua Program Studi.
4. Prof. Dr. Apt. Aang Hanafiah Ws, selaku Dosen Wali.
5. Seluruh staf dosen, staf administrasi serta karyawan Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.
6. Kedua orang tua, Iwan Hermawan dan Mayasaroh yang selalu memberikan dukungan dan doa.
7. Para sahabat yang telah saling memberi motivasi dan inspirasi.

Kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan oleh penulis karena dalam penulisan skripsi ini masih banyak kekurangan maupun kesalahan. Skripsi ini diharapkan dapat memberikan manfaat untuk penulis maupun pihak lain.

Bandung, Juli 2022

Penulis



## DAFTAR ISI

<b>ABSTRAK</b> .....	i
<b>ABSTRACT</b> .....	ii
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	iii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	iv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	vi
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	vii
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	2
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
1.5 Waktu dan Tempat Penelitian .....	3
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	4
2.1 Nanobodi .....	4
2.1.1 Nanobodi sebagai alat dalam penelitian bioteknologi .....	5
2.1.2 Nanobodi sebagai reagen pencitraan .....	5
2.1.3 Nanobodi untuk diagnosa penyakit.....	5
2.1.4 Nanobodi untuk terapi penargetan .....	5
2.2 Hormon.....	5
2.2.1 Kortisol .....	6
2.3 Penambatan Molekul ( <i>Molecular Docking</i> ) .....	9
<b>BAB III METODOLOGI PENELITIAN</b> .....	14
3.1 Alat .....	14
3.2 Bahan.....	14
3.3 Prosedur Penelitian.....	14
3.2.2 Pengujian Ligan Uji (Kortisol, Prednison, Testosteron dan Estradiol)	
15	
<b>BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN</b> .....	17
4.1 Validasi nanobodi natif dan mutan.....	17
4.2 Penambatan Molekul Kontrol dan Uji.....	18

<b>BAB V SIMPULAN DAN ALUR PENELITIAN SELANJUTNYA.....</b>	<b>23</b>
5.1    Simpulan.....	23
5.2    Alur penelitian selanjutnya.....	23
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>24</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>27</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 IgG (A) dan rantai berat antibodi dari unta (D) .....	4
Gambar 2 Struktur prednison .....	7
Gambar 3 Struktur testosteron .....	8
Gambar 4 Struktur estradiol .....	9
Gambar 5 Diagram alir prosedur penelitian .....	14
Gambar 6 Interaksi ikatan yang terjadi pada kortisol .....	20
Gambar 7 Interaksi ikatan yang terjadi pada prednison, estradiol dan testosteron	21

## DAFTAR TABEL

Tabel 1 Hasil Validasi.....	18
Tabel 2 Hasil penambatan molekul.....	19

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Validasi .....	27
Lampiran 2. Hasil Penambatan Molekul.....	27
Lampiran 3. Daftar Istilah .....	37
Lampiran 4. Daftar Singkatan .....	38

### DAFTAR PUSTAKA

- Atkovska K., *et al.* 2014. "Multipose Binding in Molecular Docking". *International Journal of Molecular Sciences*. 15(2):2622-2645. <https://doi.org/10.3390/ijms15022622>
- Agarwal, Shweta dan Mehrotra, Ranjana. 2016. "Mini Review\_ An overview of Molecular Docking". *JSM Chemistry*. 2. 1024.
- Bao, G., Tang, M., Zhao, J. *et al.* 2021. "Nanobody: a promising toolkit for molecular imaging and disease therapy". *EJNMMI Res* 11, 6. doi: 10.1186/s13550-021-00750-5
- Baroroh, U., *et al.* 2022. "Computational Design of Nanobody Binding to Cortisol to Improve Their Binding Affinity Using Molecular Docking and Molecular Dynamics Simulations". *Indonesian Journal of Chemistry*. 22(2), 515-525. <https://doi.org/10.22146/ijc.71480>
- Cay, M., *et al.* 2018. "Effect of increase in cortisol level due to stress in healthy young individuals on dynamic and static balance scores". *Northern clinics of Istanbul*, 5(4), 295–301. <https://doi.org/10.14744/nci.2017.42103>
- Chaudhry HS, Singh G. Cushing Syndrome. [Updated 2021 Jul 30]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing
- Cosconati, S., *et al.* 2010. "Virtual Screening with AutoDock: Theory and Practice". *Expert opinion on drug discovery*, 5(6), 597–607. <https://doi.org/10.1517/17460441.2010.484460>
- Ding, L., *et al.* 2019. "Structural insights into the mechanism of single domain VHH antibody binding to cortisol". *FEBS Letters*. doi:10.1002/1873-3468.13398
- Furman, B. 2018. *Testosterone. Reference Module in Biomedical Sciences*. doi:10.1016/b978-0-12-801238-3.98045-0
- Flower, R. J. 2009. *Prednisone. xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference*, 1–6. doi:10.1016/b978-008055232-3.62455-9
- Girija, CR., *et al.* 2010. "Molecular docking studies of curcumin derivative with multiple protein targets for procarcinogen activating enzyme inhibition". *J Proteomics Bioinform*. 3(6): 200- 203.
- Kitchen, D. B, *et al.* 2004. "Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications". *Nature Reviews Drug Discovery*, 3(11), 935–949. doi:10.1038/nrd1549
- Lee, D. Y, *et al.* 2015. "Technical and clinical aspects of cortisol as a biochemical marker of chronic stress". *BMB reports*, 48(4), 209–216. doi:10.5483/bmbrep.2015.48.4.275

- Lisdiana. 2012. “Regulasi kortisol pada kondisi stres dan addiction”. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*. 4. doi:10.15294/biosaintifika.v4i1.2264.
- Meng, X. Y., *et al.* 2011. “Molecular docking: a powerful approach for structure-based drug discovery”. *Current computer-aided drug design*, 7(2), 146–157. <https://doi.org/10.2174/157340911795677602>
- Murray, R.K., *et al.* 2014. Biokimia Harper. Edisi 29. Jakarta : EGC.
- Murdhiono, Wahyu Rochdiat., *et al.* 2021. “The Effect of Online Learning Systems on Academic Stress during the Covid-19 Pandemic among Students in Indonesia”. *International Medical Journal* Vol. 28 Issue 4, p445-448. 4p
- Muyldermans, S., *et al.* 2009. “Camelid immunoglobulins and nanobody technology”. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 128(1-3), 178–183. doi:10.1016/j.vetimm.2008.10.299
- Morris, G. M., *et al.* 2008. “Using AutoDock for ligand-receptor docking”. *Current protocols in bioinformatics*, Chapter 8, <https://doi.org/10.1002/0471250953.bi0814s24>
- Nelson, L. R., dan Bulun, S. E. 2001. “Estrogen production and action”. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 45(3), S116 S124. doi:10.1067/mjd.2001.117432
- Puckett Y, Gabbar A, Bokhari AA. 2022. “Prednisone” . In: StatPearls Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK534809/>
- Ramadhan, D. S. F., *et al.* 2020. “Activity Prediction of Bioactive Compounds Contained in Etlingera elatior Against the SARS-CoV-2 Main Protease: An In Silico Approach”. *Borneo Journal of Pharmacy*, 3(4): 235–242
- Saravanan, R., *et al.* 2022. “GC-MS Analysis, Molecular Docking and Pharmacokinetic Properties of Phytocompounds from Solanum torvum Unripe Fruits and Its Effect on Breast Cancer Target Protein”. *Applied biochemistry and biotechnology*. 194(1), 529–555. <https://doi.org/10.1007/s12010-021-03698-3>
- Susilowati, E., dan Azzasyofia, M. 2020. “The Parents Stress Level in Facing Children Study From Home in the Early of COVID-19 Pandemic in Indonesia”. *International Journal of Science and Society*, 2(3), 1-12. <https://doi.org/10.54783/ijssoc.v2i3.117>

- Thau L, Gandhi J, Sharma S. Physiology, Cortisol. [Updated 2021 Sep 6]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing
- Tyagi, V, *et al.* 2017. “Revisiting the role of testosterone: Are we missing something?”. *Reviews in urology*, 19(1), 16–24. <https://doi.org/10.3909/riu0716>
- Wang Y, *et al.* 2016. “Nanobody-derived nanobiotechnology tool kits for diverse biomedical and biotechnology applications”. *Int J Nanomedicine*.;11:3287-3303 doi:10.2147/IJN.S107194