

STUDI *IN SILICO*: POTENSI ANTIBAKTERI SENYAWA AKTIF ALGA MERAH *Gracillaria Verrucosa* UNTUK MENGHAMBAT *Penicillin Binding Protein* (PBP) BAKTERI *Escherichia coli*

Denatha Bagus Ahmad Muhammad, Muhammad Zainul Fadli, Yoni Rina Bintari*
Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan : *Gracillaria verrucosa* (alga merah) berpotensi sebagai antibakteri untuk *Escherichia coli* dengan menghambat *penicillin binding protein* (PBP). PBP merupakan protein bakteri yang berfungsi dalam sintesis dinding bakteri. Eksplorasi potensinya melalui pendekatan *In silico* meliputi prediksi sifat fisikokimia, profil farmakokinetik, dan penghambatan terhadap PBP1b dan PBP3. Penghambatan pada protein tersebut akan menghambat sintesa dinding bakteri *Escherichia coli*.

Metode : Uji *in silico* dilakukan penambatan pada 25 senyawa *G.verrucosa* yang memiliki aktivitas antibakteri secara *in vitro*. Penambatan dilakukan pada protein PBP1b dan PBP3 menggunakan *Pyrx Autodock Vina* dengan kontrol *Moenomycin* dan *Monobactam AIC499*. Visualisasi protein dan ligan menggunakan *BIOVIA discovery studio*. Prediksi sifat fisikokimia (*Lipinski's Rule of Five*) serta parameter ADME dan toksisitas menggunakan *pkCSM online tools*.

Hasil : Pengujian docking *In silico* 25 senyawa *G.verrucosa* tidak menunjukkan energi ikatan bebas yang lebih baik daripada kontrol. Terdapat satu senyawa aktif *G.verrucosa* yang memiliki afinitas yang baik mendekati kontrol terhadap PBP3, yaitu *2,2-diphenyl-2-hydroxy acetic acid*. Energi bebas yang dimiliki oleh senyawa tersebut terhadap PBP3 sebesar -6,7 kcal/mol dengan ikatan hidrogen pada THR497, SER307, dan LYS358. Prediksi sifat fisikokimia senyawa aktif *G.verrucosa* memenuhi kriteria *Lipinski rule of five*, dan prediksi profil ADMET menunjukkan potensinya sebagai kandidat obat.

Kesimpulan : Berdasarkan hasil penambatan senyawa aktif *G.verrucosa* diprediksi memiliki aktivitas antibakteri yang lebih lemah dibandingkan dengan kontrol.

Kata Kunci : *Escherichia coli*, *Gracillaria verrucosa*., *Moenomycin*, *Monobactam AIC499*, *Penicillin Binding Protein* (PBP), ADMET, *In Silico*

*Korespondensi : Yoni Rina Bintari (yonirinabintari@unisma.ac.id)

ANTIBACTERIAL POTENTION ACTIVE COMPOUND OF RED ALGAE *Gracillaria Verrucosa* INHIBITS PENICILLIN BINDING PROTEIN (PBP) OF *Escherichia coli* : IN *SILICO* STUDY

Denatha Bagus Ahmad Muhammad, Muhammad Zainul Fadli, Yoni Rina Bintari*
Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang

ABSTRACT

Introduction : *Gracillaria verrucosa* (red algae) has potential as an antibacterial for *Escherichia coli* by inhibiting *penicillin binding protein* (PBP). PBP is a bacterial protein that functions in bacterial wall synthesis. Exploration of its potential through *In silico* approach includes prediction of physicochemical properties, pharmacokinetic profile, and inhibition of PBP1b and PBP3. Inhibition of these proteins will inhibit *Escherichia coli* bacterial wall synthesis.

Method : *In silico* tests were carried out docking 25 *G.verrucosa* compounds that have antibacterial activity *in vitro*. Docking was performed on PBP1b and PBP3 proteins using *Pyrx Autodock Vina* with *Moenomycin* and *Monobactam AIC499* as controls. Visualization of proteins and ligands using *BIOVIA discovery studio*. Prediction of physicochemical properties (*Lipinski's Rule of Five*) as well as ADME and toxicity parameters using *pkCSM online tools*.

Result : *In silico* docking testing of 25 *G.verrucosa* compounds did not show better free binding energy than the control. There is one active compound of *G.verrucosa* that has a good affinity close to the control to PBP3, namely *2,2-diphenyl-2-hydroxy acetic acid*. The free energy possessed by the compound against PBP3 is -6.7 kcal/mol with hydrogen bonds at THR497, SER307, and LYS358. The predicted physicochemical properties of the active compound of *G.verrucosa* fulfill the *Lipinski rule of five* criteria, and the ADMET profile prediction shows its potential as a drug candidate.

Conclusion : Based on the tethering results, the active compound of *G. verrucosa* is predicted to have weaker antibacterial activity compared to the control.

Keyword : *Escherichia coli*, *Gracillaria verrucosa* , *Moenomycin*, *Monobactam AIC499*, *Penicillin Binding Protein* (PBP), ADMET, *In Silico*

*Correspondence: Yoni Rina Bintari (yonirinabintari@unisma.ac.id)

PENDAHULUAN

Escherichia coli merupakan jenis bakteri gram negatif yang berpotensi patogen dan menyebabkan infeksi pada manusia. *E. coli* dapat menyebabkan infeksi saluran pencernaan, bakteremia, sepsis, dan infeksi saluran kemih.¹ Menurut laporan dari *Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System* (GLASS), data konsumsi obat antibiotik di 127 negara dengan 72% populasi dunia, didapatkan adanya resistensi bakteri *E. coli* sebanyak 20% pada antibiotik golongan penisilin, dan golongan kuinolon.²

Salah satu penyebab terjadinya resistensi adalah adanya enzim *Extended spectrum beta-lactamase* (ESBL).³ Bakteri *E. coli* diketahui dapat menghasilkan enzim ESBL.⁴ Pada penelitian yang lain diketahui bakteri *E. coli* menghasilkan enzim ESBL yang menyebabkan terjadinya infeksi pada saluran kemih.⁵ Enzim tersebut dapat menghidrolisis dan menyebabkan resistensi pada antibiotik beta-laktam seperti monobaktam.⁶

Alga merah (*Gracillaria verrucosa*) merupakan herbal yang berpotensi sebagai obat antibakteri. Penelitian *in-vitro* sebelumnya melaporkan bahwa *Gracillaria verrucosa* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*.⁷ Pada penelitian yang lainnya, disebutkan ekstrak *G. verrucosa* memiliki aktivitas antibakteri pada senyawa asam lemaknya.⁸ Penelitian sebelumnya belum menjelaskan bagaimana mekanisme antibakteri senyawa aktif alga merah.

Pencegahan infeksi bakteri *E. coli* dapat dilakukan dengan cara menghambat protein sintesis dinding bakteri yaitu *penicillin binding protein* (PBP).⁹ PBP merupakan protein reseptor pada *E. coli* yang berfungsi sebagai protein saat sintesis dinding sel bakteri. *E. coli* memiliki beberapa protein PBP diantaranya adalah PBP1b dan PBP3.¹⁰ PBP1b dan PBP3 akan berikatan dengan asam amino *d-alanin-d-alanyl* yang menyebabkan terjadinya *cross-link* - peptidoglikan bakteri dalam membentuk dinding sel bakteri.¹¹ Penelitian sebelumnya telah dilakukan pengujian aktivitas antibakteri dengan senyawa *Gracillaria verrucosa* namun mekanisme aktivitas tersebut masih belum diketahui dengan pasti, sehingga perlu diteliti perannya pada PBP1b dan PBP3 secara *in silico* sebagai awal untuk proses lanjutannya.

METODE PENELITIAN

Desain, Tempat, dan Waktu Penelitian

Penelitian menggunakan metode *In silico* observasional dengan menggunakan pkCSM online tools untuk melakukan prediksi fisikokimia dan ADMET. Proses pengujian dilakukan pada bulan Februari hingga April 2023 di Laboratorium Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang.

Alat dan Bahan

Komputer yang digunakan sebagai alat penelitian memiliki spesifikasi RAM 8129 Mb, Intel

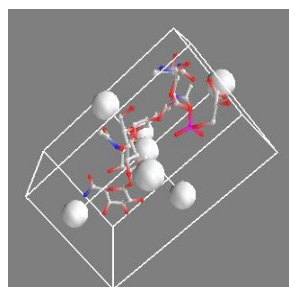
Core i5-5200U @2.20GHz, Windows 10 (10.0, build 19045), koneksi internet, dan program autodock PyRx. Senyawa aktif *Gracillaria verrucosa* yang diteliti adalah Dodecane, Tetradecanoic acid, 9-Hexadecenoic acid, O- Xylene, Benzaldehyde dimethyl acetate, Hexadecenoic acid, Pentadecane, Octadecenoic acid, Tridecanoic acid, 5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid, Eicosane, 7,10,13-Eicosatetraenoic acid, Pentadecanoic acid, 1-Chloro-octadecane, 9-Octadecenoic acid, Oxacyclopent, 6,9,12-Octadecatrienoic acid, Eicosanoic acid, Heneicosanoic acid, 11,14-Eicosadienoic acid, Tetracosanoic acid, 15-Tetracosenoic acid (nervonic acid), 2,2-diphenyl-2-hydroxy acetic acid (Resveratrol), Palatinol IC, dan N-Phenethyl – acetamide. Senyawa didapatkan melalui PubChem, dan struktur native ligand Moenomycin (CID: 137349720) dan Monobactam AIC499 (CID: 156587350) didapatkan dari PubChem (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Struktur protein target PBP1b (ID PDB:3VMA) PBP3 (ID PDB: 7ONW) didapatkan pada website Protein Data Bank (<https://www.uniprot.org/>). Program dengan sarana website pkCSM online tools (<http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsml/prediction>), dan program BIOVIA Discovery dan program Autodock Vina PyRx.

Penambatan Senyawa Aktif *Gracillaria verrucosa* Terhadap Protein Target PBP1b dan PBP3 *E. coli*

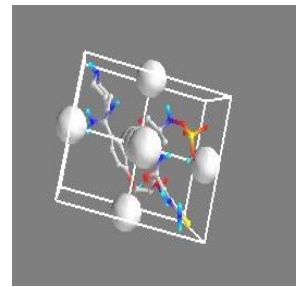
Download senyawa aktif ligan *Gracillaria verrucosa* pada PubChem, dan menggunakan program Autodock Vina pada aplikasi PyRX untuk melakukan uji *molecular docking*. Visualisasi 3D protein dan ligan menggunakan aplikasi BIOVIA Discovery untuk melihat residu asam amino.

Validasi metode *molecular docking*

Metode penambatan dilakukan validasi dengan memilih hasil ikatan bebas dengan nilai RMSD (<2 Å). Pada protein PBP1b menggunakan gridbox (X: 45.7830 Y: 131.257 Z: 19.3065) dan protein PBP3 dengan menggunakan gridbox (X: 25.5395 Y: 21.5759 Z: -24.1758).



Gambar 1. Gridbox PBP1b



Gambar 2. Gridbox PBP3

Uji fisikokimia dan farmakokinetik (ADMET) senyawa aktif *Gracillaria verrucosa*

Senyawa aktif *Gracillaria verrucosa* dan *native ligand* Moenomycin dan Monobactam AIC499 diambil *Canonical SMILES* dari PubChem (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) kemudian dilakukan input pada *field SMILES* di website pkCSM (<https://biosig.lab.uq.edu.au/pkcsm/prediction>). Pada pkCSM *online tools* akan diperoleh hasil prediksi fisikokimia dan ADMET yang digunakan untuk menentukan apakah senyawa aktif *G.verrucosa* yang diuji memiliki potensi sebagai obat.

Teknik Analisa Data

Membandingkan nilai hasil uji penambatan antara senyawa aktif dan komposisi asam amino antara senyawa *G.verrucosa* dengan *native* ligan kontrol (*Moenomycin*) dan (*Monobactam AIC499*). Parameter fisikokimia dianalisa dengan Aturan *Lipinski* yakni massa molekul, hidrogen donor, hidrogen akseptor, logaritma koefisien, dan luas permukaan.¹² Evaluasi farmakokinetik dilakukan dengan parameter absorpsi pada intestinal dan kulit, volume distribusi, kekuatan senyawa dalam menembus sawar darah otak, dan jumlah senyawa dalam bentuk tak terikat. Enzim P450 sebagai indikator metabolisme suatu senyawa dan *total clearance* sebagai indikator ekskresi. Pada indikator toksisitas menggunakan hepatotoksik.¹³

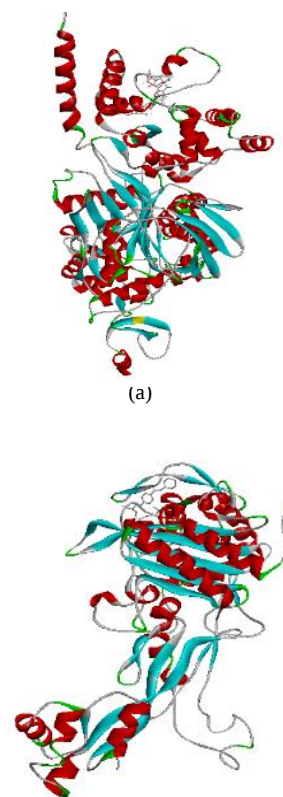
HASIL PENELITIAN

Uji *Molecular Docking* senyawa aktif *Gracillaria verrucosa* terhadap PBP1b dan PBP3

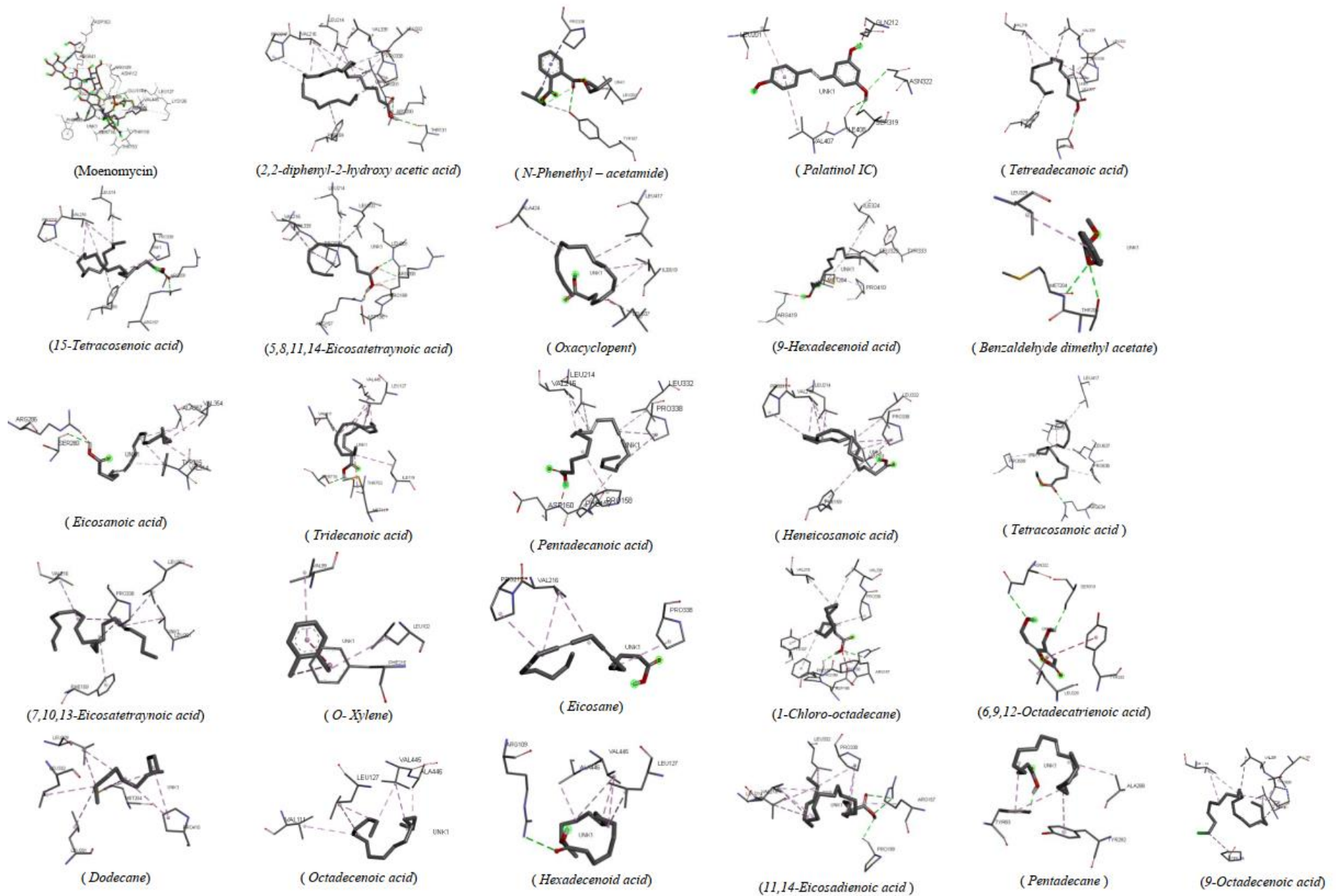
Dalam hasil *molecular docking* yang meliputi energi ikatan gibbs atau ikatan bebas dan fraksi asam amino senyawa aktif *G.verrucosa* pada protein reseptor PBP1b dan PBP3. Suatu ikatan bebas yang memiliki nilai kurang dari ΔG 0 kcal/mol antara ligan dan protein akan dianggap memiliki ikatan.¹⁴ Nilai energi ikatan bebas kontrol sebesar ΔG -7,9 kcal/mol ditunjukkan dalam **tabel 1**, dan terdapat satu senyawa yang memiliki nilai energi ikatan bebas yang sama, yaitu *2,2-diphenyl-2-hydroxy acetic acid*. Pada **tabel 2** menunjukkan obat kontrol memiliki energi ikatan bebas sebesar ΔG -7,5 kcal/mol, dan tidak ada senyawa *G.verrucosa* yang memiliki energi ikatan bebas yang lebih baik dibandingkan dengan kontrol. Senyawa aktif *2,2-diphenyl-2-hydroxy acetic acid* memiliki energi ikatan bebas ΔG -6,7 kcal/mol yang merupakan energi yang paling baik.

Pada penelitian ini tidak didapatkan residu asam amino yang sama dengan kontrol. Pada *Moenomycin* memiliki ikatan hidrogen ARG485, ARG109, ASN112, THR753, SER716, THR118, MET110, ARG196, ARG641, GLU483, dan ikatan hidrofobik PRO656, GLU653, ALA446, TYR746, ASP478, THR717, ASP443, PHE480, VAL445, LEU127, GLU123, VAL111, MET117. Sedangkan pada *Monobactam AIC499* memiliki ikatan hidrogen GLY479, LYS358, THR497, ASP343, SER359,

ASN361, SER307, LYS310, dan ikatan hidrofobik GLY480, TYR541, VAL344, PHE417, TYR419, LYS342. Dalam **tabel 1** ditunjukkan bahwa ada 3 senyawa *G.verrucosa* yang memiliki jumlah residu asam amino yang sama. Senyawa aktif yang memiliki kesamaan residu asam amino yang paling mendekati *Moenomycin* adalah *Hexadecenoic acid*, tetapi lebih rendah daripada energi ikatan bebas kontrol. Residu asam amino yang sama pada senyawa tersebut adalah ikatan hidrofobik VAL111, LEU127, VAL445, ASP443, TYR746, ALA446, , THR717, dan GLU123. Sedangkan pada **tabel 2** ditunjukkan bahwa ada 18 senyawa yang memiliki jumlah residu asam amino yang sama. Senyawa aktif *2,2-diphenyl-2-hydroxy acetic acid* memiliki komposisi asam amino yang paling mendekati *Monobactam AIC499* tetapi tidak memiliki energi ikatan bebas yang lebih rendah. Residu asam amino yang sama senyawa aktif tersebut dengan kontrol pada ikatan hidrogen THR497, SER307, LYS358, dan ikatan hidrofobik VAL344, GLY480, TYR541. Energi ikatan bebas dari senyawa aktif *2,2-diphenyl-2-hydroxy acetic acid* memiliki energi gibbs yang sama dengan *Moenomycin* namun tidak memiliki kesamaan komposisi asam amino. Pada *Monobactam AIC499* senyawa tersebut memiliki energi ikatan bebas yang tidak lebih baik namun memiliki persentase kesamaan residu asam amino yang paling besar.



Gambar 3. 3D Protein PBP (a) PBP1b, (b) PBP3



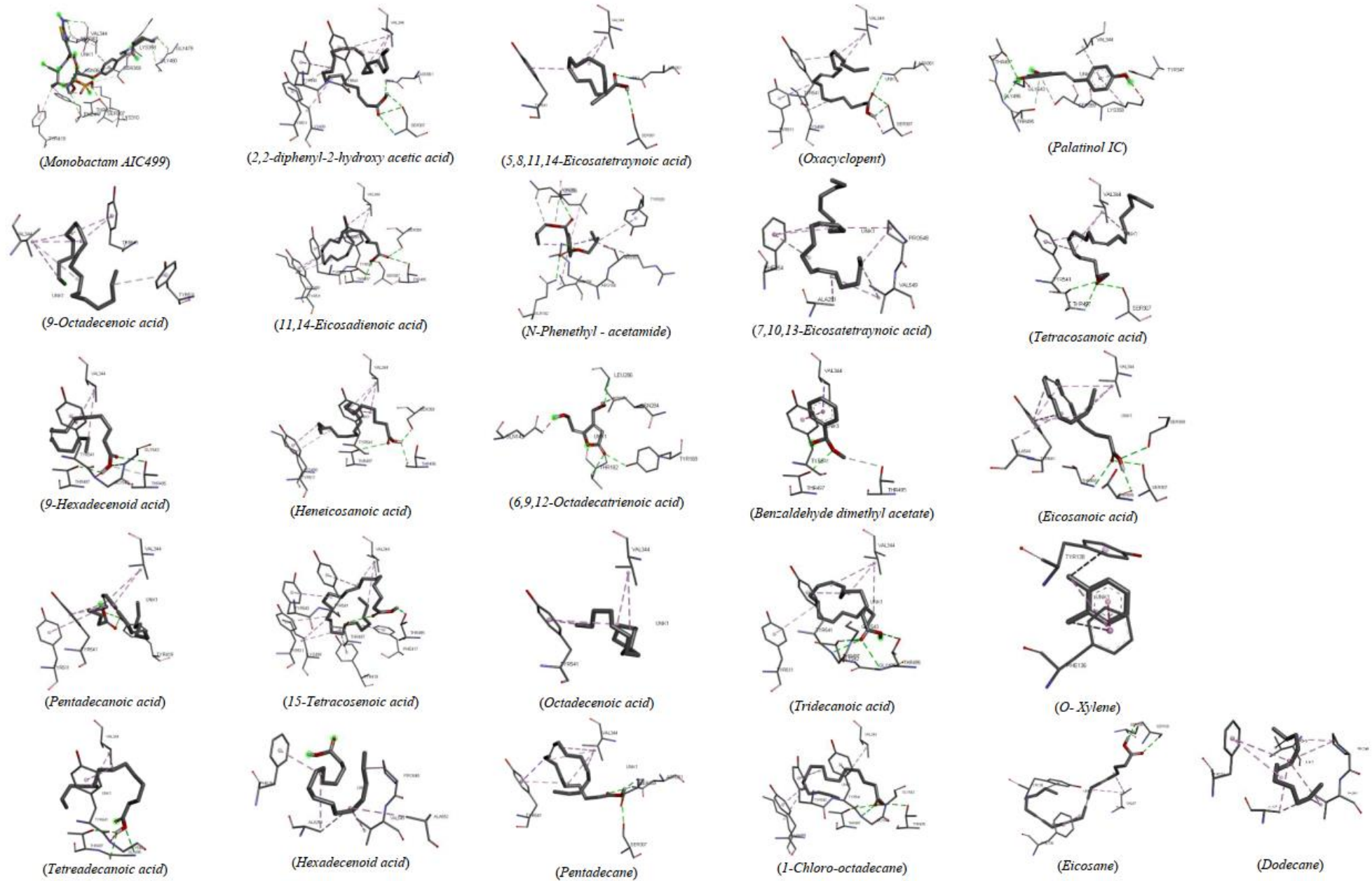
Gambar 4. Hasil penambatan *Gracillaria verrucosa* terhadap protein PBP1b

Tabel 1. Hasil *Molecular Docking* Senyawa *Gracillaria verrucosa* pada PBP1b

No	Ligan	Energi ikatan bebas (kcal/mol)	Residu As. Amino	Jumlah Res. As. Amino sama dengan kontrol	Kesamaan Residu As. Amino yang Terikat dengan <i>Moenomycin</i> (%)	Kesimpulan
1	<i>Moenomycin</i> (Kontrol)	-7,9	Hidrogen ARG485, ARG109, ASN112, THR753, SER716, THR118, MET110, ARG196, ARG641, GLU483 Hidrofobik PRO656, GLU653, ALA446, TYR746, ASP478, THR717, ASP443, PHE480, VAL445, LEU127, GLU123, VAL111, MET117	-	-	Ikatan yang terbentuk bersifat hidrogen dan hidrofobik, Energi ikatan cukup kuat (4-8)
2	2,2-diphenyl-2-hydroxy acetic acid (<i>Resveratrol</i>)	-7,9	Hidrogen ASN322, SER319, ILE408 Hidrofobik LEU201, VAL407 Lain-lain GLN212	-	-	Tidak memiliki kesamaan ikatan dengan kontrol, Energi ikatan cukup kuat (4-8)
3	<i>N</i> -Phenethyl - acetamide	-6,5	Hidrogen MET204, THR203 Hidrofobik LEU329, ILE324	-	-	Tidak memiliki kesamaan ikatan dengan kontrol, Energi ikatan cukup kuat (4-8)
4	<i>Palatinol IC</i>	-6,4	Hidrogen TYR107 Hidrofobik PRO338, LEU201	-	-	Tidak memiliki kesamaan ikatan dengan kontrol, Energi ikatan cukup kuat (4-8)
5	<i>Tetradecanoic acid</i>	-6	Hidrogen ASN322, GLN212, THR203 Hidrofobik ILE324, MET204, LEU329, LEU201, LEU332, VAL407	-	-	Tidak memiliki kesamaan ikatan dengan kontrol, Energi ikatan cukup kuat (4-8)
6	15-Tetracosenoic acid (<i>nervonic acid</i>)	-5,9	Hidrogen LEU201, ARG200, THR131 Hidrofobik LEU332, LEU214, VAL216, PRO338, VAL339, PRO217, PHE159	-	-	Tidak memiliki kesamaan ikatan dengan kontrol, Energi ikatan cukup kuat (4-8)
7	5,8,11,14-Eicosatetraynoic acid	-5,6	Hidrofobik PRO338, PRO217, VAL216	-	-	Tidak memiliki kesamaan ikatan dengan kontrol, Energi ikatan cukup kuat (4-8)
8	<i>Oxacyclopent</i>	-5,5	Hidrogen ASN322, SER319 Hidrofobik TYR333, LEU329	-	-	Tidak memiliki kesamaan ikatan dengan kontrol, Energi ikatan cukup kuat (4-8)
9	9-Hexadecenoid acid	-5,5	Hidrofobik TYR333, ILE324, LEU329, MET204, PRO410 Lain ARG419	-	-	Tidak memiliki kesamaan ikatan dengan kontrol, Energi ikatan cukup kuat (4-8)
10	<i>Benzaldehyde dimethyl acetate</i>	-5,5	Hidrogen MET204, THR203 Hidrofobik LEU329	-	-	Tidak memiliki kesamaan ikatan dengan kontrol, Energi ikatan cukup kuat (4-8)
11	<i>Eicosanoic acid</i>	-5,5	Hidrofobik PHE157, LEU214, PRO338, LEU332, VAL216, PRO217 Lain-lain LEU201	-	-	Tidak memiliki kesamaan ikatan dengan kontrol, Energi ikatan cukup kuat (4-8)
12	<i>Tridecanoic acid</i>	-5,4	Hidrogen ARG200, ASP198, LEU201 Hidrofobik LEU214, PRO338, LEU332, VAL216, VAL339	-	-	Tidak memiliki kesamaan ikatan dengan kontrol, Energi ikatan cukup kuat (4-8)
13	<i>Pentadecanoic acid</i>	-5,4	Hidrogen ARG157, PRO199 Hidrofobik TYR107, PHE159, PRO338, VAL216, PRO158, VAL339 Lain-lain ASP198	-	-	Tidak memiliki kesamaan ikatan dengan kontrol, Energi ikatan cukup kuat (4-8)
14	<i>Heneicosanoic acid</i>	-5,4	Hidrogen ARG157, PRO199 Hidrofobik LEU332, LEU214, VAL216, PRO338	-	-	Tidak memiliki kesamaan ikatan dengan kontrol, Energi ikatan cukup kuat (4-8)

No	Ligan	Energi ikatan bebas (kcal/mol)	Residu As. Amino	Jumlah Res. As. Amino sama dengan kontrol	Kesamaan Residu As. Amino yang Terikat dengan Moenomycin(%)	Kesimpulan
15	<i>Tetracosanoic acid</i>	-5,3	Hidrogen ARG200, ARG157 Hidrofobik PRO338, PHE159, VAL216, PRO217, LEU214	-	-	Tidak memiliki kesamaan ikatan dengan kontrol, Energi ikatan cukup kuat (4-8)
16	<i>7,10,13-Eicosatetraynoic acid</i>	-5,2	Hidrofobik LEU214, PRO338, LEU332, PRO158, PHE159, VAL216 Lain-lain ASP160	-	-	Tidak memiliki kesamaan ikatan dengan kontrol, Energi ikatan cukup kuat (4-8)
17	<i>O- Xylene</i>	-5,1	Hidrofobik VAL99, LEU102, PHE215	-	-	Tidak memiliki kesamaan ikatan dengan kontrol, Energi ikatan cukup kuat (4-8)
18	<i>Eicosane</i>	-5,1	Hidrofobik VAL216, PRO338, PHE159, LEU332, LEU201	-	-	Tidak memiliki kesamaan ikatan dengan kontrol, Energi ikatan cukup kuat (4-8)
19	<i>1-Chloro-octadecane</i>	-4,9	Hidrofobik PRO338, LEU332, LEU201, VAL339, VAL216, PRO158	-	-	Tidak memiliki kesamaan ikatan dengan kontrol, Energi ikatan cukup kuat (4-8)
20	<i>6,9,12-Octadecatrenoic acid</i>	-4,9	Hidrogen SER280 Hidrofobik ALA357, TYR315, VAL314, VAL354 Lain-lain ARG286	-	-	Tidak memiliki kesamaan ikatan dengan kontrol, Energi ikatan cukup kuat (4-8)
21	<i>Dodecane</i>	-4,8	Hidrofobik PRO 410, MET204, LEU329, LEU332, LEU201	-	-	Tidak memiliki kesamaan ikatan dengan kontrol, Energi ikatan cukup kuat (4-8)
22	<i>Octadecenoic acid</i>	-4,7	Hidrogen SER716, THR753 Hidrofobik VAL445, LEU127, MET117, VAL111 , LEU113, ARG109, ASP443 , GLN750, THR751, GLU123, ILE119	7/23	30%	Ikatan terbentuk bersifat hidrogen dan hidrofobik, Energi ikatan cukup kuat (4-8)
23	<i>Hexadecenoic acid</i>	-4,6	Hidrofobik ARG109, VAL111 , GLN750, LEU127, VAL445, ASP443, TYR746, ALA446 , ILE119, THR717, GLU123	8/23	35%	Ikatan terbentuk bersifat hidrofobik, Energi ikatan cukup kuat (4-8)
24	<i>11,14-Eicosadienoic acid</i>	-4,6	Hidrogen ARG634 Hidrofobik PRO636, PRO599, LEU637, ILE619, LEU417	-	-	Tidak memiliki kesamaan ikatan dengan kontrol, Energi ikatan cukup kuat (4-8)
25	<i>Pentadecane</i>	-4,4	Hidrofobik ARG109, ILE119, GLU123 , GLN750, THR717 , THR751, ASP443, ALA446, VAL445, VAL111, LEU127	7/23	30%	Ikatan terbentuk bersifat hidrofobik, Energi ikatan cukup kuat (4-8)
26	<i>9-Octadecenoic acid</i>	-4,2	Hidrogen TYR83 Hidrofobik ALA288, TYR292	-	-	Tidak memiliki kesamaan ikatan dengan kontrol, Energi ikatan cukup kuat (4-8)

Keterangan: Data hasil dari penambatan 25 senyawa aktif *Gracillaria verrucosa* pada PBP1b dengan pembandingan *Moenomycin*.



Gambar 5. Hasil penambatan *Gracillaria verrucosa* terhadap protein PBP3

Tabel 2. Hasil *Molecular Docking* Senyawa *Gracillaria verrucosa* pada PBP3

No.	Ligan	Energi ikatan bebas (kcal/mol)	Residu As. Amino	Jumlah Res. As Amino sama dengan kontrol	Kesamaan Residu Asam Amino yang Terikat dengan <i>Monobactam AIC499</i> (%)	Kesimpulan
1	Monobactam AIC499	-7,5	Hidrogen GLY479, LYS358, THR497, ASP343, SER359, ASN361, SER307, LYS310 Hidrofobik GLY480, TYR541, VAL344, PHE417, TYR419, LYS342	-	-	Ikatan yang terbentuk bersifat hidrogen dan hidrofobik, Energi ikatan cukup kuat (4-8)
2	2,2-diphenyl-2-hydroxy acetic acid (<i>Resveratrol</i>)	-6,7	Hidrogen THR497, SER307, GLY542, GLY543, LYS358 Hidrofobik GLY496, THR495, TYR541, GLY480, GLY478, GLN357, VAL344, TYR347, SER359	6/14	43%	Ikatan terbentuk bersifat hidrogen dan hidrofobik, Energi ikatan cukup kuat (4-8)
3	5,8,11,14-Eicosatetraynoic acid	-5,8	Hidrogen SER165, SER186 Hidrofobik VAL67, PHE136, TYR138	-	-	Tidak memiliki kesamaan ikatan dengan kontrol, Energi ikatan cukup kuat (4-8)
4	Oxacyclopent	-5,7	Hidrogen ASN284, LEU286, THR182, TYR169 Lain-lain GLN142	-	-	Tidak memiliki kesamaan ikatan dengan kontrol, Energi ikatan cukup kuat (4-8)
5	Palatinol IC	-5,6	Hidrogen ARG166, GLN142, LEU286, ASN285 Hidrofobik TYR169, ARG167, VAL184	-	-	Tidak memiliki kesamaan ikatan dengan kontrol, Energi ikatan cukup kuat (4-8)
6	9-Octadecenoic acid	-5,5	Hidrogen ASN361, SER307 Hidrofobik VAL344, TYR541, TYR511, LYS499	4/14	29%	Ikatan terbentuk bersifat hidrogen dan hidrofobik, Energi ikatan cukup kuat (4-8)
7	11,14-Eicosadienoic acid	-5,3	Hidrogen THR497, SER307 Hidrofobik TYR541, VAL344	4/14	29%	Ikatan terbentuk bersifat hidrogen dan hidrofobik, Energi ikatan cukup kuat (4-8)
8	N-Phenethyl - acetamide	-5,3	Hidrogen THR414 Hidrofobik ILE410, TYR507, TYR419	1/14	7%	Ikatan terbentuk bersifat hidrofobik, Energi ikatan cukup kuat (4-8)
9	7,10,13-Eicosatetraynoic acid	-5,2	Hidrogen TYR419 Hidrofobik TYR541, TYR511, VAL344	2/14	14%	Ikatan terbentuk bersifat hidrofobik, Energi ikatan cukup kuat (4-8)
10	Tetracosanoic acid	-5,1	Hidrogen THR495, THR497, SER359 Hidrofobik PHE417, LYS499, TYR419, ASN361, TYR540, TYR541, GLY496, GLY543, VAL344, SER307	5/14	36%	Ikatan terbentuk bersifat hidrogen dan hidrofobik, Energi ikatan cukup kuat (4-8)
11	9-Hexadecenoic acid	-5	Hidrogen THR497, GLY543, THR495 Hidrofobik VAL344, TYR541 Lain-lain GLY542	3/14	21%	Ikatan terbentuk bersifat hidrogen dan hidrofobik, Energi ikatan cukup kuat (4-8)
12	Heneicosanoic acid	-5	Hidrogen THR495, SER359, SER307, THR497 Hidrofobik TYR541, TYR511, VAL344, LYS499	5/14	36%	Ikatan terbentuk bersifat hidrogen dan hidrofobik, Energi ikatan cukup kuat (4-8)
13	6,9,12-Octadecatrienoic acid	-5	Hidrogen SER307, THR497, THR495, SER359 Hidrofobik ALA544, TYR541, VAL344	5/14	36%	Ikatan terbentuk bersifat hidrogen dan hidrofobik, Energi ikatan cukup kuat (4-8)
14	Benzaldehyde dimethyl acetate	-4,9	Hidrogen THR497, THR495 Hidrofobik TYR541, VAL344	3/14	21%	Ikatan terbentuk bersifat hidrogen dan hidrofobik, Energi ikatan cukup kuat (4-8)
15	Eicosanoic acid	-4,8	Hidrogen THR497, THR495, SER359 Hidrofobik LYS499, TYR511, VAL344, TYR541	4/14	29%	Ikatan terbentuk bersifat hidrogen dan hidrofobik, Energi ikatan cukup kuat (4-8)
16	Pentadecanoic acid	-4,7	Hidrogen THR495, GLY543, GLY542, THR497 Hidrofobik TYR541, VAL344, TYR540,	3/14	21%	Ikatan terbentuk bersifat hidrogen dan hidrofobik, Energi

No.	Ligan	Energi ikatan bebas (kcal/mol)	Residu As. Amino	Jumlah Res. As Amino sama dengan kontrol	Kesamaan Residu Asam Amino yang Terikat dengan <i>Monobactam AIC499</i> (%)	Kesimpulan
			TYR511, LYS499			ikatan cukup kuat (4-8)
17	15-Tetracosenoic acid (nervonic acid)	-4,7	Hidrogen ASN361, SER307 Hidrofobik TYR541, VAL344, TYR540, TYR511, LYS499	4/14	29%	Ikatan terbentuk bersifat hidrogen dan hidrofobik, Energi ikatan cukup kuat (4-8)
18	Octadecenoic acid	-4,7	Hidrogen THR497, GLY542, GLY496, GLY543, THR495 Hidrofobik TYR541, TYR511, VAL344	3/14	21%	Ikatan terbentuk bersifat hidrogen dan hidrofobik, Energi ikatan cukup kuat (4-8)
19	Tridecanoic acid	-4,7	Hidrogen ASN361, SER307 Hidrofobik TYR541, VAL344	4/14	29%	Ikatan terbentuk bersifat hidrogen dan hidrofobik, Energi ikatan cukup kuat (4-8)
20	O- Xylene	-4,5	Hidrofobik PHE136, TYR138	-	-	Tidak memiliki kesamaan ikatan dengan kontrol, Energi ikatan cukup kuat (4-8)
21	Tetradecanoic acid	-4,4	Hidrogen GLY496, THR497 Hidrofobik TYR541, VAL344 Lain-lain GLY542	3/14	21%	Ikatan terbentuk bersifat hidrogen dan hidrofobik, Energi ikatan cukup kuat (4-8)
22	Hexadecenoic acid	-4,4	Hidrofobik PHE254, ALA251, ALA552, VAL549, PRO548	-	-	Tidak memiliki kesamaan ikatan dengan kontrol, Energi ikatan cukup kuat (4-8)
23	Pentadecane	-4,3	Hidrofobik VAL344, TYR541	2/14	14%	Ikatan terbentuk bersifat hidrofobik, Energi ikatan cukup kuat (4-8)
24	1-Chloro-octadecane	-4	Hidrofobik TYR511, VAL344, TYR541	2/14	14%	Ikatan terbentuk bersifat hidrofobik, Energi ikatan cukup kuat (4-8)
25	Eicosane	-3,9	Hidrofobik PHE254, PRO548, ALA251, VAL549	-	-	Tidak memiliki kesamaan ikatan dengan kontrol, Energi ikatan lemah (4-8)
26	Dodecane	-3,8	Hidrofobik VAL549, ALA251, PHE254, PRO548, VAL545	-	-	Tidak memiliki kesamaan ikatan dengan kontrol, Energi ikatan lemah (4-8)

Keterangan: Data hasil dari penambatan 25 senyawa aktif *Gracillaria verrucosa* pada PBP3 dengan pembanding *Monobactam AIC499*. Bagian yang tebal merupakan hasil yang paling baik.

Hasil Analisa Fisikokimia dan ADMET senyawa aktif *Gracillaria verrucosa* menggunakan pkCSM

Pengujian sifat fisikokimia senyawa aktif *G. verrucosa* dilakukan pada web pkCSM, kemudian dideskripsikan hasil dengan indikator pada **tabel 3** yaitu berat molekul (<500da), *Hydrogen Bond Donor* (HBD) tidak lebih dari 5, *Hydrogen Bond Acceptor* (HBA) tidak lebih dari 10, koefisien oktanol (LogP <5), dan luas permukaan area dibawah <140 PSA.¹⁵ Aturan *Lipinski* pada senyawa *G. verrucosa* harus dipenuhi agar suatu senyawa dapat menjadi kandidat obat. Data pada **tabel 4** mengindikasikan bahwa senyawa-senyawa tersebut memiliki sifat fisikokimia yang sesuai dengan minimal tiga indikator atau lebih yang ditentukan oleh aturan *Lipinski* tersebut. Oleh

karena itu, semua senyawa dari *Gracillaria verrucosa* dianggap memiliki potensi sebagai calon obat berdasarkan persyaratan *Lipinski rule of five*.¹⁶ Pada **tabel 5** menunjukkan senyawa dari *Gracillaria verrucosa* memiliki absorpsi intestinal yang melebihi 30%. Selain itu, nilai minimum yang baik untuk absorpsi permeabilitas kulit adalah ketika LogKp kurang dari -2,5. Dalam hal ini, terdapat lima senyawa yang memenuhi kriteria ini, artinya memiliki nilai LogKp yang kurang dari -2,5.¹³ Hal ini memperlihatkan bahwa senyawa tersebut mempunyai potensi yang bagus dalam penyerapan melalui kulit. Dengan demikian, seluruh senyawa aktif *Gracillaria verrucosa* memenuhi persyaratan absorpsi intestinal dan sebagian dari mereka juga memiliki potensi

dalam penyerapan melalui kulit.

Jika nilai LogVD kurang dari -0,15, maka senyawa tersebut dianggap memiliki volume distribusi yang buruk. Namun, jika nilai LogVD lebih besar dari 0,45, maka senyawa tersebut dianggap memiliki volume distribusi yang bagus.¹³ Pada **tabel 4** menunjukkan terdapat tiga senyawa aktif yang memenuhi nilai LogVD, yaitu *Pentadecane*, *Eicosane*, dan *1-Chloro-octadecane*. Senyawa aktif dapat dikatakan menembus sawar darah otak jika memiliki nilai LogBB >0,3 dan tidak dapat terdistribusi apabila LogBB <-1. Terdapat tujuh senyawa aktif *Gracillaria verrucosa* yang dapat menembus sawar darah otak. Senyawa aktif tersebut adalah *Dodecane*, *O-xylene*, *Benzaldehyde dimethyl acetate*, *Pentadecane*, *Eicosane*, *1-Chloro-*

octadecane, dan *11,14-Eicosadienoic acid*. Terdapat satu senyawa yang mempunyai nilai *unbound* lebih besar dari obat kontrol yaitu *Oxacyclopent*. Jika nilai *unbound* senyawa aktif semakin besar, maka akan semakin mengikat pada protein plasma.

Senyawa *Gracillaria verrucosa* 6,9,12 *Octadecatrienoic acid* memiliki potensi untuk mengganggu metabolisme obat. Hal ini disebabkan oleh sifatnya sebagai inhibitor CYP3A4. CYP3A4 adalah enzim yang bertanggung jawab dalam metabolisme obat di dalam tubuh.¹³ Terdapat dua puluh satu senyawa memiliki nilai *total clearance* lebih tinggi daripada obat kontrol. Sebanyak dua puluh satu senyawa tidak memiliki efek toksin terhadap hepar, dan obat kontrol *Monobactam AIC499* memiliki efek hepatotoksik.

Tabel 3. Data Prediksi Sifat Fisikokimia dan aturan Lipinski dari Senyawa Aktif *Gracillaria verrucosa*, *Moenomycin*, dan *Monobactam AIC499*

Senyawa Aktif	BM(Da)	HBD	HBA	LogP	PSA(Å)	Kesimpulan
<i>Moenomycin</i> (Kontrol)	1580,58	18	32	-2,25	627.504	Tidak memiliki potensi obat
<i>Monobactam AIC499</i> (Kontrol)	670,72	7	15	-0,77	261.667	Tidak memiliki potensi obat
<i>Dodecane</i>	170,34	0	0	4,92	78.754	Potensi obat
<i>Tetradecanoic acid</i>	228,37	1	1	4,77	100.439	Potensi obat
<i>9-Hexadecenoid acid</i>	254,41	1	1	5,32	112.480	Potensi obat
<i>O- Xylene</i>	106,00	0	0	2,30	50.161	Potensi obat
<i>Benzaldehyde dimethyl acetate</i>	152,19	0	2	1,97	152.193	Potensi obat
<i>Hexadecenoid acid</i>	256,43	1	1	5,55	113.169	Potensi obat
<i>Pentadecane</i>	212,00	0	0	6,09	97.848	Potensi obat
<i>Octadecenoic acid</i>	282,46	1	1	6,10	125.209	Potensi obat
<i>Tridecanoic acid</i>	214,34	1	1	4,38	94.074	Potensi obat
<i>5,8,11,14-Eicosatetraynoic acid</i>	296,41	1	1	4	134.626	Potensi obat
<i>Eicosane</i>	282,55	0	0	8,04	129.673	Potensi obat
<i>7,10,13-Eicosatetraynoic acid</i>	306,49	1	1	6,44	136.560	Potensi obat
<i>Pentadecanoic acid</i>	242,40	1	1	5,16	106.804	Potensi obat
<i>1-Chloro-octadecane</i>	288,94	0	0	7,48	127.247	Potensi obat
<i>9-Octadecenoic acid</i>	282,46	1	1	6,10	125.209	Potensi obat
<i>Oxacyclopent</i>	156,13	2	4	-0,66	63.407	Potensi obat
<i>6,9,12-Octadecatrienoic acid</i>	278,43	1	1	5,66	123.830	Potensi obat
<i>Eicosanoic acid</i>	312,53	1	1	7,11	138.629	Potensi obat
<i>Heneicosanoic acid</i>	326,56	1	1	7,50	144.994	Potensi obat
<i>11,14-Eicosadienoic acid</i>	308,50	0	2	6,36	137.569	Potensi obat
<i>Tetracosanoic acid</i>	368,64	1	1	8,67	164.089	Potensi obat
<i>15-Tetracosenoic acid (nervonic acid)</i>	366,63	1	1	8,44	163.399	Potensi obat
<i>2,2-diphenyl-2-hydroxy acetic acid (Resveratrol)</i>	228,24	3	3	2,97	98.911	Potensi obat
<i>Palatinol IC</i>	278,34	0	4	3,31	119.631	Potensi obat
<i>N-Phenethyl - acetamide</i>	163,22	1	1	2,28	72.603	Potensi obat

Keterangan: Molecular Mass (BM), Logarithm of Octanol (Log P), Hydrogen Bond Acceptors (HBA), Hydrogen Bond Donors (HBD), Polar Surface Activity (PSA)

Tabel 4. Prediksi profil Farmakokinetik dari senyawa aktif *G. verrucosa* melalui website pkCSM. Prediksi profil Farmakokinetik meliputi data Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Ekskresi (ADME) dan Toksisitas.

Senyawa Aktif	Absorpsi		Distribusi			Metabolisme			Eksresi		Kesimpulan
	Absorp. intestinal (%)	Permeabilitas kulit (Log kp)	Volume Distribusi (logL/kg)	Permeabilitas BBB (log BB)	Unbond (FU)	CYP2D6	CYP3A4	Renal OC T2	Total Clearance (log ml/min/kg)	Hepatotoksik	
<i>Moenomycin (Kontrol)</i>	0	-2.735	-0,078	-4,255	0.378	-	-	-	0,533	-	Baik sebagai obat
<i>Monobactam AIC499 (Kontrol)</i>	0	-2,735	-0,734	-2,239	0.538	-	-	-	0,435	√	Baik sebagai obat (Efek Hepatotoksik)
<i>Dodecane</i>	91,42	-1.329	-0,582	0,863	0.197	-	-	-	1,696	-	Baik sebagai obat
<i>Tetradecanoic acid</i>	92,69	-2.705	-0,578	-0,027	0.171	-	-	-	1,693	-	Baik sebagai obat
<i>9-Hexadecenoic acid</i>	92,51	-2.715	-0,543	-0,084	0.104	-	-	-	1,817	-	Baik sebagai obat
<i>O- Xylene</i>	95,703	-1.246	-0,558	0,409	0.362	-	-	-	0,269	-	Baik sebagai obat
<i>Benzaldehyde dimethyl acetate</i>	96,016	-1.876	0,078	0,319	0.368	-	-	-	0,484	-	Baik sebagai obat
<i>Hexadecenoic acid</i>	92,004	-2.717	-0,543	-0,111	0.101	-	-	-	1,763	-	Baik sebagai obat
<i>Pentadecane</i>	90,38	-2.017	0,664	0,92	0.074	-	-	-	1,811	-	Baik sebagai obat
<i>Octadecenoic acid</i>	91,823	-2.725	-0,558	-0,168	0.052	-	-	-	1,927	-	Baik sebagai obat
<i>Tridecanoic acid</i>	93,034	-2.697	-0,601	0,014	0.213	-	-	-	1,684	-	Baik sebagai obat
<i>5,8,11,14-Eicosatetraynoic acid</i>	97,879	-2.722	-0,842	0,036	0.052	-	-	-	1,776	-	Baik sebagai obat
<i>Eicosane</i>	89,672	-2.773	0,615	1,013	0	-	-	-	1,997	-	Baik sebagai obat
<i>7,10,13-Eicosatetraynoic acid</i>	92,148	-2.729	-0,616	-0,199	0.02	-	-	-	2,053	-	Baik sebagai obat
<i>Pentadecanoic acid</i>	92,348	-2.711	-0,558	-0,069	0.134	-	-	-	1,726	-	Baik sebagai obat
<i>1-Chloro-octadecane</i>	89,734	-2.725	0,596	0,997	0	-	-	-	0,872	-	Baik sebagai obat
<i>9-Octadecenoic acid</i>	91,823	-2.725	-0,558	0,168	0.052	-	-	-	1,883	-	Baik sebagai obat
<i>Oxacyclopent</i>	76,181	-4.449	-0,226	-0,373	0.768	-	-	-	0,75	-	Baik sebagai obat
<i>6,9,12-Octadecatrienoic acid</i>	92,834	-2.721	-0,612	-0,113	0.054	-	√	-	1,988	√	Baik sebagai obat (Efek Hepatotoksik, dan potensi menghambat metabolisme)
<i>Eicosanoic acid</i>	90,63	-2.731	-0,532	-0,279	0.021	-	-	-	1,9	√	Baik sebagai obat (Efek Hepatotoksik)
<i>Heneicosanoic acid</i>	90,286	-2.733	-0,541	-0,321	0.013	-	-	-	1,933	√	Baik sebagai obat (Efek Hepatotoksik)
<i>11,14-Eicosadienoic acid</i>	92,241	-2.774	0,306	0,776	0.015	-	-	-	2,08	-	Baik sebagai obat
<i>Tetracosanoic acid</i>	89,254	-2.734	-0,58	-0,447	0.014	-	-	-	2,033	√	Baik sebagai obat (Efek Hepatotoksik)
<i>15-Tetracosenoic acid</i>	89,762	-2.732	-0,613	-0,422	0.013	-	-	-	2,084	√	Baik sebagai obat (Efek Hepatotoksik)
<i>2,2-diphenyl-2-hydroxy acetic acid (Resveratrol)</i>	90,935	-2.737	0,296	-0,048	0.166	-	-	-	0,076	-	Baik sebagai obat
<i>Palatinol IC</i>	95,89	-2.645	-0,117	-0,046	0.103	-	-	-	0,8	-	Baik sebagai obat
<i>N-Phenethyl - acetamide</i>	93,448	-2.269	0,085	0,166	0.237	-	-	-	0,27	-	Baik sebagai obat

Keterangan: Data hasil prediksi ADMET Senyawa Aktif *G. verrucosa*, *Moenomycin*, dan *Monobactam AIC499*.

PEMBAHASAN

Afinitas Senyawa Aktif *Gracillaria verrucosa* terhadap PBP1b

Dalam penelitian senyawa aktif *G. verrucosa*, dari 25 senyawa aktif, terdapat satu senyawa memiliki kesamaan energi ikatan bebas dengan obat kontrol. Senyawa itu adalah 2,2-diphenyl-2-hydroxy acetic acid dengan nilai energi ikatan bebas ΔG sebesar -7,9 kcal/mol, sama dengan kontrol Moenomycin pada protein reseptor PBP1b.

Suatu nilai ikatan mencerminkan jumlah energi yang tersedia untuk melakukan kerja, dan penurunan energi ikatan bebas menunjukkan adanya peningkatan spontanitas interaksi. Afinitas ikatan jika tinggi akan tinggi antara reseptor dan senyawa. Sehingga semakin tinggi pula potensi senyawa tersebut sebagai obat.¹⁷ Ikatan hidrogen terjadi ketika atom hidrogen yang bermuatan sebagian positif terikat dengan atom lain dan memiliki elektron bebas, seperti nitrogen, fluor, juga oksigen. Kovalen memiliki kekuatan ikatan sebanyak 5 kkal/mol dimana ikatan kovalen memiliki kekuatan yang lebih besar daripada ikatan hidrogen.¹⁸ Interaksi ini dapat menentukan kestabilan dari ligan pada reseptor dan mengurangi kemungkinan interaksi antara air dengan residu non-polar.¹⁸

Protein reseptor PBP1b dengan obat kontrol Moenomycin menunjukkan kesamaan residu asam amino sebanyak tiga senyawa. Senyawa aktif yang memiliki kesamaan yang paling mendekati dengan kontrol adalah Octadecenoic acid dengan persentase 22%. Residu asam amino pada senyawa tersebut yang memiliki kesamaan pada ikatan hidrogen SER716, THR753 dan ikatan hidrofobik VAL445, LEU127, dan VAL111. Senyawa Hexadecenoic acid memiliki kesamaan ikatan hidrogen ARG109 dan ikatan hidrofobik LEU127, VAL445, ALA446 dengan persentase 17% dan senyawa Pentadecane memiliki residu asam amino ikatan hidrofobik ALA446, VAL445, VAL111, LEU127. 2,2-diphenyl-2-hydroxy acetic acid memiliki energi ikatan bebas yang setara dengan Moenomycin.

Suatu ligan dan protein jika berinteraksi akan menghasilkan pembentukan sisa asam amino. Ikatan hidrogen merupakan interaksi antar molekul yang terjadi antara ion dan dikarenakan adanya muatan yang berbeda pada elektromagnetik. Suatu interaksi yang tinggi akan menghasilkan efek yang meningkat antara ligan pada protein. Oleh karena itu, semakin interaksi ikatan senyawa aktif *G. verrucosa* dengan protein reseptor PBP1b meningkat dan fraksi asam amino sama, dikatakan senyawa tersebut memiliki potensi menjadi obat antibakteri.¹⁷

Afinitas Senyawa Aktif *Gracillaria verrucosa* terhadap PBP3

Hasil pengujian docking dari 25 senyawa aktif *G. verrucosa* dengan PBP3 dibandingkan dengan obat kontrol Monobactam AIC499 menunjukkan hasil dengan tidak adanya nilai energi ikatan bebas senyawa aktif *G. verrucosa* yang lebih baik daripada

obat kontrol ΔG -7,5 kcal/mol. Senyawa 2,2-diphenyl-2-hydroxy acetic acid mempunyai energi gibbs ΔG -6,7 kcal/mol mendekati dengan kontrol.

Pada protein reseptor PBP3 dengan obat kontrol Monobactam AIC499 menunjukkan komposisi asam amino yang mirip sebanyak delapan belas senyawa. Senyawa yang memiliki kesamaan yang mendekati dengan kontrol adalah 2,2-diphenyl-2-hydroxy acetic acid dengan persentase 43%. Kesamaan senyawa tersebut dengan obat kontrol pada ikatan hidrogen THR497, SER307, LYS358 dan ikatan hidrofobik TYR541, GLY480, VAL344. Berdasarkan hasil energi ikatan bebas dan fraksi asam amino protein reseptor PBP3 dengan kontrol Monobactam AIC499, terdapat senyawa yang mempunyai energi ikatan mendekati dengan kontrol yaitu 2,2-diphenyl-2-hydroxy acetic acid. Jika senyawa aktif mampu berinteraksi dengan ikatan hidrogen dan terikat pada fraksi asam amino pada site yang aktif sama, dapat disimpulkan senyawa tersebut mempunyai potensi untuk membentuk ikatan kuat dengan reseptor.¹⁹

Nilai energi ikatan bebas menunjukkan kebutuhan energi suatu ligan untuk berikatan dengan suatu protein, dan komposisi yang sama fraksi asam amino senyawa dan obat pembanding menunjukkan adanya kesamaan dalam mekanisme kerja suatu senyawa.¹⁹

Prediksi Profil Farmakokinetik dan Fisikokimia Aktif *Gracillaria verrucosa* dengan pkCSM

Prediksi profil fisikokimia senyawa *G. verrucosa* dengan Lipinski rule of five ditunjukkan pada tabel 4. Syarat dari senyawa agar memenuhi Lipinski rule of five yaitu berat molekul kurang dari 500 dalton, Hydrogen Bond Donor (Pemberi) tidak melebihi 5, Hydrogen Bond Acceptor (Penerima) tidak melebihi 10, luas permukaan tidak melebihi 140 Å, dan koefisien oktanol atau LogP tidak lebih dari 5.¹⁵ Berat molekul senyawa harus kurang dari 500 dalton, agar ligan dapat menembus membran sel. Koefisien oktanol menunjukkan kecenderungan suatu senyawa dapat menjadi toksik karena dapat tertahan pada lipid bilayer. Nilai hidrogen pemberi dan penerima menyimpulkan jika semakin kuat ikatan ligan dengan reseptor protein, tingginya jumlah ikatan dan energi yang dibutuhkan semakin besar.¹⁸ Suatu senyawa dapat dikatakan berpotensi menjadi obat sesuai Lipinski rule of five jika memenuhi minimal tiga syarat tersebut. Hasil analisa tabel 4 menunjukkan bahwa dari 25 senyawa *G. verrucosa* memiliki potensi menjadi obat.¹⁶

Prediksi profil farmakokinetik dan toksisitas ditentukan dengan website pkCSM. Senyawa dinilai kemampuan absorpsi pada pencernaan dan kulit. Senyawa yang memiliki kemampuan absorpsi pada pencernaan lebih dari 30% dikatakan memiliki kemampuan absorpsi yang baik. Jika senyawa aktif memiliki nilai LogKp kurang dari -2,5 maka absorpsi pada permeabilitas kulit baik.¹³ Absorpsi pada senyawa dapat menjadi parameter aktivitas

farmakologis dari senyawa tersebut. Jika terjadi kegagalan pada proses absorpsi maka akan menjadi kegagalan pada pengobatan.¹⁸ Sebanyak 5 senyawa aktif *Gracillaria verrucosa* yaitu *Dodecane*, *O-xylene*, *Benzaldehyde dimethyl acetate*, *Pentadecane*, dan *N-Phenethyl-acetamide*. Dari kelima senyawa, *O-xylene* memiliki nilai yang paling rendah sehingga lebih cepat terserap pada kulit. Hal tersebut menunjukkan seluruh senyawa aktif *Gracillaria verrucosa* memiliki kemampuan absorpsi pada pencernaan yang baik dan sebagian senyawa aktif dapat di absorpsi melalui kulit.

Penilaian volume distribusi dilakukan untuk menilai total pendistribusian dosis obat dan menilai konsentrasi dalam plasma darah. Nilai LogVD terbagi menjadi 2 yaitu nilai LogVD yang kurang dari -0,15 dan nilai LogVD lebih besar dari 0,45. Jika suatu senyawa memiliki nilai LogVD memiliki nilai yang tinggi maka penyebaran obat akan lebih banyak ke jaringan daripada penyebaran ke plasma yang membuat dampak negatif menjadi dehidrasi dan kemungkinan gagal ginjal.¹⁸ *Pentadecane*, *Eicosane*, dan *1-Chloro-octadecane* memiliki nilai LogVD yang baik. Prediksi distribusi selain itu adalah penilaian permeabilitas obat dapat masuk ke dalam sawar darah otak. Prediksi tersebut dapat menunjukkan ada atau tidaknya efek samping dari obat. Senyawa aktif dapat menembus BBB jika memiliki nilai LogBBB >0,3.¹³ Prediksi nilai LogBBB menilai kemampuan obat apakah dapat menembus ke dalam sawar darah otak.¹⁸ Terdapat tujuh senyawa aktif *Gracillaria verrucosa* yang dapat menembus BBB, yaitu *Dodecane*, *O-xylene*, *Benzaldehyde dimethyl acetate*, *Pentadecane*, *Eicosane*, *1-Chloro-octadecane*, dan *11,14-Eicosadienoic acid*. Senyawa yang memiliki kemampuan untuk menembus BBB dapat menyebabkan efek samping pada sistem saraf pusat.¹⁸ Prediksi *unbound* pada **tabel 5** menunjukkan senyawa aktif *Gracillaria verrucosa* hanya satu yang memiliki nilai *unbound* lebih dari kontrol yaitu *Oxacyclonit*.¹³

Enzim sitokrom CYP2D6 dan CYP3A4 memiliki peran penting dalam metabolisme obat yang masuk ke dalam tubuh. Kedua sitokrom ini bertanggung jawab untuk memecah obat-obatan menjadi bentuk yang dapat dieliminasi oleh tubuh.¹³ Namun, jika sitokrom CYP2D6 dan CYP3A4 dihambat, proses metabolisme obat dalam tubuh dapat terganggu. Senyawa aktif *Gracillaria verrucosa* yang berpotensi menghambat metabolisme adalah *6,9,12 Octadecatrienoic acid*. Senyawa aktif tersebut memiliki sifat sebagai inhibitor CYP3A4. Kedua sitokrom tersebut tidak memiliki penghambatan metabolisme pada senyawa yang memiliki potensi antibakteri. Dua puluh satu senyawa aktif *Gracillaria verrucosa*, beberapa memiliki *total clearance* lebih tinggi daripada obat kontrol. Hanya *Monobactam AIC499* obat kontrol yang memiliki efek hepatotoksik dan sebanyak dua puluh satu senyawa aktif tidak hepatotoksik.

KESIMPULAN

Hasil dari penelitian *in silico* yang dilakukan, disimpulkan bahwa :

1. Senyawa aktif *G.verrucosa* tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap PBP1b
2. Senyawa aktif *G.verrucosa* memiliki aktivitas antibakteri yang lemah terhadap PBP3
3. Berdasarkan prediksi fisikokimia dan farmakokinetik senyawa *G.verrucosa* memiliki potensi untuk menjadi obat.

SARAN

Saran yang dapat diusulkan guna mendukung penelitian ini perlu dilakukan penelitian lanjut dengan:

1. Dilakukan penelitian lebih lanjut terkait HKSA (Hubungan Kuantitatif Struktur Aktivitas) pada turunan senyawa aktif yang diduga memiliki aktivitas penghambatan pada protein reseptor.
2. Melakukan penelitian *in silico* senyawa aktif yang diduga memiliki aktivitas antibakteri pada protein bakteri yang berbeda.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada dekanat Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang dan juga kepada dr. Rahma Triliana, M.Kes., Ph.D. sebagai penguji.

DAFTAR PUSTAKA

1. Martha D, Tejasari M. (2014). Escherichia coli Resisten terhadap Seftriskson dan Siprofloksasin (Sebuah Studi di Rumah Sakit Al Islam pada Tahun 2014). **Prosiding Pendidikan Kedokteran**. pp: 584–92.
2. World Health Organization. (2022). Global antimicrobial resistance and use surveillance system (GLASS) report. Geneva; 2022.
3. Biutifasari V. (2018). Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESBL). **Ocean Biomed J**. 1(1) p:1–11.
4. Rawat D, Nair D. (2010). Extended-spectrum β -lactamases in gram negative bacteria. **J. Global Infection Disease**. 2(3) p:263.
5. Picozzi SCM, Casellato S, Rossini M, Paola G, Tejada M, Costa E, *et al.* (2014) Extended-spectrum beta-lactamase-positive Escherichia coli causing complicated upper urinary tract infection: Urologist should act in time. **Urology Annals**. 6(2) pp:107–12.
6. Shaikh S, Fatima J, Shakil S, Rizvi SMD, Kamal MA. Antibiotic resistance and extended spectrum beta-lactamases: Types, epidemiology and treatment. **Saudi Journal of Biological Sciences**. 22(1) pp:90–101. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sjbs.2014.08.002>
7. Nirwana SD, Fadli MZ, Bintari YR. (2018) Pengaruh Variasi Pelarut Terhadap Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak *Gracillaria Verrucosa* (Hudson) Papenfus Pada Bakteri

8. S.aureus dan E.Coli. pp:166–73.
9. Panjaitan RS, Simanjuntak YV, Sumantri S. (2020) Ekstrak Lemak Gracilaria verrucosa sebagai Antibakteri Shigella dysenteriae dan Escherichia coli. **Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikan.** 15(1) p:13.
10. Garde S, Chodiseti PK, Reddy M. (2021) Peptidoglycan: Structure, Synthesis, and Regulation. **EcoSal Plus.** 9(2).
11. King DT, Wasney GA, Nosella M, Fong A, Strynadka NCJ, Peter Guengerich F. (2017) Structural insights into inhibition of Escherichia coli penicillin-binding protein 1B. **Journal of Biological Chemistry.** 292(3). pp:979–93.
12. Rahayu WP, Nurjanah S, Komalasari E. (2018) Escherichia coli: Patogenitas, Analisis, dan Kajian Risiko. **IPB Press** p:151.
13. Hartono H, Fadli Z, Bintari YR. (2022) Uji *in silico*: Aktivitas Antibakteri Senyawa Aktif Gracilaria verrucosa Terhadap Staphylococcus aureus. **Jurnal Kedokteran Komunitas.** P:12
14. Pires DEV, Blundell TL, Ascher DB. (2015). pkCSM: Predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures. **Journal of Medical Chemistry.** 58(9) pp:4066–72.
15. Muttaqin FZ. (2019) Studi Molecular Docking, Molecular Dynamic, Dan Prediksi Toksisitas Senyawa Turunan Alkaloid Naftiridin Sebagai Inhibitor Protein Kasein Kinase 2-A Pada Kanker Leukemia. **Pharmacoscrypt.** 2(1) pp:49–64.
16. Benet LZ, Hosey CM, Ursu O, Oprea TI. (2016). BDDCS, the Rule of 5 and drugability. **Advance Drug Delivery Review.** 101:89–98. <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2016.05.007>
17. Drugbank. Lipinski's rule of five (internet). 2023. (diakses tanggal 10 Juni 2023). <https://dev.drugbank.com/guides/terms/lipinski-s-rule-of-five>
18. Liu J, Fang L, Liu C. (2020). Investigating the influences of intermolecular interactions on viscoelastic performance of pressure-sensitive adhesive by FT–IR spectroscopy and molecular modeling. **Drug Development and Industrial Pharmacy.** 46(6) pp:1005–14. <http://dx.doi.org/10.1080/03639045.2020.1764026>
19. Bintari YR, Damayanti DS. (2022). Skrining Potensi Essential Oil Pogostemon Cablin Bent Secara In Silico dalam Penghambatannya terhadap ACE II dan TMPRSS2 sebagai Anti Covid-19. **Jurnal Kesehatan Islam.** 11.
20. Arrasyid MAA, Damayanti DS, Lestari RD. (2020). Studi In Silico Senyawa Aktif Ekstrak Rimpang Jahe Emprit (Zingiber officinale Rosc .) terhadap Penghambatan Asetilkolinesterase , β -Tubulin dan Aktivasi Kanal Kalsium sebagai Antelmintik In Silico Study on Compound Activities of Emprit Ginger Rhizomes. **Jurnal Kedokteran Komunitas.** 8.