

STUDI *IN SILICO* AKTIVITAS ANTIBAKTERI SENYAWA AKTIF *Gracilaria verrucosa* Dalam MENGHAMBAT *Peptide Deformylase* Pada BAKTERI *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Sofia Nissa Auliya, Yoni Rina Bintari,* Rio Risandiansyah
Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan : Meningkatnya resistensi antibiotik pada bakteri *E. coli* dan *S. aureus* menyebabkan perlunya ditemukan antibiotik dengan protein target baru. *Peptide Deformylase* (PDF) ialah kandidat protein target baru karena berperan penting dalam deformasi *N*-formylmethionine pada polipeptida yang baru disintesis oleh bakteri. *Gracilaria verrucosa* merupakan alga merah yang diketahui memiliki aktivitas antibakteri. Namun, kemampuannya dalam menghambat PDF belum diketahui. Penelitian ini melakukan eksplorasi potensi senyawa aktif *Gracilaria verrucosa* terhadap PDF dengan pendekatan *In silico*.

Metode : Penelitian ini dilakukan dengan menambatkan struktur 3D dari 25 senyawa *Gracilaria verrucosa* terhadap protein PDF *E. coli* (1G2A) dan PDF *S. aureus* (1Q1Y) dengan kontrol *Actinonin*. Penambatan dilakukan dengan memakai software PyRx dan hasil visualisasi penambatan menggunakan software BIOVIA Discovery Studio. Serta, prediksi profil fisikokimia dan farmakokinetik dengan parameter ADME dan toksisitas melalui website pkCSM.

Hasil : *Palatinol IC* memiliki penghambatan terhadap PDF *E. coli* dan *S. aureus* yang paling berpotensi. Namun, senyawa tersebut memiliki energi ikatan bebas (ΔG) masih lebih lemah dibanding dengan kontrol yakni *Actinonin*. Penghambatan *Palatinol IC* terhadap PDF *E. coli* sebesar -6.5 (kcal/mol) dan *S. aureus* sebesar -6.1 (kcal/mol). *Palatinol IC* memiliki kesamaan residu asam amino yang terikat pada PDF dengan *actinonin* terhadap *E. coli* sebesar 50% dan *S. aureus* 40%. Prediksi profil fisikokimia senyawa *Palatinol IC* memenuhi kaidah *Lipinski Rule of Five*. Prediksi profil farmakokinetik dari *Palatinol IC* diketahui berpotensi sebagai antibiotik oral.

Kesimpulan : Dari 25 senyawa aktif *Gracilaria verrucosa* paling berpotensi untuk menghambat PDF *E. coli* dan *S. aureus* adalah senyawa *Palatinol IC*.

KataKunci : Antibakteri, *Gracilaria verrucosa*, *Actinonin*, *Peptide Deformylase*, *In Silico*

*korespondensi:

Yoni Rina Bintari

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

Jl. MT Haryono 193 Malang, Jawa Timur Indonesia, 65145

Email: yonirinabintari@unisma.ac.id

STUDY *IN SILICO* ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ACTIVE COMPOUNDS *Gracilaria verrucosa* in INHIBITING *Peptide Deformylase* in *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*

ABSTRACT

Introduction : The increasing antibiotic resistance of *E. coli* and *S. aureus* bacteria has led to the need to look for antibiotics with new receptor protein targets. *Peptide Deformylase* (PDF) can be used as a new receptor protein candidate because it plays an important role in the deformation of *N*-formylmethionine in newly synthesized polypeptides by bacteria. *Gracilaria verrucosa* is a red alga known to have antibacterial activity. Thus, it is necessary to explore the potential of *Gracilaria verrucosa* active compounds on PDF with an *In Silico* approach.

Method : This research was conducted by tethering the 3D structures of 25 *Gracilaria verrucosa* compounds to PDF *E. Coli* (1G2A) and PDF *S. aureus* (1Q1Y) proteins with *Actinonin* control. The tethering was performed using PyRx software and the visualization of the tethering results using BIOVIA Discovery Studio software. Also, prediction of physicochemical and pharmacokinetic profiles with ADME and toxicity parameters through the pkCSM website.

Result : *Palatinol IC* had the most potent inhibition against PDF *E. coli* and *S. aureus*. However, the compound had a free binding energy (ΔG) that was still lower than the control, *Actinonin*. The inhibition of *Palatinol IC* against PDF *E. coli* was -6.5 (kcal/mol) and *S. aureus* was -6.1 (kcal/mol). *Palatinol IC* has similarity of amino acid residues bound to PDF with *actinonin* against *E. coli* by 50% and *S. aureus* by 40%. The predicted physicochemical profile of *Palatinol IC* complied with the Lipinski Rule of Five. The predicted pharmacokinetic profile of *Palatinol IC* is known to have potential as an oral antibiotic.

Conclusion : Of the 25 active compounds of *Gracilaria verrucosa*, the most potential to inhibit PDF *E. Coli* and *S. aureus* is the compound *Palatinol IC*.

Keyword : Antibacterial, *Gracilaria verrucosa*, *Actinonin*, *Peptide Deformylase*, *In Silico*

*correspondence:

Yoni Rina Bintari

Faculty of Medicine, Islamic University of Malang

Jl. MT Haryono 193 Malang, East Java Indonesia, 65145

Email: yonirinabintari@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Permasalahan resistensi bakteri terhadap antibiotik menjadi masalah kesehatan global di dunia.¹ Menurut WHO, resistensi bakteri terjadi ketika bakteri tidak lagi peka terhadap dosis antibiotik yang sebelumnya efektif dalam mengobati infeksi yang disebabkan oleh bakteri tersebut. Akibat pesatnya perkembangan dan penyebaran infeksi yang disebabkan oleh bakteri resisten, WHO memperkirakan pada tahun 2050 akan terjadi 10 juta kematian akibat bakteri resisten.² Resistensi bakteri terhadap antibiotik mengakibatkan berkurangnya efektivitas terapi yang berdampak meningkatkan morbiditas dan mortalitas.³ Perlu dilakukan upaya pencarian senyawa antibiotik baru untuk mencegah dan mengatasi resistensi bakteri.

Peptide Deformylase ialah suatu target menarik dalam pengembangan antibiotik baru. Peran PDf dalam sintesis protein bakteri memberikan dasar untuk mempertimbangkan selektivitasnya sebagai target yang menarik dalam pengembangan obat. PDf adalah metaloenzim esensial pada bakteri yang berperan dalam deformasi *N*-formylmethionine pada polipeptida yang baru disintesis dan dianggap sebagai target potensial untuk terapi antibakteri.⁴

Makroalga diketahui berisi senyawa aktif yang bisa dipergunakan menjadi dasar untuk memaksimalkan pemanfaatannya dalam bidang kesehatan sebagai antibakteri yang mampu melawan dan membunuh mikroorganisme berbahaya bagi kesehatan.⁵ Penelitian *in-vitro* sebelumnya menyatakan *Gracilaria verrucosa* diketahui mengandung senyawa metabolit sekunder berpotensi sebagai antibakteri. Penelitian lain menyatakan bahwasanya ekstrak *G. verrucosa* berisi senyawa asam lemak yang mempunyai kegiatan antibakteri.⁶

Penelitian ini melakukan pendekatan Studi *In silico* dengan metode *molecular docking* dimana senyawa aktif yang terdapat dalam *G. verrucosa* dikaitkan dengan pengikatan protein target PDf *E. coli* dan PDf *S. aureus*. Penambatan pada metode *molecular docking* dievaluasi dengan memperhatikan parameter meliputi energi ikatan bebas (ΔG) serta residu asam amino. Disamping itu, diperlukan pula prediksi profil fisikokimia serta farmakokinetik senyawa aktif *G. verrucosa*. Penilaian fisikokimia sebagai calon obat yang menjanjikan perlu memenuhi ketentuan "*Lipinski Rule of Five*" melingkupi berat molekul, nilai LogP, akseptor ikatan hidrogen, donor

ikatan hidrogen, serta aktivitas permukaan polar. Dimana, profil farmakokinetik menentukan adsorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi dan toksisitas (ADMET). Prediksi ADME dan toksisitas bertujuan untuk mengurangi risiko jumlah senyawa yang tidak dapat digunakan di uji klinis sebab sifat ADME yang tidak memadai.

Prediksi profil fisikokimia dan farmakokinetik senyawa, dinilai penting sebagai pertimbangan dalam pengembangan obat pada tahap awal, penilaian parameter dilakukan melalui *website pkCSM Online Tools*.⁷ Tujuan dari penelitian ini dengan melakukan skrining awal guna mengidentifikasi senyawa aktif dari *G. verrucosa* yang mempunyai potensi guna menghambat pertumbuhan bakteri, dan guna mengetahui potensi penambatan senyawa aktif *G. verrucosa* terhadap PDf.

METODE PENELITIAN

Desain, Tempat, dan Waktu Penelitian

Penelitian ini diselenggarakan menggunakan Studi *In silico* dengan metode *molecular docking* dikaitkan pada penambatan senyawa aktif *G. verrucosa* terhadap protein target *Peptide Deformylase* pada bakteri *E. coli* serta *S. aureus*. Serta, memprediksi fisikokimia serta farmakokinetik (ADME) dan Toksisitas. Penelitian diselenggarakan di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang pada bulan Maret hingga Juni 2023.

Alat dan Bahan

Alat dipergunakan pada penelitian ini melingkupi laptop yang memiliki spesifikasi CPU Intel® Core™ i5 6198DU @ 2.30 GHz, RAM 8 GB, system operasi Microsoft Windows 10 Pro 64-bit yang terkoneksi ke jaringan internet. Struktur senyawa aktif *G. verrucosa* terdiri atas 25 senyawa serta obat Actinonin (CID PubChem: 443600) diperoleh dari PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>). Struktur 3D protein target PDf *E. coli* (PDB ID: 1Q2A) dan PDf *S. aureus* (PDB ID: 1Q1Y) diperoleh melalui web Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>). Penambatan memakai software PyRx dan visualisasi menggunakan PyMol dan BIOVIA Discovery Studio, serta prediksi fisikokimia dan farmakokinetik dari *website pkCSM Online Tools* (<https://biosig.lab.uq.edu.au/pkcsml/prediction>).

Senyawa Aktif *G. verrucosa* diperoleh melalui PubChem dilengkapi CID

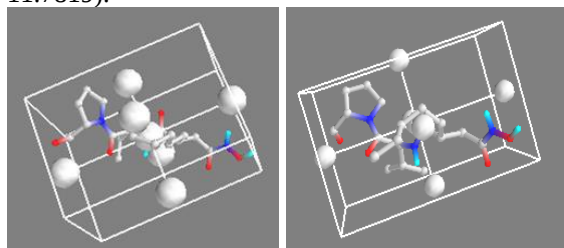
Senyawa Aktif	CID
Dodecane	8182
Tetradecanoic acid	11005
9-Hexadecenoic acid	5282745
o-Xylene	7237
Benzaldehyde dimethyl acetal	62375
Hexadecanoic acid	985
Pentadecane	12391
Octadecenoic acid	5282750

Tridecanoic acid	12530
5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid	1780
Eicosane	8222
7,10,13-Eicosatrienoic acid	5312532
Pentadecanoic acid	13849
1-Chlorooctadecane	18815
9-Octadecenoic acid	637517
Oxacyclopent / Ascladiol	6440900
6,9,12-Octadecatrienoic acid	5353640
Eicosanoic acid	10467
Heneicosanoic acid	16898
11,14-Eicosadienoic acid	5282184
Tetracosanoic acid	11197
15-Tetracosenoic acid	5281120
2-diphenyl-2-hydroxy acetic acid	445154
Palatinol IC	6782
N-Phenethyl-Acetamide	20436

Keterangan: Senyawa aktif *G. verrucosa* yang ditampilkan di atas memiliki kandungan asam lemak dan lipid (jenuh dan tak jenuh) yang bersifat sebagai antibakteri.

Validasi Metode Molecular Docking

Validasi metode *molecular docking* dilakukan dengan menggunakan program PyRx dan visualisasi dengan PyMOL untuk menilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*) < 2Å. Penambatan protein PDf *E. coli* dengan pengaturan gridbox (X: 7.8801, Y: 12.4640, Z: 8.6943) dan protein PDf *S. aureus* dengan pengaturan gridbox (X: 7.3349, Y: 9.8211, Z: 11.7819).



Gambar 1. Gridbox *E.coli* **Gambar 2.** Gridbox *S.aureus*

Langkah-langkah Molecular Docking

Mempersiapkan 25 struktur senyawa aktif *G. verrucosa* dan obat kontrol *Actinonin* (CID PubChem: 443600) diunduh melalui *website* PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>), lalu CID dari tiap-tiap senyawa aktif ditulis. Struktur diunduh dalam bentuk format *sdf* dikonversi ke *pdb* menggunakan situs SMILES Online translator (<https://cactus.nci.nih.gov/translate/>). Selanjutnya, struktur 3D *Peptide Deformylase* pada bakteri *E. coli* (PDB ID:1G2A) dan *S. aureus* (PDB ID:1Q1Y) diperoleh melalui situs *web* Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/search>) dalam format *pdb*. Langkah docking dilakukan dengan memakai program PyRx AutoDock Vina.⁸

Langkah Uji fisikokimia dan farmakokinetik (ADME) dan Toksisitas senyawa aktif *G.verrucosa*

Mencari Colonial SMILES dari 25 senyawa *G.verucossa* dan obat kontrol *Actinonin* yang dapat

diperoleh dari situs *web* PubChem (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Kode SMILES yang didapatkan diinput dalam kolom yang sudah disediakan pada *website* *pkCSM Tools* <https://biosig.lab.uq.edu.au/pkcsbm/prediction>. Selanjutnya, pilih menu ADMET guna memperoleh hasil uji fisikokimia, farmakokinetik serta toksisitas yang digunakan untuk mengevaluasi apakah senyawa aktif tersebut memiliki potensi sebagai obat ataupun non-obat.⁹

Analisa Data

Hasil penambatan senyawa aktif *G. verrucosa* dengan PDf diukur bersumberkan parameter nilai (ΔG) serta jumlah residu as. amino antara senyawa aktif serta PDf terhadap kontrol (*Actinonin*) sebagai pembanding.

Nilai (ΔG) menyatakan kekuatan ikatan (afinitas) interaksi antara ligan dan protein target <0 kcal/mol. Dimana, semakin minus nilai (ΔG) maka afinitas ligan dan protein semakin tinggi, sehingga mampu berikatan kuat dengan sisi aktif dari protein target. Nilai residu as. amino menyatakan ligan memiliki kemampuan untuk menghambat aktivitas protein target. Dimana, senyawa aktif mempunyai residu asam amino setara dengan *Actinonin* menunjukkan berikatan kuat pada protein target.¹⁰

Prediksi fisikokimia memenuhi aturan *Lipinski rule of five* meliputi berat molekul (BM) <500 g/mol, logaritma koefisien partisi oktanol/air (LogP) <5, *hydrogen bond donor* (HBD) <5, *hydrogen bond acceptor* (HBA) <10 serta *polar surface activity* (PSA) <140Å. Penelitian dapat dikembangkan lebih lanjut, jika memenuhi minimal 2 kriteria tersebut. Prediksi farmakokinetik (ADMET) dievaluasi berdasarkan parameter absorpsi (*intestinal absorption* dan *Caco2 permeability*), distribusi (*Volume Distribution Steady State*, BBB *permeability*), metabolisme (enzim sitokrom P450

atau CYP2D6/CYP3A4 inhibitor), ekskresi (*Total Clearance*) dan toksisitas (hepatotoxicity).¹¹

HASIL PENELITIAN

Hasil Penambatan senyawa aktif *G. verrucosa* dengan Pdf Bakteri *E. coli*

Hasil ditambatkannya 25 senyawa aktif *G. verrucosa* pada protein target Pdf *E. coli* bersumberkan nilai (ΔG) serta residu asam amino, ditunjukkan di **tabel 2**. Hasil tabel tersebut menunjukkan seluruh senyawa *G. verrucosa* memiliki nilai ΔG yang tidak lebih baik dibanding dengan kontrol *Actinonin* yang memiliki nilai ΔG -7.7 kcal/mol. Setelah dibandingkan, dari 25 senyawa terdapat satu senyawa aktif yang mempunyai nilai ΔG yang paling baik yakni **Palatinol IC** ΔG -6.5 kcal/mol. Interaksi yang ada diantara ligan serta protein target meliputi ikatan hidrogen, hidrofobik dan lainnya.¹²

Dalam penelitian ini, diketahui seluruh senyawa *G. verrucosa* mempunyai kemiripan residu asam amino, namun tidak ada yang sama secara keseluruhan dengan *Actinonin*. Residu asam amino pada obat kontrol *Actinonin* memiliki ikatan hidrogen (LEU91, GLN50, GLU133, GLY45, ILE44, GLY89, ARG97, GLU87), dan hidrofobik (LEU125, CYS129). Senyawa aktif *G. verrucosa* yang memiliki presentase kesamaan residu asam amino paling mendekati obat kontrol *Actinonin* pada penambatan Pdf *E. coli* adalah **Palatinol IC** sebesar 50%. Senyawa tersebut mempunyai kesamaan residu asam amino di ikatan hidrogen (ILE44, GLY45, GLY89) dan hidrofobik (LEU125, CYS129). Namun, *Palatinol IC* tidak mempunyai nilai ΔG yang lebih baik daripada kontrol.

Hasil Penambatan Senyawa Aktif *G. verrucosa*

dengan Pdf bakteri *S. aureus*

Hasil ditambatkannya 25 senyawa aktif *G. verrucosa* dengan protein target Pdf *S. aureus* bersumberkan nilai ΔG serta residu asam amino, ditunjukkan di **tabel 3**. Hasil tabel tersebut menunjukkan seluruh senyawa memiliki nilai ΔG yang tidak lebih baik dibanding *Actinonin* yang mempunyai nilai ΔG -7.4 kcal/mol. Setelah diperbandingkan, dari 25 senyawa terdapat satu senyawa aktif yang mempunyai nilai ΔG yang paling baik yakni **Palatinol IC** ΔG -6.1 kcal/mol.

Pada penelitian ini, terdapat 22 senyawa yang memiliki kesesuaian residu as. amino dengan *Actinonin*. Residu as. amino *Actinonin* memiliki ikatan hidrogen (LEU112, GLU155, GLY60, TYR147), hidrofobik (VAL59, VAL151, HIS154) dan lainnya (GLN65). Senyawa yang memiliki presentase kemiripan residu asam amino paling mendekati kontrol *Actinonin* pada penambatan Pdf *S. aureus* adalah **Palatinol IC** sebesar 40%. *Palatinol IC* tersebut mempunyai kesesuaian residu asam amino pada ikatan hidrogen (GLY60) serta hidrofobik (VAL151, HIS154).

Hasil Uji Fisikokimia Senyawa Aktif *G. verrucosa* menggunakan pkCSM Online Tool

Hasil uji fisikokimia senyawa aktif *G. verrucosa* berdasarkan aturan *Lipinski Rule of Five* yakni BM <500 g/mol, LogP <5, HBD <5, HBA <10 serta PSA <140Å ditunjukkan pada **Tabel 4**. Jika hasil uji memenuhi minimal dua ketentuan atau lebih, maka senyawa dapat menjadi kandidat obat. Berdasarkan hasil analisa di **tabel 4** memperlihatkan bahwasanya 25 senyawa aktif *G. verrucosa* penuhi kriteria *Lipinski Rule of Five* dan mempunyai potensi sebagai kandidat obat.

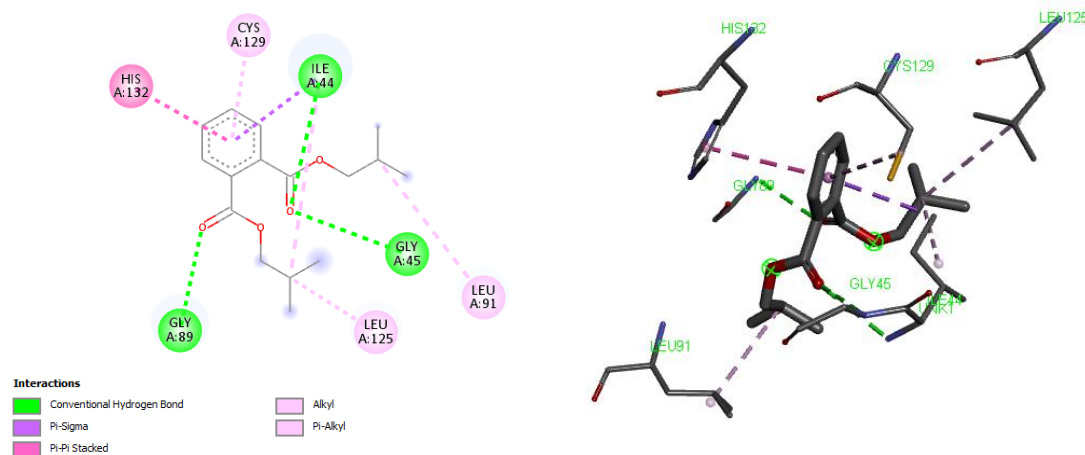
Tabel 2. Hasil Molecular Docking Senyawa Ekstrak *G. verrucosa* dengan Pdf *E. coli*.

Ligan	Energi Ikatan Bebas (kcal/mol)	Residu Asam Amino (Kesamaan as. amino)	Jumlah Residu Asam Amino	Kesamaan Residu Asam Amino Terikat pada <i>Actinonin</i> (%)
<i>Actinonin</i> (Kontrol)	-7.7	Hidrogen (LEU91, GLN50, GLU133, GLY45, ILE44, GLY89, ARG97, GLU87)	10/10	100%
2-diphenyl-2-hydroxy acetic acid	-6.6	Hydrophobic (LEU125, CYS129)	1/10	10%
Palatinol IC	-6.5	Hidrogen (ILE44, GLY45, GLY89); Hydrophobic (LEU125, CYS129)	5/10	50%
<i>N</i> -Phenethyl-Acetamide	-6.5	Hidrogen (GLY45, GLY89); Hydrophobic (CYS129)	3/10	30%
5,8,11,14-Eicosatetraynoic acid	-6.3	Hidrogen (ARG97); Hydrophobic (LEU125, CYS129)	3/10	30%
7,10,13-Eicosatrienoic acid	-6.2	Hydrophobic (CYS129)	1/10	10%
<i>Tetracosanoic acid</i>	-6	Hidrogen (ARG97); Hydrophobic (CYS129)	2/10	20%
9-Hexadecenoic acid	-5.9	Hydrophobic (CYS129)	1/10	10%
11,14-Eicosadienoic acid	-5.9	Hidrogen (ARG97); Hydrophobic (CYS129)	2/10	20%
<i>Tetradecanoic acid</i>	-5.8	Hidrogen (GLY89)	1/10	10%

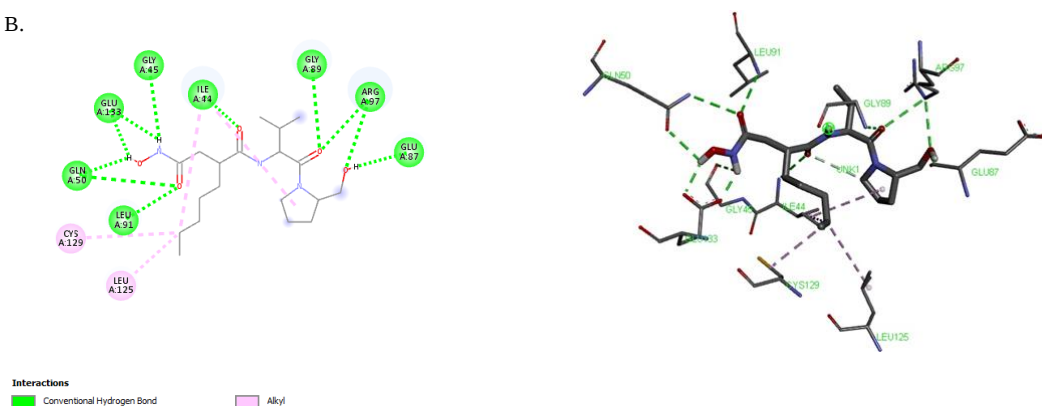
15-Tetracosenoic acid	-5.8	Hydrogen (ILE44, GLY45); Hydrophobic (LEU125)	3/10	30%
Hexadecanoic acid	-5.7	Hydrogen (GLN50, LEU91, GLU133); Hydrophobic (CYS129)	4/10	40%
Octadecenoic acid	-5.7	Hydrogen (GLY45); Hydrophobic (CYS129)	2/10	20%
Tridecanoic acid	-5.7	Hydrogen (GLN50, LEU91)	2/10	20%
9-Octadecenoic acid	-5.7	Hydrogen (ARG97); Hydrophobic (LEU125, CYS129)	3/10	30%
Eicosanoic acid	-5.7	Hydrogen (ARG97); Hydrophobic (LEU125)	2/10	20%
Oxacyclopent / Ascladiol	-5.6	Hydrogen (GLY45, GLY89); Hydrophobic (CYS129)	3/10	30%
6,9,12-Octadecatrienoic acid	-5.6	Hydrogen (ARG97); Hydrophobic (LEU125)	2/10	20%
Heneicosanoic acid	-5.5	Hydrogen (ARG97); Hydrophobic (CYS129)	2/10	20%
Pentadecanoic acid	-5.4	Hydrogen (GLY89); Hydrophobic (LEU125, CYS129)	3/10	30%
Benzaldehyde dimethyl acetal	-5.2	Hydrogen (GLY45, GLU133); Hydrophobic (CYS129)	3/10	30%
o-Xylene	-5	Hydrophobic (CYS129)	1/10	10%
Eicosane	-5	Hydrophobic (CYS129)	1/10	10%
1-Chlorooctadecane	-4.8	Hydrophobic (LEU125, CYS129)	2/10	20%
Pentadecane	-4.7	Hydrophobic (CYS129)	1/10	10%
Dodecane	-4.6	Hydrophobic (CYS129)	1/10	10%

Keterangan: Data ditampilkan di atas adalah hasil mengenai penambatan 25 senyawa aktif *G. verrucosa* pada PDf bakteri *E. coli* dengan kontrol Actinonin.

A.



B.



Gambar 1. Struktur substrat (ligan) terikat pada Peptide Deformylase yaitu (A) Palatinol IC, (B) Actinonin

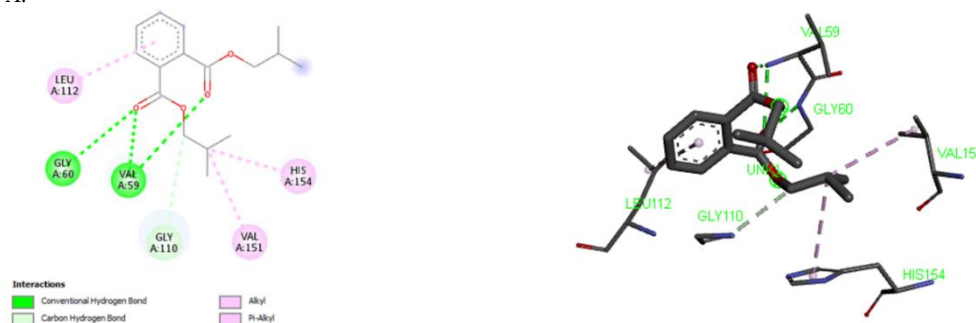
Keterangan : Palatinol IC di atas mempunyai nilai ΔG paling tinggi serta residu asam amino yang serupa dengan PDf *E.coli*.

Tabel 3. Hasil *Molecular Docking* Senyawa Aktif *G. verrucosa* dengan PDF *S. aureus*

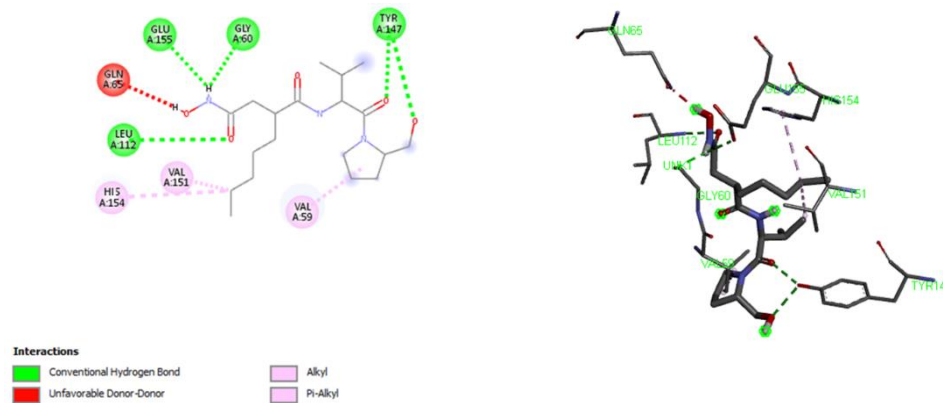
Ligan	Energi Ikatan Bebas (kcal/mol)	Residu Asam Amino (Kesamaan as. amino)	Jumlah Residu Asam Amino	Kesamaan Residu Asam Amino Terikat pada Actinonin (%)
Actinonin (Kontrol)	-7.4	Hidrogen (LEU112, GLU155, GLY60, TYR147); Hydrophobic (VAL59, VAL151, HIS154)	7/7	100%
Palatinol IC	-6.1	Hidrogen (GLY60); Hydrophobic (VAL151, HIS154)	3/7	40%
2-diphenyl-2-hydroxy acetic acid	-6.0	Hydrophobic (ILE168)	-	-
N-Phenethyl-Acetamide	-6.0	Hidrogen (GLY60); Hydrophobic (VAL151, HIS154)	3/7	40%
Hexadecanoic acid	-5.6	Hydrophobic (VAL59, VAL151, HIS154)	3/7	40%
6,9,12-Octadecatrienoic acid	-5.5	Hidrogen (LEU112); Hydrophobic (VAL59, VAL151, HIS154)	4/7	60%
9-Hexadecenoic acid	-5.4	Hydrophobic (LEU112, GLY60); Hydrophobic (VAL151, HIS154)	4/7	60%
Tetradecanoic acid	-5.3	Hidrogen (LEU112, GLY60, GLU155, GLN65); Hydrophobic (VAL151, HIS154)	6/7	85%
5,8,11,14-Eicosatetraynoic acid	-5.3	Hidrogen (ASP115); Hydrophobic (ALA119)	-	-
Pentadecanoic acid	-5.3	Hidrogen (LEU112, GLN65); Hydrophobic (VAL59, VAL151, HIS154)	5/7	70%
Oxacyclopent / Ascladiol	-5.3	Hidrogen (GLY60); Hydrophobic (VAL151)	2/7	30%
9-Octadecenoic acid	-5.2	Hidrogen (LEU112, GLN65, GLY60); Hydrophobic (VAL59, VAL151, HIS154)	6/7	85%
Eicosanoic acid	-5.1	Hydrophobic (VAL59, VAL151, HIS154)	3/7	40%
Heneicosanoic acid	-5.1	Hidrogen (LEU112, GLU155, GLN65); Hydrophobic (VAL59, VAL151, HIS154)	6/7	85%
11,14-Eicosadienoic acid	-5.1	Hidrogen (LEU112); Hydrophobic (VAL59, VAL151, HIS154)	4/7	60%
Tetracosanoic acid	-5.1	Hidrogen (GLY60); Hydrophobic (VAL151, HIS154)	3/7	40%
Benzaldehyde dimethyl acetal	-5.0	Hydrophobic (VAL151, HIS154)	2/7	30%
Tridecanoic acid	-5.0	Hydrophobic (VAL151, HIS154)	2/7	30%
7,10,13-Eicosatrienoic acid	-5.0	Hydrophobic (VAL151, HIS154)	2/7	30%
o-Xylene	-4.7	Hydrophobic (VAL59, VAL151, HIS154)	3/7	40%
Pentadecane	-4.6	Hydrophobic (VAL59, VAL151, HIS154)	3/7	40%
Octadecenoic acid	-4.6	Hydrophobic (VAL59, VAL151, HIS154)	3/7	40%
15-Tetracosenoic acid	-4.6	Hidrogen (ASP115); Hydrophobic (VAL114)	-	-
Eicosane	-4.5	Hydrophobic (VAL59, VAL151, HIS154)	3/7	40%
1-Chlorooctadecane	-4.5	Hydrophobic (VAL59, VAL151, HIS154)	3/7	40%
Dodecane	-4.4	Hydrophobic (VAL59, VAL151, HIS154)	3/7	40%

Keterangan: Data ditampilkan adalah hasil mengenai penambatan 25 senyawa aktif *G. verrucosa* pada PDF bakteri *S. aureus* dengan kontrol Actinonin.

A.



B.



Gambar 2. Struktur ligan berikatan dengan *Peptide Deformylase* yakni (A) *Palatinol IC*, (B) *Actinonin*
Keterangan : *Palatinol IC* di atas mempunyai nilai ΔG paling tinggi serta residu asam amino yang sama terhadap PDF *S. aureus*.

Tabel 4. Hasil Uji Fisikokimia Senyawa Aktif *G. verrucosa* serta *Actinonin*

Senyawa Aktif	BM	LogP	HBA	HBD	PSA (Å)
<i>Dodecane</i>	170.34	4.9272	0	0	78.754
<i>Tetradecanoic acid</i>	228.376	4.7721	1	1	100.439
<i>9-hexadecenoic acid</i>	254.414	5.3283	1	1	112.480
<i>O-xylene</i>	106.168	2.30344	0	0	50.161
<i>Benzaldehyde dimethyl acetal</i>	152.193	1.978	2	0	66.753
<i>Hexadecenoic acid</i>	256.43	5.5523	1	1	113.169
<i>Pentadecane</i>	212.421	6.0975	0	0	97.848
<i>Octadecanoic acid</i>	282.468	6.1085	1	1	125.209
<i>Tridecanoic acid</i>	214.349	4.382	1	1	94.074
<i>5,8,11,14-Eicosatetraynoic acid</i>	296.41	4.0055	1	1	134.626
<i>Eicosane</i>	282.556	8.048	0	0	129.673
<i>7,10,13-Eicosatetraynoic acid</i>	306.49	6.4407	1	1	136.560
<i>Pentadecanoic acid</i>	242.403	5.1622	1	1	106.804
<i>1-Chlorooctadecane</i>	288.947	7.4867	0	0	127.247
<i>9-Octadecenoic acid</i>	282.468	6.1085	1	1	125.209
<i>Oxacyclopent</i>	156.137	-0.6619	4	2	63.407
<i>6,9,12-Octadecatrenoic acid</i>	278.436	5.6605	1	1	123.830
<i>Eicosanoic acid</i>	312.538	7.1127	1	1	138.629
<i>Heneicosanoic acid</i>	326.565	7.5028	1	1	144.994
<i>11,14-Eicosadienoic acid</i>	308.506	6.363	2	0	137.569
<i>Tetracosanoic acid</i>	368.646	8.6731	1	1	164.089
<i>15-Tetracosenoic acid</i>	366.63	8.4491	1	1	163.399
<i>2-diphenyl-2-hydroxy acetic acid</i>	228.247	2.9738	3	3	98.911
<i>Palatinol IC</i>	278.348	3.3122	4	0	119.631
<i>N-Phenethyl-Acetamide</i>	163.22	2.2811	1	1	72.603
<i>Actinonin (Kontrol)</i>	385.505	1.2025	5	4	161.189

Keterangan: Molecular Weight (BM), Logarithm of Octanol (Log P), Hydrogen Bond Acceptors (HBA), Hydrogen Bond Donors (HBD), Polar Surface Activity (PSA). Data di atas adalah hasil uji fisikokimia senyawa aktif *Gracilaria* sp. dan *Actinonin*.

Tabel 5. Hasil Uji Farmakokinetik serta Toksisitas Senyawa Aktif *G. verrucosa*

Senyawa Aktif	Absorpsi		Distribusi		Metabolisme		Ekskresi	Toksisitas	
	Intestinal Absorpti on (%)	Skin Permeabi lity (Log Kp)	Volume Distribution (Log L/kg)	Blood-Brain Barrier / BBB (log BBB)	Fraction unbound (Fu)	CYP 2D6	CYP 3A4	Total clearance (log ml/min/kg)	Hepato toxicity
Dodecane	92.42	-1.329	0.582	0.863	0.197	Tdk	Tdk	1.696	Tdk
Tetradecanoic acid	92.691	-2.705	-0.578	-0.027	0.171	Tdk	Tdk	1.693	Tdk
9-hexadecenoic acid	92.51	-2.715	-0.574	-0.084	0.104	Tdk	Tdk	1.817	Tdk
O-xylene	95.713	-1.236	0.325	0.409	0.362	Tdk	Tdk	0.269	Tdk
Benzaldehyde dimethyl acetal	96.016	-1.876	0.078	0.319	0.368	Tdk	Tdk	0.484	Tdk
Hexadecenoic acid	92.004	-2.717	-0.543	-0.111	0.101	Tdk	Tdk	1.763	Tdk
Pentadecane	91.389	-2.117	0.664	0.92	0.074	Tdk	Tdk	1.811	Tdk
Octadecanoic acid	91.823	-2.725	-0.558	-0.168	0.052	Tdk	Tdk	1.927	Tdk
Tridecanoic acid	93.035	-2.698	-0.602	0.015	0.214	Tdk	Tdk	1.658	Tdk
5,8,11,14-Eicosatetraynoic acid	97.879	-2.722	-0.842	0.036	0.052	Tdk	Tdk	1.776	Tdk
Eicosane	89.671	-2.774	0.614	1.014	0	Tdk	Tdk	1.998	Tdk
7,10,13-Eicosatetraynoic acid	92.148	-2.729	-0.616	-0.199	0.02	Tdk	Tdk	2.053	Tdk
Pentadecanoic acid	92.348	-2.711	-0.558	-0.069	0.134	Tdk	Tdk	1.728	Tdk
1-Chlorooctadecane	89.734	-2.725	0.596	0.997	0	Tdk	Tdk	0.872	Tdk
9-Octadecenoic acid	91.823	-2.725	-0.558	-0.168	0.052	Tdk	Tdk	1.884	Tdk
Oxacyclopent	76.181	-4.449	-0.226	-0.373	0.768	Tdk	Tdk	0.75	Tdk
6,9,12-Octadecatrienoic acid	92.836	-2.722	-0.617	-0.115	0.056	Tdk	Ya	1.989	Ya
Eicosanoic acid	90.63	-2.731	-0.532	-0.279	0.021	Tdk	Tdk	1.9	Ya
Heneicosanoic acid	90.286	-2.733	-0.541	-0.321	0.013	Tdk	Tdk	1.933	Ya
11,14-Eicosadienoic acid	92.241	-2.774	0.306	0.776	0.015	Tdk	Tdk	2.08	Tdk
Tetracosanoic acid	89.255	-2.735	-0.59	-0.448	0.015	Tdk	Tdk	2.034	Ya
15-Tetracosenoic acid	89.761	-2.735	-0.615	-0.421	0.011	Tdk	Tdk	2.082	Ya
2-diphenyl-2-hydroxy acetic acid	90.935	-2.737	0.296	-0.048	0.166	Tdk	Tdk	0.076	Tdk
Palatinol IC	95.89	-2.645	-0.117	-0.046	0.103	Tdk	Tdk	0.8	Tdk
N-Phenethyl-Acetamide	93.448	-2.269	0.085	0.166	0.237	Tdk	Tdk	0.27	Tdk
Actinonin (Kontrol)	49.93	-2.977	-0.74	-0.837	0.408	Tdk	Tdk	1.843	Tdk

Keterangan: Tdk = Tidak; Tidak menghambat metabolisme CYP2D6; Tidak menghambat metabolisme CYP3A4; Tidak bersifat hepatotoksik; Data di atas adalah hasil uji ADME serta toksisitas senyawa aktif *G. verrucosa* dan *Actinonin*.

Hasil Uji Farmakokinetik dan Toksisitas Senyawa Aktif *G. verrucosa*

Hasil uji farmakokinetik serta toksisitas senyawa aktif *G. verrucosa* bersumberkan parameter absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi dan toksisitas (ADMET) diperlihatkan pada **tabel 5**. Hasil analisa pada **tabel 5** menunjukkan seluruh senyawa aktif *G. verrucosa* dan *Actinonin* mempunyai nilai absorpsi intestinal >90%, dimana senyawa dikatakan baik jika mempunyai nilai absorpsi >30%. Senyawa diasumsikan memiliki permeabilitas kulit baik bila memiliki LogKp <-2,5. Hasil menunjukkan lima senyawa mempunyai potensi untuk penyerapan melalui kulit.⁷

Senyawa dianggap memiliki nilai distribusi (VDss) buruk bila <-0,15 serta dianggap baik apabila >0,45. Hasil pada **tabel 5** menunjukkan lima senyawa aktif *G. verrucosa* yang memenuhi nilai distribusi (VDss) yaitu *Dodecane*, *Pentadecane*, *Eicosane*, *1-Chlorooctadecane* dan *Palatinol IC*. Senyawa aktif dianggap dapat dengan mudah melewati BBB, jika nilai LogBB > 0,3, serta tidak mampu didistribusikan dengan baik apabila LogBB <-1. BBB dipergunakan sebagai indikator guna melihat keahlian penetrasi obat ke daerah sawar otak. Hasil menunjukkan tujuh senyawa aktif yang mempunyai nilai LogBB >0,3.⁷ Senyawa aktif yang memiliki nilai unbound lebih tinggi dibanding obat kontrol yaitu *Oxacyclopent*. Dimana, semakin tinggi nilai unbound suatu

senyawa, maka akan semakin banyak yang berkaitan dengan protein dalam darah dan akan semakin mengurangi efisiensinya dalam berdifusi atau melintasi membran sel.

Salah satu senyawa aktif memiliki potensi dalam menghambat enzim CYP3A4 yaitu senyawa *6,9,12-Octadecatrienoic acid*. CYP3A4 merupakan enzim berfungsi pada proses metabolisme obat pada tubuh. Parameter ekskresi dapat dilihat dari nilai *total clearance* dan terdapat delapan belas senyawa aktif yang memiliki nilai *total clearance* yang lebih tinggi daripada *Actionin*. Suatu senyawa dapat dikatakan hepatotoksik jika memiliki potensi untuk menyebabkan efek patologis atau mengganggu fungsi hati.⁹ Hasil menunjukkan dua puluh senyawa aktif tidak memiliki efek hepatotoksik.

PEMBAHASAN

Analisa Molecular Docking Senyawa Aktif *Gracilaria verrucosa* terhadap PDF *E. coli* dan PDF *S. aureus*

Penelitian ini menggunakan antibiotik alami (native ligand) *actinonin* sebagai obat kontrol. *Actinonin* adalah senyawa alami yang ditemukan dalam organisme *Streptomyces sp.*, dan juga merupakan pseudopeptida asam hidroksamat yang memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan berikatan pada target biologis spesifik dalam organisme. Penelitian

sebelumnya menggunakan *actinonin* dalam pengembangan obat bersifat antibakteri dengan menghambat *peptide deformylase* (PDF). (4) *Actinonin* memiliki aktivitas antibakteri melalui mekanisme aksi berikatan dengan situs aktif protein PDF.¹³ Ikatan ini akan menghambat enzim metallohidrolase *peptide deformylase* (PDF) yang berperan dalam pematangan protein dengan mengkatalisis penghilangan gugus N-formyl dari residu metionin N-terminal dalam polipeptida setelah translasi.¹⁴ Penghapusan gugus N-formyl dari polipeptida oleh PDF adalah kegiatan yang diperlukan untuk kelangsungan hidup sel bakteri, sehingga penghambatan protein target PDF diperkirakan dapat menghambat pematangan protein dan pertumbuhan bakteri.¹⁵

Peptide Deformylase (PDF) merupakan enzim monomer kecil yang terdiri dari sekitar 160-200 residu asam amino. PDF memiliki struktur kristal dengan berbagai ion logam katalitik (Zn^{2+} , Fe^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+}) yang terikat pada sisi aktif.¹⁶ PDF diklasifikasikan menjadi tiga kelas utama berdasarkan urutan protein dan data struktur kristal yakni “Tipe I” mencakup eukariota, semua bakteri gram negatif serta sejumlah bakteri gram positif. “Tipe II” hanya ditemukan pada bakteri gram positif, dan “Tipe III” mewakili homolog archaeal dan trypanosomal. Tingkat kesamaan urutan antara kelas PDF “Tipe I dan II” tergolong rendah, contohnya homologi antara *E. coli* dan *S. aureus* hanya sekitar 23%. Secara umum, domain C-terminal PDF “Tipe II” mengandung banyak asam amino hidrofobik dibandingkan PDF “Tipe I”. Namun, perbedaan ini tidak secara signifikan mempengaruhi wilayah situs aktif yang secara struktural sangat mirip antara PDF “Tipe I dan II”.¹⁵

Hasil penambatan 25 senyawa aktif *G. verrucosa* pada protein target PDF *E. coli* serta *S. aureus* menunjukkan semua senyawa tidak mempunyai nilai (ΔG) yang lebih baik dibanding dengan obat *Actinonin* pada protein target PDF *E. coli* ΔG -7.7 kcal/mol dan PDF *S. aureus* ΔG -7.4 kcal/mol. Namun, ada satu senyawa yang mempunyai energi ikatan bebas paling mendekati yakni *Palatinol IC* pada PDF *E. coli* ΔG -6.5 kcal/mol serta PDF *S. aureus* ΔG -6.1 kcal/mol. Energi ikatan bebas memperlihatkan kuantitas energi yang diperlukan guna membentuk ikatan antara protein dengan ligan. Dimana, semakin minus nilai ΔG maka afinitas ikatan protein target-ligan akan semakin tinggi dan menimbulkan aktifitas biologis yang kuat, dan senyawa tersebut semakin berpotensi sebagai obat. Interaksi antara ligan dan protein target melibatkan interaksi hidrogen serta hidrofobik.¹⁷ Ikatan hidrogen melibatkan interaksi antar atom hidrogen dengan muatan positif sebagian bersama atom lainnya dengan sifatnya elektronegatif seperti fluor (F), nitrogen (N), dan oksigen (O).¹²

Parameter terkait afinitas ikatan yang juga perlu diamati pada hasil *docking* selain ΔG yakni konstanta inhibisi (K_i), akan tetapi pada penelitian

ini tidak dilakukan sebab adanya keterbatasan pada program. Dimana, ΔG dan K_i erat kaitannya dengan afinitas pengikatan yang perlu diperhatikan pada interaksi ligan dan protein target. Afinitas pengikatan merupakan ukuran kemampuan ligan untuk berikatan pada protein target. Nilai afinitas ikatan yang lebih rendah memiliki potensi yang lebih besar untuk dapat berinteraksi dengan protein target. Dengan kata lain, hasil *docking* memiliki nilai afinitas terbaik dengan nilai ΔG dan K_i yang rendah.¹⁰

Hasil residu as. amino senyawa aktif *G. verrucosa* dengan protein PDF *E. coli* dan *S. aureus* memiliki beberapa kesamaan pada ikatan tertentu dengan obat kontrol *Actinonin*. Senyawa aktif yang mempunyai kesamaan residu asam amino paling mendekati ikatan kontrol baik pada PDF *E. coli* dan PDF *S. aureus* adalah senyawa *Palatinol IC* dengan presentase 50% dan 40%. Pada penambatan protein PDF *E. coli* dengan *Actinonin* menunjukkan senyawa *Palatinol IC* memiliki kesamaan residu asam amino pada ikatan hidrogen (ILE44, GLY45, GLY89) serta ikatan hidrofobik (LEU125, CYS129). Selain itu, penambatan protein target PDF *S. aureus* dengan obat kontrol *Actinonin* menunjukkan senyawa *Palatinol IC* memiliki kesamaan residu asam amino pada ikatan hidrogen (GLY60) serta ikatan hidrofobik (VAL151, HIS154). Pada protein target PDF *S. aureus* terdapat dua senyawa yang memiliki nilai ΔG lebih buruk, namun mempunyai kesamaan residu asam amino yang lebih tinggi daripada obat kontrol dengan presentase 85% yaitu *Tetradecanoic acid* dan *Heneicosanoic acid*. Hal ini memungkinkan kedua senyawa tersebut memiliki potensi sebagai obat antibakteri, akan tetapi butuh energi lebih untuk bisa berikatan dengan protein target.¹⁰

Hasil penelitian ini sesuai telah dilakukan Sangshetti *et al* (2015) mengungkapkan *Actinonin* telah digambarkan dapat mengikat sisi aktif berbagai PDF seperti pada *E. coli* serta *S. aureus*. *Actinonin* mengandung gugus hidroksamat (R-CO-NHOH) sebagai gugus pengkhelat logam bidentat yang berinteraksi dengan mengikat ion logam dalam PDF. Gugus ini melekat pada tulang punggung pseudopeptidik yang menempati *pocket* S1-S3 wilayah PDF. Ion logam (Ni^{2+}) adalah pentakoordinat sebagai dua atom O dari gugus hidroksamat membentuk dua ikatan dengan ion logam sisi aktif yakni (O-N dari hidroksamat) dan (C=O dari hidroksamat). Ikatan hidrogen dibentuk oleh rantai samping His-132 dan Glu-133. Ikatan hidrogen juga dibentuk oleh rantai utama NH dari Ile-44, serta P1' karbonil dan rantai utama NH serta gugus NH dari Gly-89. Selain itu, gugus NH dari Gln-50 dan Leu-91 membentuk ikatan hidrogen dengan P2' gugus karbonil. *Pocket* S1' hidrofobik dibentuk oleh residu Ile-44 dan His-132. Pada kompleks *actinonin*-PDF ikatan hidrogen akhir dibuat antara gugus alkohol terminal (-OH) dan oksigen karbonil (C=O) rantai utama Glu-87.¹⁵

Adapun hasil pada penelitian sesuai dengan yang telah dilakukan oleh SangJae *et al* (2012) menyatakan

Actinonin telah digambarkan dapat mengikat sisi aktif pada PDf *S. aureus*. Gugus ini melekat pada wilayah *pocket* S1-S3 dari PDf *S. aureus*, dimana *pocket* S1 terdiri dari residu Gly60, Leu105, Gly108, Glu109, Ile150, Val151, His154, dan Glu155. *Pocket* S2 terdiri dari residu Arg56, Cys111 dan Leu 112, sedangkan *pocket* S3 terdiri dari residu Ser57, Gly58, Val59 dan Tyr147.

Inhibitor terikat dengan cara yang sama, menempati celah pada permukaan enzim dan berada di sekitar sisi aktif. Sisi aktif protein PDf terdiri dari tiga area utama kantong pengikat substrat disebut S1, S2, dan S3, serta sisi pengikat logam disebut P1, P2 dan P3.¹⁸ *Pocket* S1 sebagian besar memiliki sifat hidrofobik yang terdapat di antara semua PDf bakteri dan terbentuk dari residu Ile-44, Ile-86, Leu-125, His-132 dan Cys-129. *Pocket* S1 terbentuk dari Leu-125 pada *E. coli* dan Tyr-147 pada *S. aureus*, residu asam amino tersebut dapat diamati terlibat dalam interaksi penambatan *Actinonin* pada PDf *E. coli* dan *S. aureus*.¹⁵

Interaksi asam amino terlibat akan memungkinkan terbentuknya ikatan antara PDf dan ligan, sehingga mempunyai aktivitas penghambatan. Kesamaan residu asam amino ligan serta protein dengan obat *Actinonin* menunjukkan adanya potensi sisi aktif serupa terhadap obat *Actinonin*, nantinya pula berpotensi mempunyai aktivitas serupa.⁸

Prediksi Fisikokimia Senyawa Aktif *G. verrucosa* Mengenakan *pkCSM*

Pada uji fisikokimia perluenuhi aturan *Lipinski Rule of Five* yakni berat molekul ≤ 500 g/mol, Log P ≤ 5 , HBD ≤ 5 , HBA ≤ 10 , luas permukaan $\leq 140\text{\AA}$. Jika hasil memenuhi minimal dua ketentuan tersebut maka senyawa dikatakan berpotensi sebagai obat. Hasil analisa **tabel 4** menunjukkan bahwa semua senyawa aktif berpeluang menjadi calon obat. Terdapat sepuluh senyawa yang memiliki nilai Log P ≤ 5 . Apabila Log P semakin meningkat, maka molekul tersebut menjadi lebih hidrofobik. Molekul yang terlalu hidrofobik terkadang mempunyai tingkat toksisitas yang lebih tinggi sebab memiliki waktu tinggal lebih lama pada lipid bilayer serta tersebar luas di dalam tubuh nantinya dapat mengurangi efektifitas ikatan dengan enzim.⁹ Aturan *Lipinski* digunakan untuk memahami sifat fisikokimia ligan dalam menentukan apakah suatu senyawa bersifat hidrofobik ataupun hidrofilik untuk melewati membran sel melalui difusi pasif. Selain itu, juga digunakan sebagai proses screening pada proses penemuan obat untuk mempercepat identifikasi potensi senyawa dengan permeabilitas serta kelarutan yang bagus.¹⁶

Prediksi Farmakokinetik (ADME) Senyawa Aktif *G. verrucosa* dengan *pkCSM*

Penaksiran farmakokinetik dan toksisitas obat dapat ditentukan melalui website *pkCSM*. Profil farmakokinetik yang pertama dinilai kemampuan absorpsi pada pencernaan dan kulit. Berdasarkan

hasil penelitian pada **tabel 5** menunjukkan seluruh senyawa ekstrak *G. verrucosa* mempunyai nilai absorpsi pencernaan baik lebih dari 80%. Senyawa dikatakan memiliki absorpsi pencernaan yang baik bila $>80\%$ dan absorpsi jelek bila $<30\%$.¹⁹ Jika nilai absorpsi obat di bawah 30%, maka obat itu tidak dapat diserap dengan baik oleh usus. Semakin tinggi tingkat absorpsi obat di usus, semakin efektif obat itu masuk ke dalam tubuh.²⁰

Senyawa diungkapkan memiliki permeabilitas kulit tergolong rendah apabila memiliki nilai Log Kp >-2.5 dan memiliki permeabilitas kulit tinggi bila nilai Log Kp <-2.5 .⁷ Hasil didapatkan lima senyawa aktif *G. verrucosa* mempunyai nilai permeabilitas kulit yang tinggi sehingga lebih cepat terserap oleh kulit yaitu *Dodecane*, *O-xylene*, *Benzaldehyde dimethyl acetal*, *Pentadecane*, *N-Phenethyl-acetamide*. Dari kelima senyawa tersebut yang memiliki nilai terendah adalah *O-xylene* sebesar -1.236. Hal tersebut menunjukkan seluruh senyawa aktif *G. verrucosa* mempunyai kemampuan absorpsi sangat baik di usus dan sebagian senyawa aktif dapat diabsorpsi melalui kulit.

Penilaian volume distribusi (VDs) untuk menilai dosis total obat yang didistribusikan dengan rata guna memberikan konsentrasi yang serupa berupa di plasma darah. Bertambah tinggi vol. distribusi, bertambah tinggi penyebaran obat di jaringan daripada di dalam plasma. Senyawa dinyatakan mempunyai vol. distribusi (VD) rendah (LogVD <-0.15), serta tinggi (LogVD >0.45). Senyawa aktif *G. verrucosa* mempunyai nilai Log VD yang memenuhi syarat yakni *Dodecane*, *Pentadecane*, *Eicosane*, *1-Chlorooctadecane* dan *Palatinol IC*. Selanjutnya, kemampuan obat untuk melewati *Blood Brain Barrier* (BBB) ialah indikator utama harus diperhatikan guna meminimalisir toksisitas serta efek samping obat. Senyawa aktif yang memiliki nilai Log BB > 0.3 dikatakan bisa melewati sawar darah otak dengan baik, sementara Log BB < -1 dikatakan tidak dapat terdistribusi dengan baik.⁷ Hasil didapatkan tujuh senyawa aktif *G. verrucosa* yang bisa menembus BBB yaitu *Dodecane*, *O-xylene*, *Benzaldehyde dimethyl acetal*, *Pentadecane*, *N-Phenethyl-acetamide*, *Eicosane* dan *11,14-Eicosadienoic acid*. Pada **tabel 5** dapat dilihat prediksi *unbound* menunjukkan hanya terdapat satu senyawa aktif yang mempunyai nilai *unbound* lebih dari kontrol yaitu *Oxacyclopent*.

Parameter farmakokinetik selanjutnya yang perlu diperhatikan adalah metabolisme dan ekskresi. Parameter metabolisme dilihat dari CYP2D6 dan CYP3A4, merupakan enzim yang berfungsi untuk proses metabolisme obat di dalam tubuh. Kedua enzim ini dipergunakan guna mengevaluasi kemampuan senyawa yang bisa menghambat sitokrom P450. Sitokrom P450 ialah enzim detoksifikasi didapati di hepar.¹⁹ Oleh sebab itu, diperlukan guna mengevaluasi kemampuan senyawa yang bisa menghambat sitokrom P450, sebab apabila enzim CYP2D6 dan CYP3A4 dihambat dapat

menyebabkan proses metabolisme obat dalam tubuh terganggu. Hasil prediksi metabolisme pada **tabel 5** menunjukkan hampir seluruh senyawa aktif *G. verrucosa* tidak memiliki potensi menghambat enzim CYP2D6 serta CYP3A4, kecuali senyawa 6,9,12-Octadecatrienoic acid memiliki sifat sebagai inhibitor CYP3A4. Senyawa ekstrak yang mempunyai potensi menghambat sitokrom CYP2D6 dan CYP3A4 dapat mempengaruhi interaksi obat nantinya bisa menurunkan efektivitas obat.

Selanjutnya obat dieliminasi dari tubuh melewati proses ekskresi. Penelitian dilakukan menunjukkan kemampuan ekskresi senyawa aktif *G. verrucosa* dapat dilihat bersumberkan parameter Total Clearance (CLTOT) yakni kecepatan ekskresi obat dari tubuh.⁷ Hasil pada **tabel 5** memperlihatkan bahwasanya delapan belas senyawa aktif memiliki nilai CLTOT lebih besar dibanding obat kontrol. Selain itu, melihat prediksi toksisitas menunjukkan terdapat lima senyawa aktif *G. verrucosa* terlihat mempunyai efek hepatotoksik yakni 6,9,12-Octadecatrienoic acid, Eicosanoic acid, Heneicosanoic acid, Tetracosanoic acid dan 15-Tetracosanoic acid. Suatu senyawa dapat dikatakan hepatotoksik jika memiliki potensi untuk menyebabkan efek patologis atau mengganggu fungsi hati.

KESIMPULAN

Hasil penelitian *Molecular Docking* ini menunjukkan :

1. Semua senyawa aktif *G. verrucosa* tidak memiliki potensi menghambat protein *Peptide Deformylase* (PDf). Hal ini dikarenakan senyawa aktif mempunyai nilai afinitas lebih buruk dibandingkan *Actinonin* dalam penambatan PDf *E. coli* dan PDf *S. aureus*.
2. Senyawa aktif *G. verrucosa* memiliki potensi untuk menghambat PDf *E. coli* adalah *Palatinol IC*.
3. Senyawa aktif *G. verrucosa* memiliki potensi untuk menghambat PDf *S. aureus* adalah *Palatinol IC*.
4. Senyawa aktif *G. verrucosa* dari hasil prediksi fisikokimia dan farmakokinetik memiliki potensi sebagai obat antibakteri.

SARAN

Guna menunjang penelitian yang telah dilakukan dibutuhkan peneliti menyarankan:

1. Perlu adanya penelitian lanjutan terhadap senyawa aktif *G. verrucosa* dengan mengisolasi senyawa *Palatinol IC* sebagai antitabakteri dapat teramati lebih baik.
2. Penelitian *Molecular Docking* senyawa aktif *G. verrucosa* mempunyai senyawa bioaktif lainnya yang perlu dikembangkan sebagai obat antibakteri.
3. Perlu dilakukannya pengukuran parameter konstanta inhibisi (Ki) untuk melihat kekuatan inhibitor protein target.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih peneliti sampaikan kepada IOM serta Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang, dan team penelitian sudah memberikan dukungan pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. CDC. Antibiotic Resistance Threats in The United States 2019. Cdc. 2019;10(1).
2. Kemenkes RI. Data dan Informasi Kesehatan Profil Kesehatan Indonesia 2016 [Internet]. 2017. Available from: <https://www.kemkes.go.id/article/view/17112200003/hati-hati-dengan-antibiotik.html>
3. Sukertiasih NK, Megawati F, Meriyani H, Sanjaya DA. Studi Retrospektif Gambaran Resistensi Bakteri terhadap Antibiotik. J Ilm Medicam. 2021;7(2):108–11.
4. Clements JM, Beckett RP, Brown A, Catlin G, Lobell M, Palan S, et al. Antibiotic activity and characterization of BB-3497, a novel peptide deformylase inhibitor. Antimicrob Agents Chemother. 2001;45(2):563–70.
5. Setyorini HB, Maria E. Analisis Kandungan Fitokimia Pada Berbagai Jenis Makroalga Di Pantai Jungwok, Kabupaten Gunungkidul, Yogyakarta. Saintek Perikan Indones J Fish Sci Technol. 2020;16(1):15–21.
6. Panjaitan RS, Simanjuntak YV, Sumantri S. Ekstrak Lemak *Gracilaria verrucosa* sebagai Antibakteri *Shigella dysenteriae* dan *Escherichia coli*. J Pascapanen dan Bioteknol Kelaut dan Perikan. 2020;15(1):13.
7. Pires DEV, Blundell TL, Ascher DB. pkCSM: Predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures. J Med Chem. 2015;58(9):4066–72.
8. Pinasthika Gp, Muhammad R, Airlangga H, Damayanti Ds, Kedokteran F, Islam U, Et Al. Potensi Senyawa Aktif Biji Kacang Tunggak (*Vigna unguiculata*) Sebagai Anti-Dislipidemia : Studi In Silico Potential Of Active Compounds Of Cowpea (*Vigna unguiculata*) As Anti-Dislipidemia : In Silico Study.
9. Octavia NI. Penentuan Sifat Fisikokimia Dan Aktivitas Sitotoksik Senyawa Gendarusin A-E Terhadap Reseptor Estrogen Alfa (2JF9) Pada Kanker Payudara In Silico. 2019;
10. Muttaqin FZ. Molecular Docking and Molecular Dynamic Studies of Stilbene Derivative Compounds As Sirtuin-3 (Sirt3) Histone Deacetylase Inhibitor on Melanoma Skin Cancer and Their Toxicities Prediction. J Pharmacopolium. 2019;2(2):112–21.
11. Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and

- development settings. *Adv Drug Deliv Rev.* 2012;64(SUPPL.):4–17.
12. Rina Bintari Y, Sri Damayanti D, Potensi Essential Oil Pogostemon Cablin Bent S, Kesehatan Islam J, Kunci K. Skrining Potensi Essential Oil Pogostemon Cablin Bent Secara In Silico dalam Penghambatannya terhadap ACE II dan TMPRSS2 sebagai Anti Covid-19. 2022;11. Available from: <https://pubchem>.
 13. Marinelli F, Genilloud O. Antimicrobials: New and old molecules in the fight against multi-resistant bacteria. *Antimicrob New Old Mol Fight Against Multi-Resistant Bact.* 2014;9783642399:1–364.
 14. Bintari YR, Risandiansyah R. In Silico Study to Assess Antibacterial Activity from *Cladophora* Sp. on Peptide Deformylase: Molecular Docking Approach. *Borneo J Pharm.* 2019;2(1):20–3.
 15. Sangshetti J, Khan FA, Shinde D. Peptide Deformylase: A New Target in Antibacterial, Antimalarial and Anticancer Drug Discovery. *Curr Med Chem.* 2014;22(2):214–36.
 16. Hernick M, Fierke C. Mechanisms of metal-dependent hydrolases in metabolism. *Compr Nat Prod II Chem Biol.* 2010;8:547–81.
 17. Purnomo RY, Hakim R, Damayanti DS. Potensi Antimalaria Senyawa Azadiractin, Gedunin, dan Nimbolide dalam Mengikat PfATP6 dan Menghambat Lactate Dehydrogenase : Studi In Silico. *Fak Kedokt Univ Islam Malang* [Internet]. 2015;199–204. Available from: 4813-12796-1-PB.pdf
 18. Lee SJ, Lee SJ, Lee SK, Yoon HJ, Lee HH, Kim KK, et al. Structures of *Staphylococcus aureus* peptide deformylase in complex with two classes of new inhibitors. *Acta Crystallogr Sect D Biol Crystallogr.* 2012;68(7):784–93.
 19. S. Hardjono. Prediksi Sifat Farmakokinetik, Toksisitas dan Aktivitas Sitotoksik Turunan N-Benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea sebagai Calon Obat Antikanker melalui Pemodelan Molekul (Prediction of Pharmacokinetic Properties, Toxicity and Derivatives as Anticancer Drugs Candidate through Molecular Modeling) SUKO HARDJONO. *J Ilmu Kefarmasian Indones* [Internet]. 2015;14(2):246–55. Available from: <https://cactus.nci>.
 20. Haris Hartono. Studi In Silico: Potensi Antibakteri Senyawa Aktif *Gracilaria verucosa* terhadap *Staphylococcus aureus*. *Progr Stud Kedokt Fak Kedokt Univ Islam MALANG.* 2021;