

**SCREENING DAN DOCKING MOLEKULER SENYAWA AKTIF BUAH
PARE GOLONGAN FLAVONOID TERHADAP POTENSI
ANTIBAKTERI *Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

Oleh:
MUHAMMAD ROFIQHUR ROZZAQ
NIM. 18630085



**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2022**

**SCREENING DAN DOCKING MOLEKULER SENYAWA AKTIF BUAH
PARE GOLONGAN FLAVONOID TERHADAP POTENSI
ANTIBAKTERI *Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

Oleh:

**MUHAMMAD ROFIQHUR ROZZAQ
NIM. 18630085**

**Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2022**

**SCREENING DAN DOCKING MOLEKULER SENYAWA AKTIF BUAH
PARE GOLONGAN FLAVONOID TERHADAP POTENSI
ANTIBAKTERI *Staphylococcus aureus***

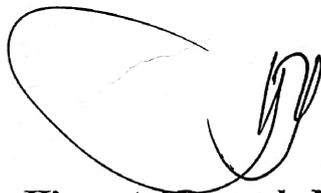
SKRIPSI

Oleh:

**MUHAMMAD ROFIQHUR ROZZAQ
NIM. 18630085**

**Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 14 Desember 2022**

Pembimbing I



**Himmatul Baroroh, M.Si
NIP. 19750730 200312 2 001**

Pembimbing II



**A. Ghanaim Fasya, M.Si
NIP. 19820616 200604 1 002**

**Mengesahkan
Ketua Program Studi**



**Rachmawati Ningsih, M.Si
NIP. 19810811 200801 2 010**

**SCREENING DAN DOCKING MOLEKULER SENYAWA AKTIF BUAH
PARE GOLONGAN FLAVONOID TERHADAP POTENSI
ANTIBAKTERI *Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

Oleh:

**MUHAMMAD ROFIQHUR ROZZAQ
NIM. 18630085**

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan
Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan untuk
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal : 14 Desember 2022**

**Penguji
Utama : Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002**

(.....
.....
.....)

**Ketua
Penguji : Lilik Miftahul Khoiroh, M.Si
NIP. 19831226 20190201 2 008**

(.....
.....
.....)

**Sekretaris
Penguji : Himmatul Baroroh, M.Si
NIP. 19750730 200312 2 001**

(.....
.....
.....)

**Anggota
Penguji : A. Ghanaim Fasya, M.Si
NIP. 19820616 200604 1 002**

(.....
.....
.....)

**Mengetahui,
Ketua Program Studi**


**Rachmawati Ningsih, M.Si
NIP. 19810811200801 2 010**

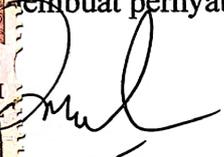
PERNYATAAN ORISINALITAS PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Muhammad Rofiqhur Rozzaq
NIM : 18630085
Program Studi : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : *Screening dan Docking* Molekuler Senyawa Aktif Buah Pare Golongan Flavonoid Terhadap Potensi Antibakteri *Staphylococcus aureus*

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi ini merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya, kecuali dengan mencantumkan sumber kutipan pada daftar pustaka, Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia mempertanggungjawabkan sesuai peraturan yang berlaku.

Malang, 14 Desember 2022

Membuat pernyataan,

Muhammad Rofiqhur Rozzaq
NIM. 18630085



HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirabbil' alamin dengan mengucapkan syukur kepada Allah Swt. Saya persembahkan skripsi ini kepada:

1. Ir. H. Joko Widodo, penulis ucapkan terimakasih kepada bapak presiden yang telah memotivasi penulis untuk berusaha agar bisa memajukan bangsa Indonesia. Penulis sangat bangga memiliki pemimpin yang luar biasa seperti bapak Joko Widodo.
2. Ayah, Ibu, adik dan paman alm. Gunawan yang telah memberikan semua doa, support, serta semua pengorbanan yang tiada henti-hentinya mengalir untuk mengantarkan penulis menjadi orang yang berpendidikan dan mengerti arti perjuangan dalam kehidupan.
3. Bapak dan Ibu dosen Kimia UIN Malang, terkhusus untuk pembimbing, Ibu Himmatul Baroroh dan Bapak Ghanaim Fasya yang bersedia membimbing, memberikan petunjuk dan arahan serta beberapa patah kata wejangan, sehingga menuntaskan karya ini. Kepadaanya penulis ucapkan beribu banyak terimakasih.
4. Kepada penguji Ibu Elok Kamilah Hayati dan Ibu Lilik Miftahul Khoiroh, penulis mengucapkan banyak terimakasih telah memberikan banyak masukan hingga terwujudnya karya yang lebih baik dan sempurna.
5. Terakhir penulis ucapkan terimakasih kepada teman-teman yang telah membantu dalam menjalani penelitian, terkhusus Saidun Fiddaroini, S.Si yang sudah banyak membantu penulis sejak maba sampai mendapatkan gelar S.Si, kemudian SM (Arief, Zaki, Qiqi, Mpit, Santi), TOD (Sapek, Apis, Bila, Jalu), kontrakan Dau (Faza, David, Ridho), kontrakan Gasek (Masodi, Ali, Prof), Komputasi 18 (Ipe, Safira, Argo, Yadi, Afaw) dan seluruh teman-teman kelas A18 dan Kripton yang tidak mampu penulis ucapkan satu-persatu. Semoga kesuksesan selalu menyertai kalian.

MOTTO

“Kita masih pioneer, pencapaian terbesar kita tidak mungkin ada di masa lalu
karena takdir kita ada di masa depan“

(Cooper, Interstellar)

“Tuhan punya rencana untuk setiap manusia”

(Noah, Dark Netflix)

“Ketakutan adalah musuh terburuk dari kemajuan”

(Noah, Dark Netflix)

“Pada akhirnya kita semua akan mendapatkan apa yang pantas kita dapatkan”

(Adam, Dark Netflix)

“Selesaikan skripsimu, agar tidak bayar SPP”

(Ibuku)

KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Syukur alhamdulillah ke hadirat Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat serta Hidayah-nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul “*Screening dan Docking Molekuler Senyawa Aktif Buah Pare Golongan Flavonoid Terhadap Potensi Antibakteri Staphylococcus aureus.*”

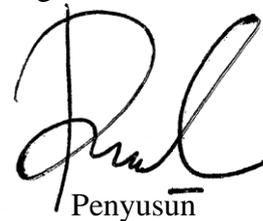
Skripsi ini disusun untuk memenuhi syarat melakukan penelitian guna mendapatkan gelar sarjana sains. Penulis sadar bahwa masih banyak kesalahan dan kekurangan yang tidak lain disebabkan oleh keterbatasan pengetahuan penulis. Sehingga penulis memohon maaf yang sebesar-besarnya jika dalam skripsi yang telah disusun terdapat banyak kesalahan dan kekurangan. Ucapan terima kasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Zainuddin, MA selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Ibu Dr. Sri Harini, M.Si., selaku Dekan Fakultas Sains serta Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si, selaku ketua Program Studi Kimia Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Himmatul Baroroh, M.Si selaku dosen pembimbing utama yang telah membimbing, memotivasi, dan mengarahkan penulis.
5. Bapak A. Ghanaim Fasya, M.Si selaku dosen pembimbing agama yang telah membimbing, memotivasi, dan mengarahkan penulis.
6. Ibu Susi Nurul Khalifah, M.Si selaku dosen wali yang telah memberikan *support* dan motivasi untuk selalu berkembang.
7. Seluruh dosen jurusan kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang memberikan ilmu, pengetahuan, pengalaman, dan wawasan kepada penulis.
8. Orang tua penulis, serta segenap anggota keluarga penulis yang telah banyak memberikan perhatian, nasihat, doa, dan dukungan baik moril maupun materil yang tak mungkin terbalaskan.

9. Teman-teman kimia 2018, khususnya kimia A 2018 dan semua teman yang telah membantu dalam menyelesaikan skripsi ini.
10. Seluruh pihak yang berkontribusi dalam penulisan skripsi ini yang penulis tidak mampu menyebutkan satu per satu.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan. Penulis hanya berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat kepada para pembaca khususnya penulis secara pribadi. *Amin Yaa Robbal Alamin*

Malang, 14 Desember 2022



Penyusun

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN ORISINALITAS PENELITIAN.....	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
MOTTO	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR PERSAMAAN.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN	xvi
ABSTRAK	xvii
ABSTRACT	xviii
المخلص.....	xix
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	6
1.3 Tujuan	6
1.4 Batasan Masalah	6
1.5 Manfaat Penelitian	7
1.6 Hipotesis	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	8
2.2 MRSA	9
2.3 <i>Cefotaxime</i>	11
2.4 Tanaman Pare (<i>Momordica charantia</i> L.)	11
2.5 Flavonoid	14
2.6 Protein dan Asam Amino.....	16
2.7 Penambatan Molekul (<i>Molecular Docking</i>).....	18
2.8 Interaksi Protein-Ligan	21
2.9 Database Pendukung Perangkat Lunak.....	26
2.9.1 Bank Data Protein (Protein Data Bank)	26
2.9.2 Pubchem	26
2.9.3 SwissADME.....	27
2.9.4 PASSOnline	27
2.10 Perangkat Lunak	28
2.10.1 AutoDock.....	28
2.10.2 Discovery studio	29
2.10.3 Open Babel	30
BAB III METODE PENELITIAN	31
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	31

3.2	Alat dan Bahan.....	31
3.2.1	Alat.....	31
3.2.2	Bahan.....	31
3.2.2.1	Struktur Tiga Dimensi PBP3 <i>Staphylococcus aureus</i>	31
3.2.2.2	Struktur Tiga Dimensi Ligan.....	32
3.3	Rancangan Penelitian.....	32
3.4	Tahapan Penelitian.....	33
3.5	Langkah Kerja.....	34
3.5.1	Redocking (Penambatan Ulang).....	34
3.5.2	Docking	35
3.5.2.1	Preparasi Struktur Molekul Ligan (senyawa golongan flavonol)	35
3.5.2.2	Preparasi Protein Reseptor	35
3.5.2.3	Penambatan Molekul dengan Autodock.....	37
3.5.2.3.1	Pembentukan File GLG.....	37
3.5.2.3.2	Pembentukan File DPF.....	37
3.5.2.3.3	Pembentukan File DLG.....	38
3.5.3	Optimasi Konformasi Terpilih Hasil Docking	38
3.5.4	Uji Kemiripan Obat menggunakan SwissADME	39
3.5.5	Prediksi menggunakan PASSOnline (Prediction of Activity Spectra for Substances)	39
3.5.6	Analisis Data Visualisasi Hasil Docking	39
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN	41
4.1	<i>Redocking</i> (Penambatan Ulang)	41
4.2	Preparasi Struktur Molekul ligan (Senyawa Golongan Flavonol).....	46
4.3	Preparasi Struktur Ligan	48
4.4	Penambatan Molekul dengan Autodock4	50
4.5	Optimasi Molekul Hasil <i>Docking</i>	54
4.6	Analisis dan Visualisasi Hasil <i>Docking</i>	55
4.7	Hasil Uji Kemiripan Obat dan Sifat Fisikokimia dengan Parameter ADME (Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Ekskresi).....	62
4.8	PASS Online (<i>Prediction of activity Spectra for Substances</i>).....	65
BAB V	PENUTUP.....	69
5.1	Kesimpulan	69
5.2	Saran	69
DAFTAR PUSTAKA		70
LAMPIRAN.....		78

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Hasil <i>redocking</i> PBP3 dengan ligan natif	41
Tabel 4.2 Data perbandingan residu <i>Cefotaxime Redocking</i>	42
Tabel 4.3 Data residu reseptor PBP3 yang berinteraksi dengan <i>cefotaxime</i>	44
Tabel 4.4 Daftar ligan yang ditambahkan pada makromolekul (Pubchem)	49
Tabel 4.5 Data torsi aktif ligan <i>docking</i>	50
Tabel 4.6 Data nilai ΔG_{bind} dan residu protein PBP3 yang terdeteksi berinteraksi dengan ligan pada Discovery Studio setelah <i>Docking</i>	53
Tabel 4.7 hasil energi interaksi R-L golongan flavonoid menggunakan YASARA	55
Tabel 4.8 Data nilai ΔG_{bind} dan residu protein PBP3 yang terdeteksi berinteraksi dengan ligan pada discovery studio (DS) sesudah teroptimasi	56
Tabel 4.9 Nilai Sifat Fisikokimia dengan Parameter ADME	63
Tabel 4.10 Nilai Pa dan Pi dengan Parameter PassOnline	66

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	9
Gambar 2.2 Bakteri Methicilin-Resistant <i>Staphylococcus aureus</i>	10
Gambar 2.3 Struktur Flavonoid	14
Gambar 2.4 Hubungan struktural antara asam amino, peptide dan protein	17
Gambar 2.5 Nonpolar, kelompok R alifatik.....	17
Gambar 2.6 Polar, kelompok R tidak bermuatan.....	18
Gambar 2.7 Kelompok R aromatik	18
Gambar 2.8 Kelompok R bermuatan positif	18
Gambar 2.9 Kelompok R bermuatan negatif	18
Gambar 2.10 Skema <i>docking</i> molekul	19
Gambar 3.1 Nilai <i>grid box cefotaxime</i>	35
Gambar 4.1 Visualisasi interaksi <i>cefotaxime redocking</i> dengan asam amino PBP3.....	43
Gambar 4.2 Visualisasi 3D interaksi <i>cefotaxime redocking</i> dengan residu-residu reseptor PBP3	44
Gambar 4.3 Perbandingan posisi antara <i>cefotaxime</i> asli (hijau) dan <i>cefotaxime redocking</i> (ungu)	45
Gambar 4.4 Visualisasi posisi dan kesesuaian ruang ligan rutin dan quercitrin...	61
Gambar 4.7 Visualisasi posisi dan kesesuaian ruang ligan Galangin (hijau), dan ligan uji Flavonoid lainnya (krim).....	61

DAFTAR PERSAMAAN

Persamaan 2.1 Perhitungan nilai ΔG	23
Persamaan 2.2 Penjabaran rumusan evaluasi (V)	24
Persamaan 2.3 Entropi torsional	24

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Struktur 3D PBP3 <i>Staphylococcus aureus</i>	78
Lampiran 2 Struktur 3D <i>Cefotaxime</i>	79
Lampiran 3 Rancangan Penelitian	80
Lampiran 4 Diagram Alir.....	81
Lampiran 5 Struktur 3D ligan uji	86
Lampiran 6 Data Hasil Optimasi YASARA	89
Lampiran 7 Data Hasil <i>Docking</i> Autodock4.2	90
Lampiran 8 Definisi warna pada hasil visualisasi Autodock dan Pymol.....	95
Lampiran 9 Visualisasi Interaksi Ligan Flavonoid	96

DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN

Istilah	Arti
<i>Binding Site</i>	Daerah pada protein/reseptor yang menjadi target penambatan
<i>Docking</i>	Metode yang digunakan untuk memprediksi penambatan antara ligan dan reseptor
<i>Reseptor</i>	Penerima molekul, sebagian besar merupakan protein atau biopolimer lain
<i>Pose</i>	Kandidat bentuk pengikatan
Ligan	Molekul partner komplementer yang akan berikatan dengan reseptor
<i>Scoring</i>	Proses evaluasi pose dengan menghitung interaksi molekular, seperti ikatan hidrogen dan kontak hidrofobik
<i>Δg_{bind}</i>	Energi yang dibutuhkan ligan untuk berinteraksi (ikatan) dengan reseptor pada <i>binding site</i>
PDB	Protein Data Bank, data protein yang akan di <i>docking</i> dengan senyawa/ligan
RMSD	<i>Root Mean Square Deviation</i>
PBP3	<i>Penicilin Binding Protein 3</i> bagian dari <i>Staphylococcus aureus</i> yang bersifat resisten terhadap antibiotik β -lactam
<i>Grid box</i>	Visualisasi posisi dan kesesuaian ruang ligan Flavonoid
<i>Kkal/mol</i>	Visualisasi posisi dan kesesuaian ruang ligan Flavonoid

ABSTRAK

Rozzaq, M.R. 2022. **Screening dan Docking Molekuler Senyawa Aktif Buah Pare Golongan Flavonoid Terhadap Potensi Antibakteri *Staphylococcus aureus***. Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Himmatul Barroroh, M.Si; Pembimbing II; A. Ghanaim Fasya, M.Si.

Kata kunci: Bakteri, *Momordica charantia L*, *Staphylococcus aureus*, Penambatan Molekul

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan penyebab penyakit sindroma syok toksik, jerawat, impetigo dan infeksi luka. Pare (*Momordica charantia L.*) secara umum digunakan masyarakat sebagai pengobatan herbal karena diketahui mengandung senyawa-senyawa aktif berupa flavonoid yang dapat berperan sebagai antibakteri. Salah satu reseptor yang menjadi target pengobatan bakteri yaitu PBP3 *Staphylococcus aureus* yang bertanggung jawab atas 80% penyakit supuratif dengan permukaan kulit sebagai habitat alaminya.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu penambatan molekul (*molecular docking*) golongan Flavonoid sebagai ligan dengan PBP3 *Staphylococcus aureus* sebagai reseptor target. Interaksi diamati menggunakan perangkat lunak Autodock4.2. Hasil *docking* divisualisasikan menggunakan AutodockTools, Discovery Studio, YASARA, dan Pymol.

Penelitian ini menggunakan *cefotaxime* sebagai referensi obat bagi hasil *docking* senyawa flavonoid. Hasil *cefotaxime redocking* menunjukkan nilai energi ikatan *cefotaxime* -8.79 kkal/mol dan nilai RMSD 2,3 Å. Sedangkan senyawa flavonoid memiliki nilai energi ikatan -6,98 hingga -11,12 kkal/mol. Nilai energi ikatan senyawa rutin dan quercitrin lebih rendah dari *cefotaxime*. Residu asam amino PBP3 yang berinteraksi dengan rutin dan quercitrin memiliki interaksi yang sama dengan *cefotaxime* karena berada pada posisi yang mirip. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa flavonoid berpotensi sebagai senyawa antibakteri karena nilai energi ikatan mendekati nilai energi ikatan *cefotaxime*.

ABSTRACT

Rozzaq, M.R. 2022. **Screening and Docking of Active Molecular Compounds of Pare Flavonoid Group Against Antibacterial Potential of *Staphylococcus aureus***. Chemistry Study Program, Faculty of Science and Technology, UIN Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor I: Himmatul Barroroh, M.Si; Supervisor II; A. Ghanaim Fasya, M.Si.

Keywords: Bacteria, *Momordica charantia L*, *Staphylococcus aureus*, Molecular Docking

Staphylococcus aureus bacteria is a cause of toxic shock syndrome, acne, impetigo and wound infections. Bitter melon (*Momordica charantia L.*) is generally used by the community as herbal medicine because it is known to contain active compounds in the form of flavonoids which can act as antibacterial. One of the receptors that is the target of bacterial treatment is PBP3 *Staphylococcus aureus* which is responsible for 80% of suppurative diseases with the skin surface as its natural habitat.

The method used in this study was molecular docking of the Flavonoid group as a ligand with PBP3 *Staphylococcus aureus* as the target receptor. Interactions were observed using Autodock4.2 software. Docking results were visualized using AutodockTools, Discovery Studio, YASARA, and Pymol.

This study used cefotaxime as a reference drug for the results of docking of flavonoid compounds. The results of cefotaxime redocking showed a bond energy value of cefotaxime -8.79 kcal/mol and an RMSD value of 2.3 Å. Meanwhile, flavonoid compounds have a bond energy value of -6.98 to -11.12 kcal/mol. The binding energy value of rutin and quercitrin is lower than cefotaxime. The PBP3 amino acid residue that interacts with rutin and quercitrin has the same interaction with cefotaxime because it is in a similar position. This shows that flavonoid compounds have the potential as antibacterial compounds because the bond energy value is close to the bond energy value of cefotaxime.

المخلص

الرزاق، محمد رفقور. 2022. الفحص الجزيئي ورسو المركبات النشطة من فاكهة القرع المر مجموعة الفلافونويد ضد المكوّرات العنقودية الذهبية المحتملة المضادة للبكتيريا. بحث علمي. قسم الكيمياء بكلية العلوم و التكنولوجيا بجامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرفة الأولى: همة البرارة، الماجستير؛ المشرف الثاني: أحمد غنائم فشى، الماجستير.

الكلمات المفتاحية: فمورديكا تشارانتيا L، البكتيريا، المكوّرات العنقودية الذهبية، المرسي الجزيئي

تعدُّ بكتيريا *Staphylococcus aureus* سببًا لمتلازمة الصدمة التسممية وحب الشباب والقوباء والثآليل الجروح. يستخدم القرع المر (*Momordica charantia L.*) عمومًا من قبل المجتمع كدواء عشبي لأنه من المعروف أن يحتوي على مركبات نشطة في شكل مركبات الفلافونويد التي يمكن أن تعمل كمضاد للبكتيريا. أخذ المستقلبات المستهدفة للعلاج البكتيري هو *Staphylococcus aureus* PBP3 وهو مسؤول عن ٨٠٪ من الأمراض الفيجية مع كون الجلد موطنه الطبيعي.

الطريقة المستخدمة في هذا البحث هي المرسي الجزيئي لمجموعة الفلافونويد (*molecular docking*) على شكل رابطة مع *Staphylococcus aureus* PBP3 كمستقبل مستهدف. لوحظت التفاعلات باستخدام أداة Autodock4.2. تم تصوّر نتائج الإرساء باستخدام AutodockTools و Discovery Studio و YASARA و Pymol.

استخدم هذا البحث سيفوتاكسيم كدواء مرجعي لنتائج المرسي بمركبات الفلافونويد. أظهرت نتائج إعادة تخزين سيفوتاكسيم قيمة طاقة رابطة سيفوتاكسيم -٨.٧٩ كيلوكالوري / مول وقيمة 2.3 \AA RMSD. وفي الوقت نفسه، تحتوي مركبات الفلافونويد على قيمة طاقة رابطة من -٦.٩٨ إلى -١١.١٢ كيلوكالوري / مول. قيمة الطاقة الملزمة لروتين وكيرسيتين أقل من سيفوتاكسيم. بقايا الأحماض الأمينية PBP3 التي تتفاعل مع روتين وكيرسيتها نفس التفاعل مع سيفوتاكسيم لأنها في وضع مماثل. يوضح هذا أن مركبات الفلافونويد لها القدرة على أن تكون مركبات مضادة للبكتيريا لأن قيمة طاقة الرابطة قريبة من قيمة طاقة الرابطة لسيفوتاكسيم.

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif yang dapat menginfeksi manusia. Infeksi ini dapat menyebabkan pneumonia, luka, radang paru-paru, dan endokarditis atau sepsis (Angelica 2013). Bakteri ini dapat bertahan hidup di lingkungan yang asin. *Staphylococcus aureus* mudah berkembang biak karena dapat tumbuh pada suhu optimal sekitar 30°C (Mustika 2018). Variasi dari tingkat keparahan infeksi, mulai dari infeksi minor di kulit (furunkulosis dan impetigo), infeksi traktus urinarius, infeksi traktus respiratorius, sampai infeksi pada mata dan *Central Nervous System* (CNS) (Hedblom et al., 2011). Diperkirakan 50% individu dewasa merupakan carrier *Staphylococcus aureus*, akan tetapi keberadaan *Staphylococcus aureus* pada saluran pernapasan atas dan kulit pada individu sehat jarang menyebabkan penyakit. Infeksi serius dari *Staphylococcus aureus* dapat terjadi ketika sistem imun melemah yang disebabkan oleh perubahan hormon, penyakit, luka, penggunaan steroid atau obat lain yang mempengaruhi imunitas (Wikansari et al., 2012). Berbagai akibat yang ditimbulkan dari bakteri tersebut, maka dibutuhkan penanganan berupa pengobatan untuk menanggulangi akibat yang ditimbulkan.

Pengobatan *Staphylococcus aureus* dapat menggunakan golongan penisilin, golongan sefalosporin, vankomisin, dan eritromisin. Beberapa galur dari *Staphylococcus aureus* menghasilkan enzim penisilinase sehingga resisten terhadap golongan obat penisilin. Bakteri yang sudah resisten tersebut masih resisten terhadap golongan penisilin yang tahan terhadap enzim penisilinase, misalnya

metisilin dan oksasilin. Meskipun demikian, juga telah dikenal galur *Staphylococcus* yang resisten terhadap metisilin yang disebut *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) (Dzen et al., 2003). Pengobatan *Staphylococcus aureus* juga dapat diatasi dengan menggunakan obat-obat herbal dari tumbuhan yang memiliki lebih sedikit efek samping dan tidak membutuhkan biaya yang tinggi.

Tanda-tanda kebesaran dan kekuasaan Allah SWT ditunjukkan dengan diciptakannya berbagai macam tumbuhan-tumbuhan. Keanekaragaman tumbuhan ini banyak sekali nilai manfaat yang dapat diperoleh manusia. Namun masih banyak tumbuhan-tumbuhan yang belum diketahui manfaatnya. Berkah dan nikmat Allah SWT yang berupa berbagai macam tumbuhan yang diberikan kepada seluruh makhluknya. Sebagaimana firman Allah SWT dalam QS. Asy- syu'ara (26) ayat 7.

﴿ ٧ ﴾ كَرِيمٌ زَوْجٍ كُلِّ مِنْ فِيهَا أَنْبَتْنَا كَمْ الْأَرْضِ إِلَى يَرَوْا أَوْمَ

Artinya: “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?”

Dalam *Tafsir Al-Misbah* (2002) kata *zauj* diartikan sebagai sesuatu yang berpasangan. Maksud dari kata berpasangan dalam ayat ini adalah pasangan tumbuh-tumbuhan. Sedangkan kata *kariim* menunjukkan arti yang mulia/baik dalam segi bentuk, zat, dampak dan nilainya. Dalam tafsir *Muyassar*, apakah mereka mendustakan padahal mereka belum melihat kepada bumi di mana Kami menumbuhkan padanya segala bentuk tanaman yang indah lagi berguna, di mana tidak ada yang mampu menumbuhkannya kecuali Rabb semesta alam? Dalam tafsir *Jalalain*, (Dan apakah mereka tidak memperhatikan) maksudnya tidak memikirkan

tentang (bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu) alangkah banyaknya (dari bermacam-macam tumbuh-tumbuhan yang baik) jenisnya? Ayat tersebut menjelaskan kebesaran Allah SWT dengan menumbuhkan berbagai macam tumbuhan yang banyak sekali manfaat serta memiliki banyak jenis warna dan rasa dengan tidak sia-sia. Salah satu manfaat yang dimaksudkan dalam tafsir tersebut merupakan manusia dapat mengolah tumbuhan-tumbuhan tersebut menjadi obat dengan mengetahui kandungan/ zat aktif di dalam tumbuhan tersebut.

Salah satu jenis tumbuhan yang banyak digunakan sebagai obat herbal adalah tanaman pare (*Momordica charantia* L.). Tanaman ini digunakan sebagai tanaman pangan dan bahan obat tradisional yang harganya relatif murah (Sayoeti, 2015). Laianto (2013) menyatakan bahwa Konsentrasi Hambatan Minimum (KHM) ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) yaitu 7,5% memberikan efektivitas antibakteri paling baik terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis* dengan nilai zona hambat masing-masing sebesar 6,444 mm dan 6 mm. Rachmawati et al., (2015) menunjukkan bahwa buah pare (*Momordica charantia* L.) memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* menggunakan metode ekstrak etanol pada media pembedihan difusi dengan berbagai konsentrasi yaitu 25%, 50%, 75%, dan 100%. Susanto et al., (2018) menyatakan bahwa pada konsentrasi terendah yaitu 25% kombinasi perasan sawo dan pare dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* secara *in vivo* pada usus halus tikus. Berdasarkan penelitian tersebut, dapat diketahui bahwa tanaman pare memiliki beberapa senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

Pare mengandung banyak senyawa kimia, di antaranya flavonoids merupakan salah satu senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri (Rosyad, 2012). *Momordica charantia L.* mengandung flavonoid yang terdiri dari golongan flavonol (quercetin, myricetin, morin, galangin, entadanin, rutin, Piliostigmol, dan turunannya), yang mana flavonoid ini memiliki kemampuan antibakteri yang kuat (Farhadi et al., 2018). Dalam penelitian lain juga disebutkan *Momordica Charantia* mengandung flavonoid terdiri dari kelas flavonol yaitu quercetin, myricetin, morin, galangin, entadanin, rutin, piliostigmol, dan turunannya (Gultom, R et al., 2020). Flavonoid memiliki kemampuan antibakteri dengan cara menghambat sintesis DNA, merusak fungsi membran plasma sel dan menghambat transfer energi yang diperlukan untuk metabolisme bakteri, sedangkan alkaloid dapat menghancurkan peptidoglikan sel bakteri, sehingga pembentukan dinding sel tidak sempurna dan mengakibatkan kematian sel (Zaini dan Shufiyani, 2017). Nugraha et al., (2017) menunjukkan hasil uji antibakteri isolat flavonoid daun mangga menghasilkan diameter zona hambat yang lebih besar daripada ekstrak etanol daun mangga terhadap bakteri *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Hal ini menunjukkan bahwa yang berperan aktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri adalah flavonoid.

Pengujian awal antibakteri dari kelompok flavonoid dapat dilakukan secara komputasi. Target pengujian merupakan reseptor *Penicillin-Binding Protein 3* (PBP3) dari *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA)* yang merupakan bagian dari *Staphylococcus aureus* yang bersifat resisten terhadap antibiotik β -lactam, terutama methicillin. Infeksi MRSA adalah salah satu penyebab utama infeksi yang didapat di rumah sakit dan telah dikaitkan dengan peningkatan

morbiditas, mortalitas, lama rawat inap, dan beban biaya yang signifikan (Ridgway et al., 2013).

Mekanisme interaksi antara *Staphylococcus aureus* dan senyawa kelompok flavonoid ini dapat diteliti dengan metode penambatan molekul (molecular *docking*) yang merupakan sistem komputasi pada skrining biologi. Kelebihan penggunaan metode penambatan molekul umum digunakan karena waktu penelitian yang lebih efisien, lebih cepat dan biaya yang relatif murah dibandingkan dengan *in vitro* dan *in vivo*. Metode ini akan mencari nilai, peringkat, atau menyaring seperangkat struktur data secara komputasi (Leach et al., 2006). Wardaniati et al., (2018) melakukan *docking* molekul senyawa turunan flavonoid sebagai inhibitor yang memiliki aktivitas potensi antibakteri menggunakan Autodock Vina. Sementara itu Alfiah (2016) juga menambatkan senyawa-senyawa flavonoid daun pepaya gunung pada bakteri *Salmonella Typhi* menggunakan aplikasi yang sama. Hasil dari penelitian-penelitian tersebut adalah nilai ΔG (*binding affinity energy*) yang merupakan kemampuan ligan/obat untuk berikatan dengan reseptor. Ketika nilai ΔG yang dihasilkan semakin minus dapat dipastikan ikatan antara reseptor dan ligan dipastikan dapat terjadi (Saputri et al., 2016).

Berdasarkan uraian diatas, penelitian ini akan dilakukan penambatan molekul senyawa – senyawa aktif dari tanaman pare yaitu flavonoid (quercetin, kaempferol, rutin, myricetin, morin, galangin, quercitrin, cyanidin, naringenin, dan epicatechin) sebagai ligan untuk reseptor PBP3. Penambatan molekul pada penelitian ini menggunakan perangkat lunak Autodock 4.2 sebagai perangkat visualisasi.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana pose dan kesesuaian ruang senyawa aktif buah pare (*Momordica charantia L.*) pada situs aktif pengikatan cefotaxime PBP3 yang ditambatkan pada reseptor *Staphylococcus aureus*?
2. Bagaimana model dan energi interaksi penambatan molekul ligan senyawa aktif dari buah pare (*Momordica charantia L.*) yang berpotensi sebagai antibakteri pada *Staphylococcus aureus*.

1.3 Tujuan

1. Membuktikan bahwa senyawa aktif dari buah pare (*Momordica charantia L.*) memiliki interaksi terhadap reseptor *Staphylococcus aureus*.
2. Mendapatkan model interaksi penambatan molekul ligan senyawa aktif dari buah pare (*Momordica charantia L.*) pada *Staphylococcus aureus*.

1.4 Batasan Masalah

1. Senyawa aktif buah pare yang dianalisis yaitu Flavonoid (quercetin, kaempferol, rutin, myricetin, morin, galangin, quercitrin, cyanidin, naringenin, dan epicatechin) yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri.
2. Ligan obat referensi yang digunakan adalah *cefotaxime*.
3. Perangkat lunak yang digunakan untuk *docking* yaitu Autodock, Open Babel, Discovery Studio 2021, YASARA, dan Pymol.
4. Parameter uji hasil penambatan molekul yaitu nilai ΔG_{bind} dan interaksi ligan dengan molekul protein.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah membantu para peneliti dalam merancang obat antibakteri baru.

1.6 Hipotesis

Senyawa aktif dari buah pare (*Momordica charantia* L.) yaitu Flavonoid (quercetin, kaempferol, rutin, myricetin, morin, galangin, quercitrin, cyanidin, naringenin, dan epicatechin) memiliki interaksi ligan-protein jika ditambahkan pada reseptor *Staphylococcus aureus*.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Staphylococcus aureus*

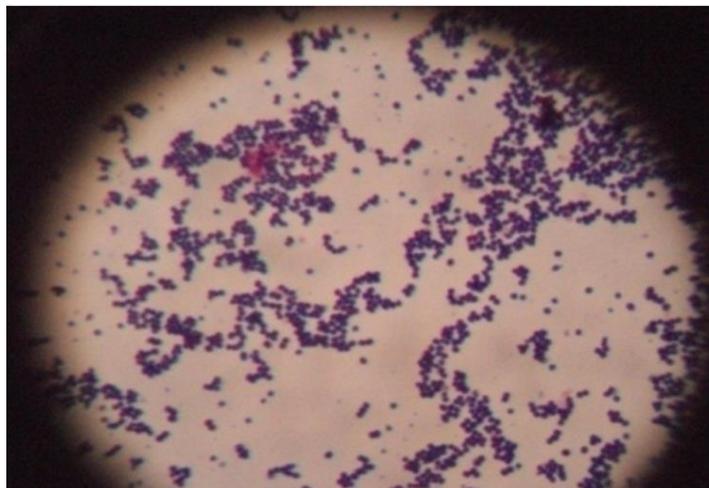
Staphylococcus aureus adalah bakteri anaerob fakultatif. Bakteri anaerob fakultatif ini tumbuh dalam suhu optimum 37 °C, namun membentuk pigmen terbaik dalam suhu kamar (20-25 °C). Koloni dalam media padat berwarna abu-abu hingga kuning keemasan, bulat, halus, menonjol dan mengkilat. Berdasarkan 90% isolat klinis membentuk *Staphylococcus aureus*, yang mempunyai kapsul polisakarida yang berperan pada bakteri virulen (Jawetz et al., 2008). Pada lempeng agar, koloni berbentuk bundar, berdiameter 1-2 mm, cembung, buram, berkilap, dan bertekstur lembut. Pada lempeng agar darah, koloni umumnya lebih besar, dan pada beberapa spesies, koloni dilingkupi oleh zona hemolitik (Syahrurahman et al., 2010).

Menurut Syahrurahman et al., (2010) klasifikasi *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut:

Domain : *Bacteria*
Kingdom : *Eubacteria*
Ordo : *Eubacteriales*
Famili : *Micrococcaceae*
Genus : *Staphylococcus*
Spesies : *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus adalah bakteri gram positif dengan diameter 0,7-1,2 µm, tersusun dalam kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, merupakan anaerob fakultatif yang tidak menghasilkan spora dan tidak bergerak. Maka, *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu jenis bakteri yang paling resisten. Pada agar miring dapat disimpan di lemari es dan pada suhu kamar

selama beberapa bulan. Dalam keadaan kering, dapat bertahan 6-14 minggu di benang, kertas, kain, dan nanah (Syahrurahman et al., 2010).



Gambar 2.1 *Staphylococcus aureus* (Toelle dan Lenda., 2014)

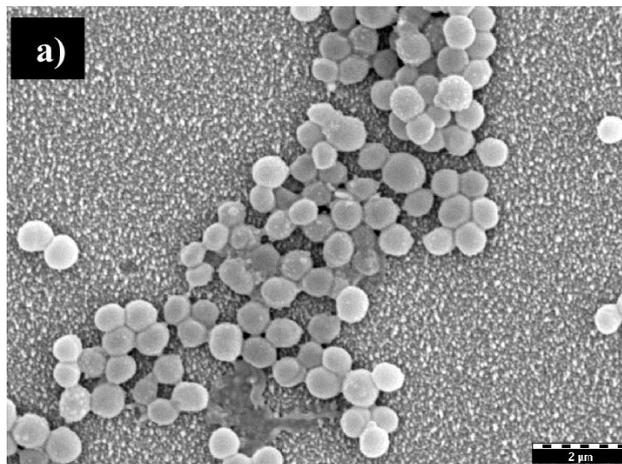
2.2 MRSA

MRSA adalah bakteri *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap antibiotik penisilin semisintesis (Wang, 2007). MRSA telah dianggap sebagai salah satu organisme utama penyebab infeksi nosokomial sejak dilaporkan pada tahun 1961 (Simor et al., 2016; Chambers, 2009).

Lebih dari 80% strain *Staphylococcus aureus* menghasilkan *penicilinase*, dan *penicilinase-stable beta-lactam* seperti *methicilin*, *cloxacillin*, dan *fluoxacillin* yang telah digunakan sebagai terapi utama dari infeksi *Staphylococcus aureus* selama lebih dari 35 tahun. Strain yang resisten terhadap kelompok penicillin dan beta-lactam ini muncul tidak lama setelah penggunaan agen ini untuk pengobatan (Lowy, 2003; Suaya et al., 2014).

Methicilin merupakan *penicillinase-resistant*, pertama kali diperkenalkan pada tahun 1959. Methicilin digunakan untuk mengatasi infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* resisten terhadap penicillin. Namun, di Inggris pada tahun

1961 telah dilaporkan adanya isolat *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap methicilin (Brown et al., 2005). Kemudian infeksi MRSA dengan cepat menyebar di seluruh negara-negara Eropa, Jepang, Australia, Amerika Serikat, dan seluruh dunia selama berpuluh-puluh tahun dan menjadi infeksi yang multidrug-resistant (Enright et al., 2002).



Gambar 2.2 Bakteri Methicilin-Resistant *Staphylococcus aureus* (Finke et al., 2012)

Infeksi oleh MRSA diasosiasikan dengan peningkatan morbiditas, kebutuhan akan terapi antibiotik yang lebih lama, biaya rumah sakit yang lebih mahal, rawat inap yang lebih lama, dan peningkatan risiko kematian (Cosgrove, 2006; Maltone et al., 1998). Risiko ini meningkat lebih besar pada pasien yang diterapi kurang optimal, baik dengan terapi antibiotik yang tidak efektif maupun dengan intervensi bedah yang inadeguat. Hospital acquired Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (HA-MRSA) disebabkan oleh beberapa faktor, yaitu pemakaian antibiotik yang tidak rasional, transmisi penyakit dan tindakan invasif (Boucher, 2008).

2.3 *Cefotaxime*

Cefotaxime merupakan salah satu antibakteri sefalosporin generasi ketiga yang digunakan untuk perawatan infeksi seperti gonorrhoe, sinusitis akut, dan pneumonia. Sefotaksim merupakan hasil dari penghambatan dinding sel melalui ikatan pada penicillin-binding proteins (Basuki, et al., 2017).

Antibiotik beta-laktam terdiri dari berbagai golongan obat yang mempunyai struktur cincin beta-laktam, umumnya bersifat bakterisid dimana mempengaruhi langkah akhir sintesis dinding sel (transpeptidase atau ikatan silang) sehingga membran kurang stabil bahkan bisa lisis. Sebagian besar antibiotik beta-laktam termasuk *Cefotaxime* efektif terhadap organisme Gram positif dan negatif. (Kemenkes, 2011).

Cefotaxime bekerja dengan cara mengganggu sintesis dinding sel bakteri, dengan menghambat langkah terakhir dalam sintesis peptidoglikan, yaitu heteropolimer yang memberikan stabilitas mekanik pada dinding sel bakteri (Kemenkes, 2011).

2.4 **Tanaman Pare (*Momordica charantia* L.)**

Momordica charantia L. termasuk dalam famili Cucurbitaceae. Nama-nama lokal tersebut antara lain paria (Sunda), pariah (Bugis), pepareh (Madura), kambeh (Minangkabau), paya (Nusa Tenggara), dll (Sulihandari, 2013). Buah jenis ini tersebar luas di daerah tropis dan tumbuh baik di dataran rendah, dapat tumbuh liar di tanah gersang dan kering, serta dapat dibudidayakan atau ditanam di pekarangan. Tanaman semai tidak membutuhkan banyak sinar matahari, sehingga dapat tumbuh subur di tempat yang terlindung (Herbie, 2015).

Momordica charantia L. identic dengan *Momordica balsamina* Blanco, *Momordica balsamina* Descourt, *Momordica cylindrica* Blanco, *Momordica mandirana* C. Koch, *Momordica operculata* Vell, *Cucumis Africanus* Lindl. Banyak ditemukan di daerah tropis dan tumbuh baik di dataran rendah, dapat tumbuh liar di lahan terlantar dan gersang, serta dapat dibudidayakan atau ditanam di kebun melalui perambatan dipagar untuk memperoleh buahnya (Widyaningrum 2011).

Tanaman ini tidak membutuhkan banyak sinar matahari, sehingga dapat tumbuh subur di beberapa tempat yang teduh. Tanaman tahunan, merambat atau memanjat dengan sulur melingkar atau spiral, banyak cabang, bau tidak sedap. Berwarna hijau tua, daun tunggal, lonjong, berbentuk hati di pangkal. Tajuk bergigi kasar sampai berlekuk menyirip. Hanya memiliki satu bunga saja pada tiap-tiap ujung tangkainya. Bunga tersebut memiliki dua kelamin dalam satu pohon dengan tangkai panjang dan berwarna kuning. Buahnya memanjang dan bulat, dengan bintil tidak beraturan dan terasa pahit. Warna buahnya hijau, berubah menjadi jingga saat matang, memiliki 3 kelopak dan banyak bijinya. Bentuknya datar dan keras. (Widyaningrum 2011).

Kandungan kimia buah pare yang berkhasiat dalam pengobatan adalah saponin, flavonoid, polifenol, alkaloid, triterpenoid, momordisin, glikosida cucurbitacin, charantin, asam 12 butir, asam palmitat, asam linoleat, dan asam stearat (I Ketut A.Y 2013).

Keberadaan zat-zat aktif dalam buah Pare menunjukkan maha kuasa Allah SWT atas segala penciptaannya yang dijelaskan pada QS. Asy-Syuara ayat 7. Allah SWT telah menciptakan berbagai tanaman yang bermanfaat di bumi untuk makhluk-Nya yang beriman yang dijelaskan dalam QS. An-Nahl ayat 10

يُنْبِتُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعَ وَالزَّيْتُونَ وَالنَّخِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ
يَتَفَكَّرُونَ (١٠)

Artinya: “ Dengan (air hujan) itu Dia menumbuhkan untuk kamu tanam-tanaman, zaitun, kurma, anggur dan segala macam buah-buahan. Sungguh, pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kebesaran Allah) bagi orang yang berpikir.”

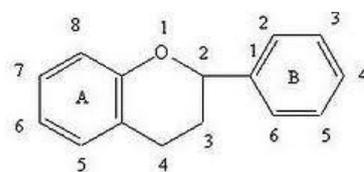
Allah menunjukkan kebesarannya untuk para hambanya agar selalu memperhatikan dan merawat alam semesta. Dalam Tafsir Al-Misbah (2002), Dialah yang menurunkan air dari langit untuk kalian. Sebagian untuk diminum dan sebagian yang lain untuk menyuburkan tumbuh-tumbuhan. Di tempat tumbuh-tumbuhan itulah kalian menggembalakan hewan ternak kalian agar dapat menjadikannya makanan dan memberi kalian susu, daging dan bulu. Dalam tafsir Muyassar Dialah yang menurunkan hujan dari awan untuk kalian, lalu Dia menjadikan sebagian darinya air untuk kalian minum, dan Dia mengeluarkan dengan hujan itu tumbuh-tumbuhan yang padanya kalian menggembalakan ternak kalian, lalu susunya dan kemanfaatannya kembali untuk kalian. Dalam tafsir Jalalain (Dialah Yang telah menurunkan air hujan itu dari langit untuk kalian, sebagiannya menjadi minuman) untuk kalian minum (dan sebagiannya menjadi tumbuh-tumbuhan) maksudnya oleh sebab air itu menjadi suburlah tumbuh-tumbuhan (yang pada tempat tumbuhnya kalian menggembalakan ternak kalian) kalian jadikan sebagai tempat menggembalakan ternak. Dalam tafsir Ibnu Katsir Setelah Allah subhanahu wa ta'ala, menyebutkan tentang hewan ternak dan binatang lainnya sebagai karunia-Nya buat mereka, maka hal itu diiringi-Nya dengan menyebutkan nikmat lainnya yang Dia limpahkan kepada mereka, yaitu penurunan hujan, nikmat yang datang dari atas. Hujan dapat memberikan bekal hidup dan kesenangan bagi mereka, juga bagi ternak mereka.

Firman Allah subhanahu wa ta'ala : *...pada sebagian dari air hujan itu kalian beroleh minuman.*

Artinya, air hujan itu dijadikan oleh Allah berasa tawar dan mudah diminum oleh kalian, Dia tidak menjadikannya berasa asin dan dari sebagiannya pepohonan (menjadi subur), yang pada (tempat tumbuhnya) kalian menggembalakan ternak kalian. Dengan kata lain, dari pengaruh air hujan itu Allah menjadikan tumbuh-tumbuhan sehingga dapat kalian jadikan sebagai tempat untuk menggembalakan ternak kalian. Berdasarkan penjelasan tafsir-tafsir tersebut, ditunjukkannya ciptaan Allah SWT berupa tumbuhan-tumbuhan yang memiliki kandungan zat yang beragam tersebut, sebagai umat muslim yang beriman wajib untuk meyakini segala sesuatu ciptaan-Nya sebagai bentuk iman kepada Allah SWT.

2.5 Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa yang memiliki potensi sebagai antimikroba. Senyawa flavonoid terdapat hampir di semua bagian tumbuhan, seperti daun, akar, kulit tepung sari, nektar, bunga, buah dan biji (Neldawati, Ratnawulan, dan Gusnedi, 2013). Flavonoid umumnya terdapat pada tumbuhan sebagai glikosida (Selawa, Runtuwene, dan Citraningtyas, 2013)



Gambar 2.3 Struktur flavonoid (Robinson, 1995)

Menurut Svobodova et al., (2003) flavonoid pada buah pare meliputi quercetin, kaempferol, quercitrin dan rutin. Senyawa tersebut telah dilaporkan

sebelumnya menunjukkan aktivitas sebagai antimikroba. Hal ini diperkuat dengan adanya penelitian Svobodova et al., (2003) yang menunjukkan hasil bahwa ekstrak buah pare dapat menghambat bakteri *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium* karena adanya senyawa turunan *kaempferol*, *quercetin*, dan *rutin*. Senyawa turunan tersebut meliputi, *5-O Feruoylquinic acid*, *Quercetin-3-O- glucoside*, *Kaempferol-O-pentosylhexoside*, *Kaempferol-O-ac etylhexoside*, dan *Isorhamnetin-O-acetylhexoside*.

Menurut Nuria, Faizatun, dan Arvin (2009) mekanisme kerja flavonoid sebagai antimikroba adalah dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler. Menurut Brooks, Carroll, Butel, Morse, dan Mietzner (2005) mekanisme kerusakan sel terjadi dengan jalan rusaknya fungsinya integritas membran sitoplasma sehingga makromolekul dan ion yang awalnya berada dalam sel keluar, sehingga sel menjadi rusak dan mati. Menurut Setiabudy (2011) selain merusak membran sel flavonoid juga bekerja dengan menghambat fungsi dari DNA gyrase pada bakteri sehingga kemampuan replikasi dan translasi pada bakteri terhambat.

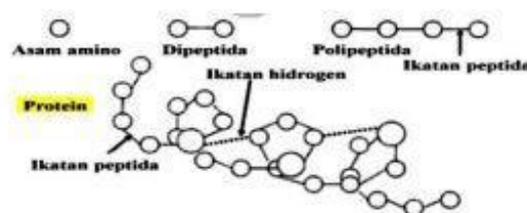
Flavonoid merupakan derivat dari senyawa fenol. Secara umum, flavonoid merupakan senyawa dengan 15 atom karbon yang tersusun dalam konfigurasi C6-C3-C6, yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh tiga karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga (Gambar 2). Gugus hidroksil (-OH) hampir selalu terdapat dalam flavonoid, khususnya pada cincin B di posisi 3' dan 4', cincin A pada posisi 5 dan 7, atau cincin C pada posisi 3. Gugus hidroksil ini

merupakan tempat menempelnya berbagai gula yang dapat meningkatkan kelarutan flavonoid dalam air. Sebagian besar flavonoid disimpan dalam vakuola tengah, walaupun disintesis di luar vakuola (Pambudi et al., 2015).

2.6 Protein dan Asam Amino

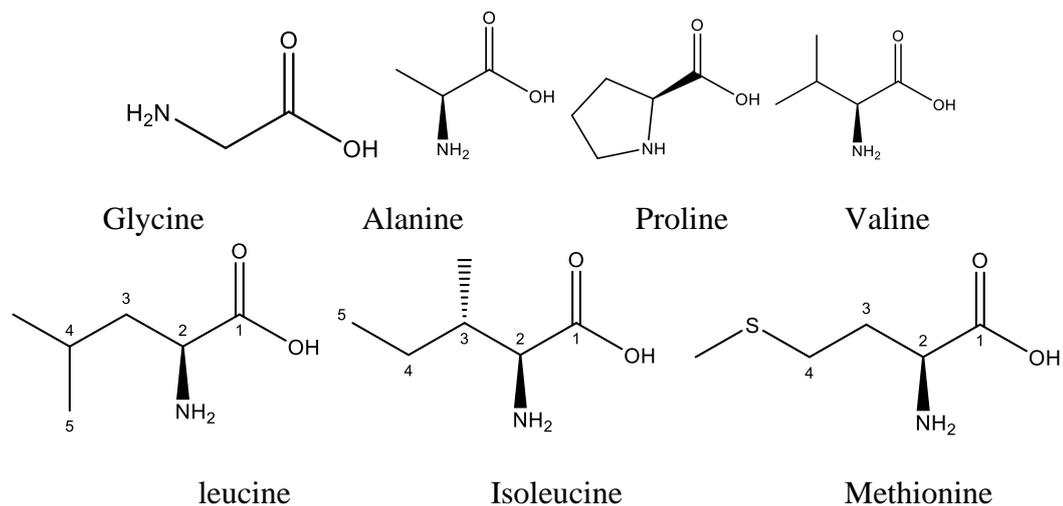
Protein sendiri merupakan makromolekul yang tersusun atas asam amino. Asam amino yang menyusun protein terdapat 20 macam. Protein memiliki fungsi kompleks terhadap semua proses biologi. Adapun fungsi protein adalah sebagai katalisator, pengangkut, dan penyimpan molekul seperti oksigen, mendukung mekanisme kekebalan tubuh, transmisi gerakan syaraf, mengendalikan pertumbuhan dan perkembangan (Katili, 2009).

Protein memiliki jumlah dan urutan asam amino yang spesifik. Struktur dan sifat asam amino bergantung oleh sekuens dari asam amino dalam polipeptida. Perubahan asam amino dalam rantai akan menghasilkan protein baru dengan struktur dan fungsi yang berbeda (Kuchel dan Ralston, 2006). Protein untuk dapat berfungsi, asam amino akan melipat dan membentuk struktur yang presisi. Pada Gambar 2.4 menunjukkan protein terdiri dari beberapa asam amino yang terikat oleh ikatan peptida.

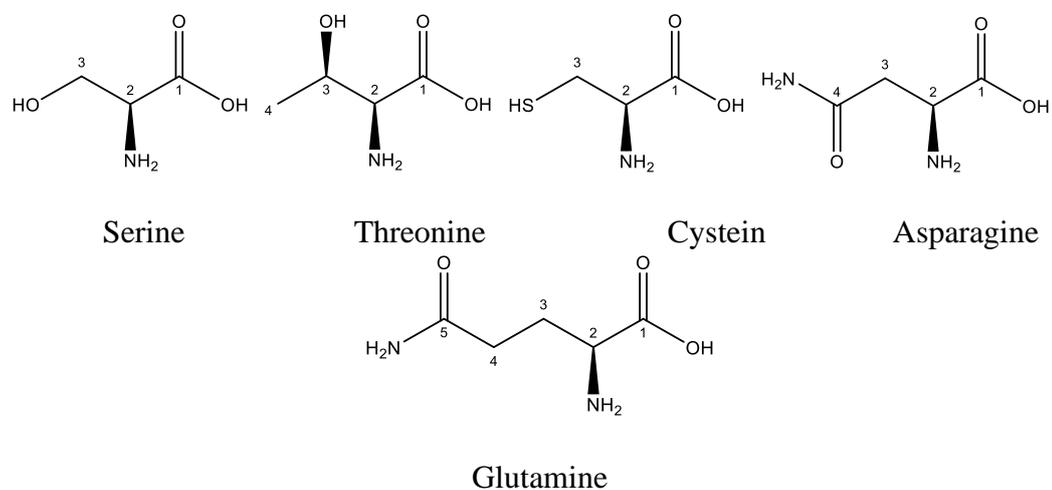


Gambar 2.4 Hubungan struktural antara asam amino, peptide dan protein (Joyce, et al., 2008)

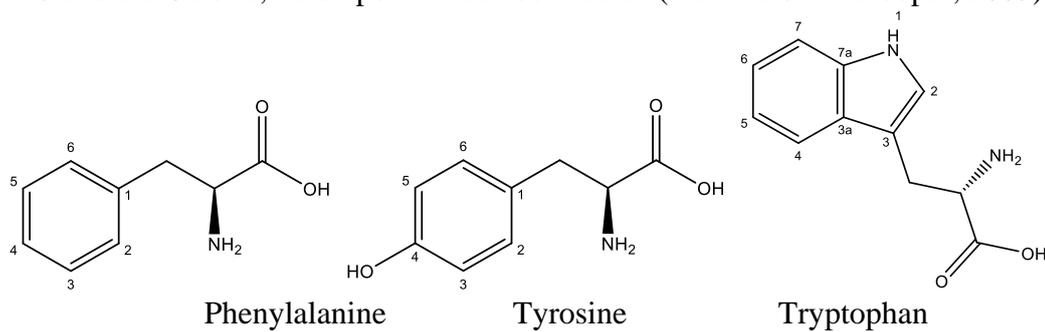
Asam amino mempunyai rantai samping gugus R yang akan membedakan asam amino dari struktur, ukuran, dan muatan listrik (Nelson dan Cox, 2008). Dua puluh jenis asam amino terdiri asam α -amino dengan gugus amino primer ($-\text{NH}_3^+$) dan asam karboksilat ($-\text{COOH}$) yang terikat pada atom karbon pusat. Asam amino akan dipecah dengan proses metabolisme yang dikelompokkan berdasarkan kesamaan sifat-sifat rantai samping, seperti R alifatik, R tidak bermuatan, R aromatic, R muatan positif, dan R muatan negatif (Hammes dan Hooper, 2005) ditunjukkan pada Gambar 2.5 hingga Gambar 2.9.



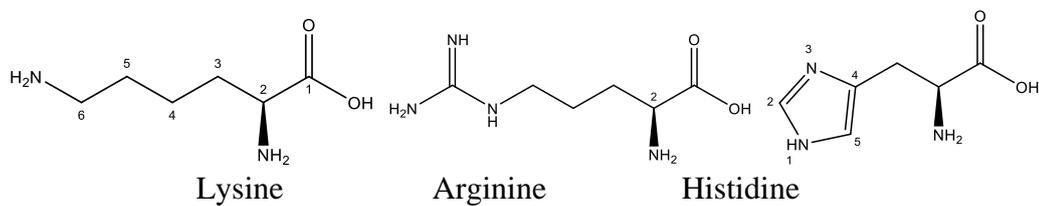
Gambar 2.5 Nonpolar, kelompok R alifatik (Hammes dan Hooper, 2005)



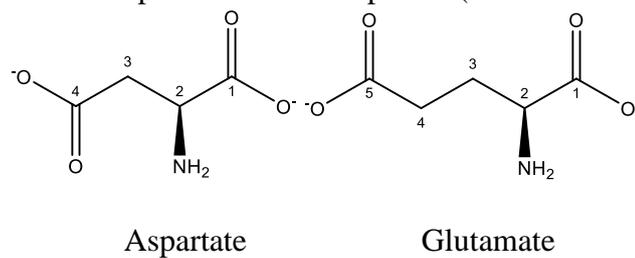
Gambar 2.6 Polar, kelompok R tidak bermuatan (Hammes dan Hooper, 2005)



Gambar 2.7 Kelompok R aromatik (Hammes dan Hooper, 2005)



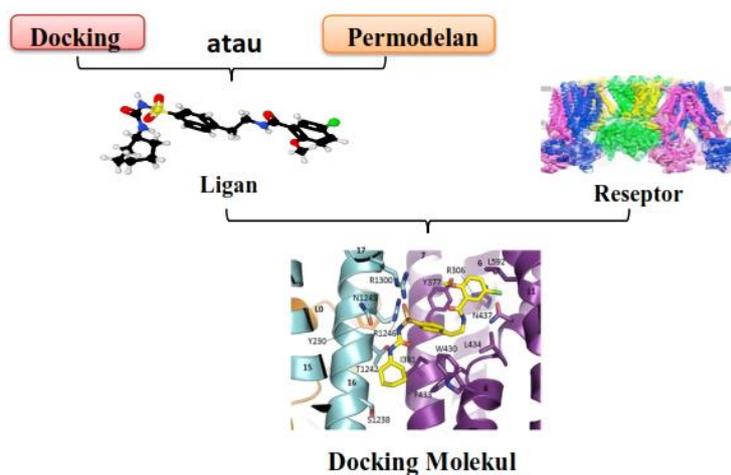
Gambar 2.8 Kelompok R bermuatan positif (Hammes dan Hooper, 2005)



Gambar 2.9 Kelompok R bermuatan negatif (Hammes dan Hooper, 2005)

2.7 Penambatan Molekul (*Molecular Docking*)

Metode perancangan obat saat ini telah dilakukan secara komputasi. Metode tersebut dilakukan dengan memodelkan sampel secara molekuler. Studi yang digunakan yaitu *structure-based drug design* yang memodelkan interaksi molekul kecil dengan suatu makromolekul (protein) pada tingkat atom yang secara struktural yang datanya diperoleh dari eksperimental. Dalam studi tersebut metode yang umum digunakan yaitu *docking* (penambatan) (Siswandono, 2016).



Gambar 2.10 Skema *docking* molekul (Chaudhary dan Mishra, 2016; Li et al., 2017)

Molecular Docking merupakan suatu teknik yang bisa digunakan untuk mempelajari interaksi yang terjadi dari suatu kompleks molekul antara biomolekul dengan molekul kecil atau ligan. Interaksi kompleks molekul tersebut berorientasi untuk mencapai kestabilan. Tujuan dari *docking* molekuler adalah pemodelan struktural secara akurat dan memprediksi aktivitasnya secara tepat (Kitchen et al., 2004). Terdapat dua aspek dalam *docking* molekuler yaitu fungsi skor dan penggunaan algoritma. Algoritma *docking* berfungsi untuk mengidentifikasi energi yang dihasilkan dari konformasi molekuler dan kemudian mencari konformasi yang memiliki energi bebas paling rendah dalam sistem. Penambatan molekuler juga digunakan untuk memperoleh nilai energi ikatan konformasi yang paling rendah dengan afinitas yang paling tinggi (Kroemer, 2007). Ada banyak aplikasi yang digunakan untuk melakukan *virtual screening* dengan metode *docking* molekuler, yaitu PLANTS (*Protein-Ligand ANT System*), MVD (*Molegro Virtual Docking*), dan AutoDock (Korb et al., 2006).

Tujuan utama *docking* yaitu untuk membentuk konformasi antara ligan dan protein yang dioptimasi sehingga energi bebas keseluruhan sistem diminimalkan. Proses komputasi ini akan mencari ligan yang bekerja baik di situs aktif suatu protein target baik secara energi maupun orientasinya. *Docking* sering diterapkan untuk memprediksi orientasi kandidat obat baru pada target protein untuk memprediksikan afinitas dan aktivitas obat. Oleh karena itu *docking* memerankan peran penting dalam desain dan penemuan obat karena lebih fleksibel, sinergis dan efektif (Chaudhary dan Mishra, 2016).

Syarat melakukan *docking*, struktur protein maupun ligan dibutuhkan dalam bentuk 3 dimensi yang digunakan sebagai input. Untuk protein, struktur 3D diperoleh dari data eksperimen seperti sintesis kimia, kristalografi sinar-X, dan spektroskopi NMR. Program *docking* ini terdiri dari dua bagian yaitu algoritma pencarian dan fungsi *scoring* (Misra et al., 2017). Algoritma yang ideal harus mampu mereproduksi mode pengikatan eksperimental dan fungsi *scoring* yang ideal harus memberi peringkat tertinggi di antara semua konformasi yang dihasilkan (Meng et al., 2011).

Langkah-langkah yang dilakukan saat *docking* yaitu: (1) persiapan struktur 3D protein, (2) persiapan ligan, (3) estimasi energi pengikatan kompleks protein-ligan, dan (4) analisa hasil. Sedangkan jenis *docking* jika dikelompokkan berdasarkan interaksinya yaitu, *docking* protein-protein, *docking* protein-ligan dan *docking* protein-nukleotida (Misra et al., 2017).

2.8 Interaksi Protein-Ligan

Interaksi tersebut terjadi ketika suatu obat sebagai ligan berinteraksi dengan molekul/protein targetnya. Reseptor merupakan salah satu contoh protein target bagi molekul obat yang bekerja secara reversibel dan dapat memberikan respon biologis spesifik. Interaksi obat dengan reseptor dapat berlangsung karena adanya kekuatan ikatan kimia. Ada beberapa macam ikatan kimia yang terlibat dalam interaksi obat dengan reseptor yaitu ikatan Van der Waals, ikatan hidrogen, ikatan dipol-dipol, ikatan ion (elektrostatik), dan ikatan kovalen (Siswando, 2016).

2.8.1 Ikatan Van der Waals

Ikatan Van der Waals merupakan tarik menarik yang terjadi antar molekul atau atom yang tidak bermuatan. Pada interaksi ligan dan reseptor ikatan Van der Waals terlibat dalam interaksi cincin benzen dengan daerah bidang datar reseptor dan pada interaksi rantai hidrokarbon dengan reseptor (Siswandono, 2016).

2.8.2 Interaksi Dipol-Dipol

Interaksi dipol-dipol terjadi antara molekul-molekul yang memiliki kepolaran yang sama ataupun berbeda. Molekul polar yang memiliki pusat muatan positif akan dekat dengan pusat muatan negatif molekul polar yang lain begitu pula sebaliknya menyebabkan gaya tarik yang disebut dipol-dipol. Gugus fungsi yang memiliki fungsi dipolar yaitu gugus karbonil, ester, amida, eter dan nitril (Siswandono, 2016).

2.8.3 Ikatan Ion

Ikatan ion adalah ikatan yang terbentuk karena adanya gaya tarik menarik elektrostatik antara atom yang memiliki ion-ion dan muatannya berlawanan. Gugus kation protein berupa asam amino lisin, glutamin, asparagin, argini, glisin dan histidin. Gugus anion protein berupa gugus karboksilat seperti asam aspartat dan glutamat. Obat yang memiliki gugus kation potensial seperti R_3NH^+ , R_4N^+ , dan $R_2C=NH_2^+$, maupun gugus anion potensial seperti $RCOO^-$, RSO_3^- dan $RCOS^-$ dapat membentuk ikatan ionik dengan gugus-gugus reseptor yang bermuatan berlawanan (Siswandono, 2016).

2.8.4 Ikatan Hidrogen

Ikatan hidrogen merupakan gaya antarmolekul yang paling kuat dibandingkan gaya antarmolekul yang lainnya. Ikatan hidrogen terjadi ketika atom hidrogen terikat oleh dua atom yang memiliki keelektronegatifan tinggi yaitu atom N, O dan F. Ikatan hidrogen yang terjadi antara 2 molekul atau lebih disebut dengan ikatan hidrogen molekul antarmolekul. Ikatan hidrogen memiliki kekuatan yang lebih lemah dibandingkan ikatan ionik (Siswandono, 2016).

2.8.5 Fungsi *Scoring*

Fungsi *scoring* menjadi komponen yang paling penting dalam molekul *docking* karena digunakan untuk menghitung energi ikatan dalam pembuatan obat berbasis struktur. Fungsi *scoring* merupakan perhitungan komputasi untuk mengetahui kekuatan ikatan yang dihasilkan dari interaksi gugus-gugus fungsi ligan dengan residu-residu asam amino asam amino protein reseptor. Fungsi *scoring* memiliki tiga aplikasi utama yaitu menentukan mode binding dan lokasi ligan pada

protein target, memprediksi afinitas ikatan antara ligan-protein target dan mengidentifikasi potensi suatu ligan pada protein target (skrining virtual database). Idealnya fungsi *scoring* yang baik mampu memberikan peringkat pada orientasi yang terbentuk dari hasil eksperimen pada saat menentukan mode binding dan saat skrining virtual database. Selain itu, fungsi *scoring* yang akurat dapat meningkatkan efisiensi optimisasi saat proses penambatan dilakukan (Huang et al., 2010).

Macam-macam fungsi *scoring* ada 3 yaitu: *force field based*, *empirical* dan *knowing-based*. Fungsi *scoring* yang khusus digunakan Autodock yaitu *force field based*. Fungsi *scoring force field based* klasik menilai energi ikatan dengan menghitung jumlah interaksi non-ikatan seperti Van der Waals dan elektrostatik. Interaksi Van der Waals dijelaskan oleh fungsi potensial *Lennard-Jones* yang mengadopsi set parameter yang berbeda dapat mengontrol jarak antara protein dan ligan. Interaksi elektrostatik dihitung menggunakan rumusan *Coulombic* (Meng et al., 2011). *Force field* meliputi evaluasi (V) pada enam pasangan atom dan perkiraan entropi konformasi yang hilang saat pengikatan (ΔS_{conf}) (Huey et al., 2007). Persamaan yang digunakan untuk menghitung nilai ΔG pembentukan kompleks ligan-protein target dapat dilihat pada Persamaan 2.1

$$\Delta G = (V_{\text{bound}}^{L-L} - V_{\text{unbound}}^{L-L}) + (V_{\text{bound}}^{P-P} - V_{\text{unbound}}^{P-P}) + (V_{\text{bound}}^{P-L} - V_{\text{unbound}}^{P-L} + \Delta S_{\text{conf}}) \quad \dots(2.1)$$

Setiap evaluasi pasangan atom meliputi evaluasi untuk Van der Waals, ikatan hidrogen, elektrostatik dan desolvasi (Huey et al., 2007). Fungsi *scoring* yang digunakan Autodock4 yaitu semiempirical free energy force-field yang menggabungkan mekanika molekuler force-field tradisional dengan bobot empirik

dan bentuk fungsional empirik. Penjabaran rumusan evaluasi (V) dapat dilihat pada Persamaan 2.

$$V = W_{vdw} \sum_{i,j} \left(\frac{A_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{r_{ij}^6} \right) + W_{hbond} \sum_{i,j} E(t) \left(\frac{C_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{D_{ij}}{r_{ij}^{10}} \right) + W_{elec} \sum_{i,j} \frac{q_i q_j}{e(r_{ij}) r_{ij}} + W_{sol} \sum_{i,j} (S_i V_j + S_j V_i) e^{(-r_{ij}^2 / 2\sigma^2)} \quad \dots(2.2)$$

Dimana, V merupakan Fungsi scoring; vdw: Van der Waals; W: Faktor bobot; hbond: ikatan hidrogen; i,j: Atom; elec: elektrostatis; sol: desolvasi. Rumusan untuk entropi torsional (ΔS_{conf}) yang ditunjukkan pada Persamaan 2.3 saat pengikatan berbanding lurus dengan jumlah ikatan yang dapat diputar dalam molekul (N_{tors}) yang meliputi keseluruhan derajat kebebasan torsi.

$$\Delta S_{conf} = W_{conf} \times N_{tors} \quad \dots\dots(2.3)$$

Dimana Istilah ΔS_{conf} mewakili entropi konformasi, N_{tors} adalah jumlah ikatan yang dapat diputar dan W_{conf} adalah parameter bobot yang dikalibrasi untuk suku entropi

Peningkatan kinerja force-field baru ini meliputi perombakan model termodinamika pada proses pengikatan, adanya model desolvasi penuh serta penggabungan model pada evaluasi ikatan hidrogen (Huey et al., 2007).

2.8.6 Algoritma Genetika

Algoritma Algoritma genetika merupakan konsep matematika yang dirancang untuk mensimulasikan kondisi yang mempengaruhi evolusi biologis.

Algoritma genetika dapat mencari ruang konformasi dengan cara mutasi ligan untuk menemukan konformasi ligan pada energi terendah ketika berikatan dengan suatu protein. Algoritma genetik memiliki banyak macam seperti *simulated annealing* (SA), *genetic algorithm* (GA), dan *lamarckian genetic algorithm* (LGA) (Jones *et al.*, 1997).

Model algoritma genetik yang digunakan pada aplikasi Autodock yaitu GA karena sudah banyak digunakan untuk penambatan ligan-protein. Pada GA klasik diterapkan mendefinisikan ligan sebagai gen. Gen-gen tersebut membentuk kromosom yang sebenarnya merupakan pose dari ligan. Algoritma genetik memiliki dua operator genetik yaitu mutasi yang membuat perubahan acak pada gen dan *crossover* mengubah gen antara dua kromosom. Ketika gen terpengaruh oleh operator genetik, maka akan dihasilkan struktur ligan baru atau disebut dengan konformasi- konformasi ligan. Penilaian energi konformasi ligan yang terbentuk dilakukan menggunakan fungsi *scoring* (Meng *et al.*, 2011).

GA telah dimodifikasi yang dinamakan *Lamarckian genetic algorithm* (LGA). Algoritma ini memungkinkan untuk mengontrol nilai besar dari derajat kebebasan (*degree of freedom*). LGA ini menerapkan metode pencarian lokal *Solis* dan *Wets* yang merupakan parameter ruang berkelanjutan dengan tujuan utama yaitu optimasi fungsi lokal yang tidak memberikan informasi gradien. Pada dasarnya optimasi tersebut dimulai dengan mencari secara acak di ruang pencarian dan bergerak secara acak selama fungsi obyektif meningkat. Konformasi yang cocok akan dinilai dengan persentasi sebesar 50% teratas yang dibolehkan membentuk turunan untuk mengisi genetika. Pemilihan konformasi didasarkan pada urutan yang terbentuk. Kemudian konformasi dipilih secara acak, yang tidak

sesuai dengan optimasi lokal akan dioptimasi menggunakan metode *Solis* dan *Wets* (Fuhrmann et al., 2010).

2.9 Database Pendukung Perangkat Lunak

2.9.1 Bank Data Protein (Protein Data Bank)

Protein Data Bank merupakan satu satunya penyedia dan penyimpanan informasi berupa struktur 3D protein, asam nukleat dan struktur kompleks RSCB PDB dapat diakses di <https://www.rcsb.org/pdb>. Pada penelitian ini digunakan untuk mendukung metode *docking* dengan perangkat lunak AutoDock Vina dalam menyediakan ID reseptor senyawa obat yang akan diteliti. Dalam Protein Data Bank terdapat molekul kehidupan yang ditemukan di semua organisme termasuk bakteri, yeast, tanaman, hewan dan manusia. *Database* dalam Protein Data Bank tersedia tanpa biaya kepada pengguna dan diperbarui setiap minggu (Protein Data Bank, 2018).

2.9.2 Pubchem

Pubchem (<http://Pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) adalah gudang informasi molekuler untuk umum, sebuah karya ilmiah dari Institut Kesehatan Nasional Amerika (*US National Institutes of Health / NIH*). Basis data Pubchem memiliki lebih dari 27 juta catatan struktur kimia khusus dari senyawa yang berasal dari hampir 70 juta senyawa endapan, dan berisi lebih dari 449.000 catatan bioassay dengan lebih dari ribuan biokimia in vitro dan skrining berbasis sel, dengan menargetkan lebih dari 7000 protein dan gen yang terhubung dengan lebih dari 1,8 juta senyawa (Xie, 2010).

2.9.3 SwissADME

ADME adalah fase farmakokinetik senyawa aktif saat masuk ke dalam tubuh yang meliputi penyerapan (absorpsi), lalu tersebar melalui ke seluruh jaringan tubuh melalui darah (distribusi), selanjutnya dimetabolisme dalam organ- organ tertentu terutama hati (biotransformasi), lalu sisa atau hasil metabolisme ini dikeluarkan dari tubuh dengan ekskresi (eliminiasi). Seluruh proses tersebut disebut dengan ADME (Garcia et al., 2008). Web SwissADME dapat diakses di (<http://www.swissadme.ch>) dan dimaksudkan untuk analisis hasil yang mudah untuk siapa pun. Dibandingkan dengan alat bantu berbasis web gratis untuk ADME dan farmakokinetik (misal Pk-CSM14 dan admet SAR15), poin kuat SwissADME adalah, non-exhaustively: metode input yang berbeda, perhitungan untuk banyak molekul, dan kemungkinan untuk menampilkan, menyimpan dan berbagi hasil per molekul individu atau melalui grafik intuisi dan interaktif global. SwissADME terintegrasi dalam ruang kerja Swiss Drug Design. Interoperabilitas satu-klik memberikan akses ke berbagai alat CADD yang dikembangkan oleh *Molecular Modelling Group* dari *SIB Swiss Institute of Bioinformatics* (Daina et al., 2017).

2.9.4 PASSOnline

PASSOnline (Prediction of Activity Spectra for Substances) (<http://www.way2drug.com/passonline>) adalah salah satu program berbasis komputer yang bisa digunakan sebagai alat untuk memprediksikan aktivitas biologi dari suatu senyawa (Jamkhande et al., 2014). PASS melakukan analisis berdasarkan pada hubungan antara struktur suatu senyawa dengan aktivitas yang dimilikinya atau SAR (*Struktur Activity Relationship*). PASS sudah banyak melakukan

percobaan yang dilakukan yakni lebih dari 205.000 senyawa yang diuji dan ternyata memiliki lebih dari 3.750 aktivitas biologi (Pramely & Raj, 2012).

2.10 Perangkat Lunak

2.10.1 AutoDock

Program AutoDock (<https://autodock.scripps.edu>) dikembangkan untuk mempersiapkan sebuah prosedur dalam memprediksi interaksi antara molekul kecil dengan makromolekul (target). Keinginan untuk mengembangkan prosedur ini didasarkan atas masalah-masalah yang timbul pada saat merancang komponen bioaktif, terutama untuk merancang obat menggunakan komputer.

AutoDock merupakan alat untuk menambatkan suatu molekul secara otomatis. AutoDock terdiri atas dua program utama yaitu AutoDock yang digunakan untuk proses penambatan ligan ke protein target dan autogrid yang digunakan untuk menghitung seberapa besar energi yang dihasilkan ketika ligan tersebut telah selesai ditambatkan.

Pada setiap proses penambatan, dua masalah yang bertentangan harus seimbang, yaitu keinginan untuk mendapatkan prosedur yang akurat dan kuat, dan keinginan untuk menjaga syarat perhitungan secara komputasi pada tingkat yang masih dapat dipahami. Prosedur penambatan yang ideal dapat ditemukan jika energi interaksi antara substrat dan protein target yang dihasilkan minimum, melalui proses eksplorasi dari setiap derajat kebebasan (*degree of freedom*) yang terdapat didalam sistem. Akan tetapi, prosedur ini harus dibandingkan dengan penelitian struktur yang dilakukan dalam laboratorium dalam jumlah waktu tertentu untuk dibandingkan dengan hasil yang diperoleh melalui komputasi. Salah satu teknik

yang biasa digunakan adalah manually assisted docking. Pada teknik ini, derajat kebebasan orientasional dan internal diatur oleh kontrol.

Prosedur asli yang digunakan untuk mengembangkan AutoDock adalah *Monte Carlo simulated annealing*, yaitu teknik untuk mengeksplorasi konfigurasi dengan evaluasi energi yang cepat menggunakan tenaga dari afinitas molekuler berdasarkan basis *grid*. Jadi, teknik ini menggabungkan keuntungan antara pengeksplorasian dalam skala besar dengan evaluasi energi yang kuat. Teknik ini membuktikan pendekatan yang kuat terhadap masalah yang timbul pada penambatan substrat yang fleksibel pada sisi protein yang statik. Peneliti menentukan volume rektangular di sekitar protein, ikatan yang dapat dirotasikan untuk substrat, konfigurasi awal acak, dan prosedur yang menghasilkan *docking* yang tidak bias (Olson, Arthur J. Et al., 2001).

2.10.2 Discovery studio

Discovery studio (<https://discover.3ds.com>) adalah penampil gratis yang dapat digunakan untuk membuka, mengedit data serta alat untuk melakukan analisis data yang dihasilkan oleh perangkat lunak lain. Perangkat ini dirancang untuk memberikan gambaran yang interaktif untuk melihat dan mengedit struktur molekul, urutan, data refleksi X-ray, script, dan data lainnya. Aplikasi ini dapat digunakan pada Windows dan Linux dan terintegrasi dengan desktop yang menyediakan akses ke fitur sistem operasi standar seperti sistem berkas, clipboard, dan percetakan (Accelrys Enterprise Platform, 2005).

2.10.3 Open Babel

Open Babel (<http://openbabel.org>) adalah aplikasi untuk proliferasi beberapa format file kimia. Selain itu, open babel menyediakan berbagai utilitas yang berguna mulai dari pencarian konformer dan penggambaran 2D, hingga pemfilteran, konversi batch, dan pencarian substruktur dan kesamaan. Untuk pengembang, open babel dapat digunakan sebagai perpustakaan pemrograman untuk menangani data kimia di berbagai bidang seperti kimia organik, desain obat, ilmu material, dan kimia komputasi (O'Boyle et al., 2011).

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Juli hingga bulan Agustus tahun 2022 di Laboratorium Kimia Komputasi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Peralatan yang akan digunakan pada penelitian ini adalah perangkat keras berupa komputer serta kelengkapannya (monitor, CPU, keyboard, dan mouse) dengan spesifikasi, Intel Core i5-3470, 3.20GHz dilengkapi dengan 12 GB RAM ddr3 dan juga VGA GTX 750ti 2gb 128bit ddr5 MSI. Selanjutnya, perangkat lunak yang digunakan berupa Sistem Operasi Windows 11 64-bit, AutoDock Tools (ADT) versi 1.5.7, Autodock 4.2, Open Babel, BIOVIA Discovery Studio (DS) 2021, YASARA, dan Pymol.

3.2.2 Bahan

3.2.2.1 Struktur Tiga Dimensi PBP3 *Staphylococcus aureus*

Struktur tiga dimensi *Staphylococcus aureus* diunduh dari Bank Data Protein dengan situs <http://www.rcsb.org> dalam format PDB. Makromolekul protein yang dipilih adalah PBP3 yang berikatan dengan *cefotaxime* hasil dari eksperimen dengan XRD dengan PDB ID yaitu 3VSL dengan resolusi 2.40 Å.

3.2.2.2 Struktur Tiga Dimensi Ligan

Struktur tiga dimensi ligan yang digunakan adalah senyawa-senyawa aktif tanaman pare (*Momordica charantia L.*) dari Flavonoid yaitu quercetin, kaempferol, rutin, myricetin, morin, galangin, quercitrin, cyanidin, naringenin, dan epicatechin diunduh dari PubChem dengan situs (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) dan disimpan dalam format SDF (*.sdf).

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara *in silico* menggunakan komputer. Bahan yang digunakan yaitu struktur tiga dimensi ligan dari 10 senyawa aktif golongan flavonoid pada buah pare yaitu quercetin, kaempferol, rutin, myricetin, morin, galangin, quercitrin, cyanidin, naringenin, dan epicatechin yang diunduh dari Pubchem, dan PBP3 diunduh dari RCSB PDB dengan ID 3VSL. Proses preparasi ligan dan reseptor meliputi penghilangan molekul air, penambahan atom hidrogen, penambahan muatan, penentuan torsi pada ligan, dan set makromolekul menggunakan DSV dan ADTools. *Docking* menggunakan Autodock4.2. Validasi metode *docking* dilakukan dengan *redocking* reseptor dan ligan natif yang diunduh dari PDB dengan ID 3VSL, nilai RMSD (Root Mean Square Deviation) $\leq 3 \text{ \AA}$ sebagai acuan validasi. *Docking* molekuler senyawa uji pada PBP3 dilakukan sesuai metode validasi, *gridbox* diletakkan dilokasi situs aktif terikatnya cefotaxime pada PBP3. Kotak (*grid*) dibuat untuk perhitungan energi. *Docking* dengan pemilihan parameter Genetic Algorithm dan Lamarckian GA. Running dilakukan dengan eksekusi *docking* dengan jumlah sampling GA sebesar 100.

Hasil *docking* dianalisis menggunakan aplikasi ADTools, DSV, dan Pymol. Analisis pada ADTools diperoleh beberapa konformasi dengan binding energi yang

berbeda-beda. Dipilih beberapa molekul yang memiliki energi binding terendah dari masing-masing cluster untuk divisualisasikan pada DSV dan Pymol. Proses visualisasi tersebut bertujuan untuk mengetahui interaksi antara ligan dan reseptor. DSV juga menampilkan nama residu-residu asam amino yang terbentuk antara ligan dan reseptor. Kemudian dibandingkan dengan literatur.

Kompleks molekul reseptor dan ligan dari 2 konformasi energi terendah cluster 1&2 hasil *docking* dioptimasi menggunakan YASARA. Tujuan optimasi ini agar diperoleh energi yang lebih stabil dari proses sebelumnya dengan menggunakan medan gaya NOVA. Analisa RMSD dilakukan untuk membandingkan jarak antar atom kompleks PBP3 ligan aslinya dengan hasil *docking* teroptimasinya kompleks PBP3 molekul uji. Data deskriptif setiap molekul dianalisis energi dan jenis ikatan untuk konformasi dari setiap molekulnya.

Uji kemiripan obat menggunakan SwissADME (*absorption, distribution, metabolism and excretion*). Tujuannya untuk memastikan bahwa molekul tersebut sudah memenuhi sifat farmakokinetik Lipinski five rules. Uji aktivitas antileukemia dengan PASS Online dan SwissTargetPrediction. Tujuannya sebagai pembanding hasil *docking* molekuler.

3.4 Tahapan Penelitian

Tahapan dalam penelitian ini adalah :

- a) Preparasi ligan dan reseptor
- b) Validasi metode/*redocking* (ID 3VSL)
- c) Proses Penambatan Molekul (Molecular *Docking*)
- d) visualisasi interaksi dan Analisa energi ligan dan reseptor

- e) Optimasi konformasi terpilih hasil *docking*
- f) Analisis Data
- g) Uji kemiripan obat dengan SwissADME
- h) Prediksi aktivitas antileukemia dengan PASSOnline

3.5 Langkah Kerja

3.5.1 Redocking (Penambatan Ulang)

Redocking dilakukan dengan menambatkan ulang *cefotaxime* pada binding sitenya dan data hasil *redocking* digunakan sebagai acuan pada senyawa-senyawa Flavonoid pada penelitian ini.

Proses awal dilakukan dengan preparasi *cefotaxime* menggunakan AutodockTools (ADT) yang meliputi penambahan muatan, penambahan atom hidrogen serta pengaturan torsi yang kemudian disimpan dalam bentuk file *pdbqt*. Selanjutnya dipreparasi makromolekul target yang merupakan reseptor *Staphylococcus aureus* meliputi pemisahan dari ligan dan residu lain menggunakan program Discovery Studio 2021 yang kemudian dipreparasi menggunakan ADT meliputi penambahan atom hidrogen, penambahan muatan serta pengaturan *grid box*. Untuk *gridbox* pada *cefotaxime* dipilih center of ligand untuk mengetahui posisi awal *cefotaxime*. Setelah pengaturan *gridbox*, disimpan *Staphylococcus aureus* dalam bentuk file *pdbqt*. Kemudian dilakukan *docking* menggunakan ADT meliputi proses pembuatan peta map oleh Autogrid yang dijalankan menggunakan command prompt dan *docking* hingga diperoleh file DLG (*docking log file*) yang berisi data-data hasil *docking* seperti nilai nilai Δg_{bind} semua konformasi yang terbentuk yang dapat divisualisasikan untuk mengetahui bagaimana *cefotaxime* terikat pada PBP3. Hasil akhir *redocking* ini diambil data konformasi yang memiliki

nilai Δg_{bind} yang terendah dengan nilai RMSD $< 2\text{\AA}$ terhadap konformasi molekul acuan yaitu kompleks PBP3 data XRD. Data ini digunakan sebagai acuan untuk penambatan senyawa-senyawa aktif buah pare golongan flavonoid. Selain itu, dilakukan analisis pose atau kesesuaian ruang pada kompleks yang terbentuk antara *Staphylococcus aureus* dan *cefotaxime*. Untuk proses lengkap langkah-langkah docking dapat dilihat pada poin 3.3.2.

3.5.2 Docking

3.5.2.1 Preparasi Struktur Molekul Ligan (senyawa golongan flavonol)

Struktur tiga dimensi ligan yang digunakan adalah senyawa-senyawa flavonoid dari *Momordica charantia L*, yaitu quercetin, kaempferol, rutin, myricetin, morin, galangin, quercitrin, cyanidin, naringenin, dan epicatechin diunduh dari Pubchem dengan situs <https://Pubchem.ncbi.nlm.nih.gov> dengan format .sdf. format ligan diubah menjadi .pdb dengan menggunakan Open Babel.

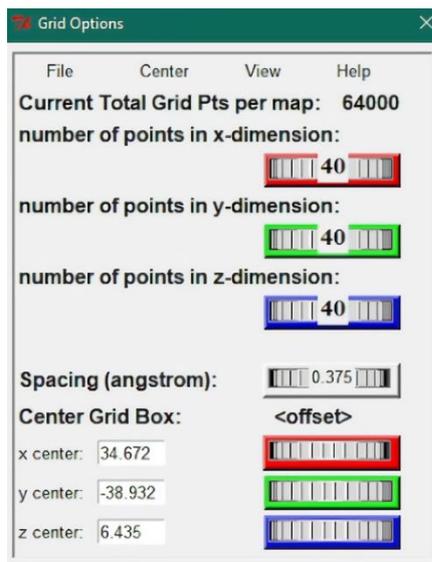
Struktur ligan yang telah dibuat dipreparasi dengan ADT yang meliputi penambahan muatan, penambahan atom hidrogen dan pengaturan torsi. Pengaturan torsi bebas dipilih pada daerah ligan yang memiliki ruang gerak bebas pada kompleks reseptor-ligan yang diacu pada geometri kompleks *Staphylococcus aureus* dan *cefotaxime*. Hasil preparasi tersebut disimpan dalam format .pdbqt. untuk proses penambatan molekul.

3.5.2.2 Preparasi Protein Reseptor

Pengunduhan makromolekul protein PBP3 dari web Protein Data Bank (<http://www.rcsb.org/pdb>). Data makromolekul diunduh dalam format .pdb dengan

kode PDB 3VSL dan memiliki resolusi 2,40 Å. Molekul PBP3 disiapkan dengan menggunakan software Discovery studio 2021, dalam persiapan molekul ini yang dilakukan adalah penghilangan gugus H₂O (jika ada), pemisahan ligan alami (*cefotaxime*) yang terdapat di PBP3 dan penambahan atom hidrogen (biasanya file dalam format .pdb belum lengkap atom hidrogennya). Setelah dipersiapkan, molekul PBP3 dan ligan alami (*cefotaxime*) yang telah dipisahkan disimpan dalam satu folder dengan format .pdb dan format .mol2.

Kemudian dipreparasi menggunakan AutodockTools (ADT). Preparasi tersebut meliputi penambahan atom hidrogen, penambahan muatan dan pengaturan grid box parameter. Hasil disimpan dalam format .pdbqt. Molekul PBP3 yang telah dipreparasi, akan ditentukan grid *docking* untuk pembatasan area untuk ligan berikatan pada sisi aktif PBP3. Pada penentuan grid *docking* ini diperoleh file gpf untuk menyatakan lokasi PBP3, ukuran dan jenis atom dalam menghitung peta grid. Autogrid yang terdapat dalam ADT mengambil parameter dari file gpf dan menghasilkan peta grid untuk digunakan Autodock. Pengaturan grid box parameter disesuaikan dengan tempat/situs aktif dari ikatan ligan sebelumnya (*cefotaxime*) seperti gambar dibawah ini.



Gambar 3.1 Nilai *grid box cefotaxime*

3.5.2.3 Penambatan Molekul dengan Autodock4

3.5.2.3.1 Pembentukan File GLG

Ligan dan protein yang telah tersimpan dalam format .pdbqt dicopy ke dalam satu folder. Begitu juga gpf file, dan juga file dari ADT yaitu Autogrid4.exe. Setelah itu dijalankan Autogrid4 melalui command prompt (cmd) dengan perintah sebagai berikut:

Autogrid4 -p grid.gpf -l grid.glg &

Pada running ini terbentuk file .glg (file log grid) yang berisi ringkasan dari running Autogrid4.

3.5.2.3.2 Pembentukan File DPF

File ini dibuat untuk menjalankan *docking* karena berisi parameter-parameter yang digunakan untuk *docking* molekul. Dipilih PBP3 sebagai makromolekul target dan senyawa flavonoid sebagai ligan. Pembentukan file dpf ini dilakukan pemilihan *genetic algorithm* sebagai algoritma *docking*. Output yang dihasilkan yaitu file dpf.

3.5.2.3.3 Pembentukan File DLG

Pembentukan file dlg dilakukan dengan menempatkan file dpf, ligan.pdbqt, PBP3.pdbqt, dan Autodock4.exe dalam satu folder. Pengoperasian *docking* antara PBP3 dan senyawa flavonoid dapat dilakukan ketika sudah terbentuk file glg. *Running* dilakukan melalui command prompt (cmd) dengan perintah sebagai berikut:

Autodock4 -p dock.dpf -l dock.dlg &

Dari *running* Autodock4 diperoleh file dlg yang berisi hasil energi dari setiap konformasi yang terbentuk beserta informasi tentang nilai RMSD atas konformasi-konformasi yang terbentuk, nilai ΔG_{bind} serta peringkat dari konformasi yang terbentuk.

3.5.3 Optimasi Konformasi Terpilih Hasil *Docking*

Optimasi dilakukan pada kompleks *docking* reseptor dan ligan dari 2 konformasi energi terendah cluster 1&2 hasil *docking* yang telah dipilih berdasarkan nilai energi ikatan terendah pada senyawa golongan flavonoid menggunakan YASARA (<http://www.YASARA.org/index.html>) sehingga dihasilkan file YASARA scene dan diperoleh energi. Cara hitung energi sistem menggunakan YASARA force field : MM

1. Hitung single point YASARA : *Analyze, energy, potential, object*, pilih objeknya. Objeknya yaitu data 3VSL dari PDB asli, sebelum minimasi. Kemudian, klik *Ok*. Lalu, dipilih semua komponen energi dan klik *Ok*. Sehingga diperoleh hasil.

2. *Minimization : Option, choose experiment, minimization.* Minimisasi energi berakhir.
3. Hitung energy single point struktur setelah minimasi : analyze, energy, Potential, object, pilih objeknya. Diperoleh hasil energi setelah optimasi

3.5.4 Uji Kemiripan Obat menggunakan SwissADME

Uji kemiripan obat menggunakan software SwissADME, yaitu dicari SMILES senyawa Flavonoid di web PubChem. Selanjutnya dibuka software ADME dengan cara memasukkan SMILES senyawa obat kemudian klik run untuk mendapatkan hasilnya.

3.5.5 Prediksi menggunakan PASSOnline (*Prediction of Activity Spectra for Substances*)

Prediksi aktivitas antiulcerativ menggunakan software PASSOnline, yakni mencari SMILES dari senyawa asam fenolik kurma di web PubChem. Selanjutnya dibuka software PASS Online dengan memasukkan SMILES senyawa ligan kemudian dilakukan prediksi aktivitas dengan mengeklik Get prediction.

3.5.6 Analisis Data Visualisasi Hasil Docking

Hasil kalkulasi *docking* dapat dilihat pada output dalam format file dlg. Penentuan konformasi ligan hasil *docking* dilakukan dengan memilih konformasi ligan yang memiliki kesamaan interaksi dengan referensi ligan seperti ikatan hidrogen, Van der Waals dan ionik. Kemudian dilihat bentuk 3D ligan tambat untuk mengetahui kesesuaian ruang dan pose ligan di dalam makromolekul protein. Tahap terakhir dilihat nilai energi yang terendah.

Analisis nilai energi terendah dilakukan pada tahap akhir dikarenakan nilai energi ikatan menjadi tidak bermakna jika ligan tambat tidak memiliki aktivitas biologis yang sama dengan ligan referensi karena yang diharapkan adalah ligan tambat memiliki interaksi yang sama dengan ligan referensi saat di dalam makromolekul protein.

Posisi dan orientasi ligan pada makromolekul PBP3 juga residu asam – asam amino yang berinteraksi dengan ligan divisualisasikan menggunakan perangkat lunak *AutodockTools* (ADT) dan *Discovery Studio* (DS) untuk melihat kecocokan bentuk dan volume antara ligan dan situs tambatnya.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Redocking (Penambatan Ulang)

Validasi metode *docking* (*redocking*) yaitu penambatan ulang antara ligan natif (*cefotaxime*) dengan enzim (PBP3) yang dilakukan untuk menentukan nilai RMSD (Root Mean Square Deviation). RMSD (*Root Mean Square Derivation*) merupakan suatu nilai yang digunakan untuk mengetahui keberhasilan prediksi ikatan antara ligan dengan protein target (Brooijmans, 2009). Selain itu, RMSD merupakan parameter keberhasilan yang digunakan untuk memprediksi terikatnya kembali antara ligan natif dengan molekul targetnya. Metode *docking* dapat dikatakan valid apabila nilai Proses validasi tersebut akan memberikan hasil yang lebih mendekati hasil nilai RMSD kurang dari 3 Å (Jain & Nicholls, 2008).

Tabel 4.1 Hasil *redocking* PBP3 dengan ligan natif

Kluster	Konformasi	Energi Binding	Reference RMSD
1	74	-8.79	2,394

Berdasarkan Tabel 4.1 hasil *redocking* antara PBP3 dengan *cefotaxime* membentuk satu kluster dengan Run 100, gridbox dengan nomor poin dimensi xyz yaitu 40,40,40 menghasilkan RMSD sebesar 2,3 Å. Hasil RMSD ini memiliki persamaan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Yoshida et al., (2012) yaitu sebesar 2,3 Å.

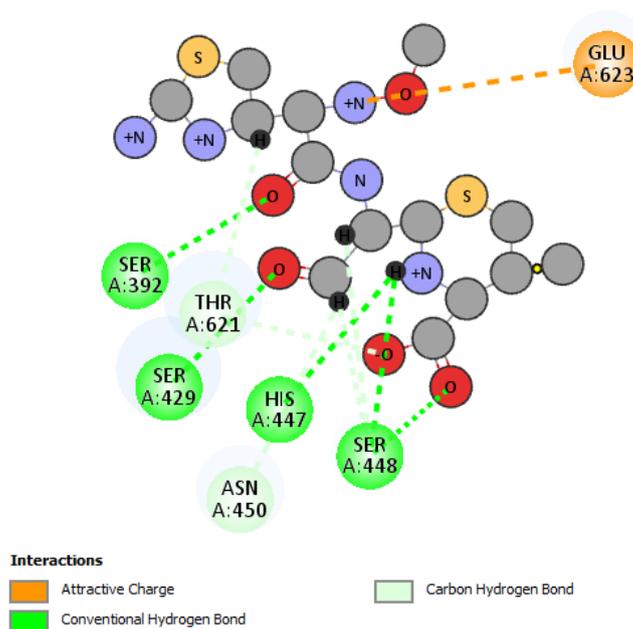
Tabel 4.2 Data perbandingan residu *Cefotaxime Redocking*

Nama Ligan	ΔG_{bind} (kkal/mol)	Residu		
		Ikatan Hidrogen	Van der Walls	Ikatan Non Covalent lain
<i>Cefotaxime Redocking</i>	-8.79	Ser392, Ser429, Ser448, Asn450, Thr621.	Lys395, Arg428, Tyr430, His447, Ser449, Asn450, Ile522, Gln524, Thr603, Lys618, Gly620, Ala622, Glu623, Val632, Pro660.	Lys395, Lys618.
<i>Cefotaxime Redocking</i> setelah optimasi	-8.79	Ser392, Ser429, His447, Ser448, Asn450, Thr621.	-	Glu623.
Penelitian Yoshida et al., (2012)	Tidak Terdefinisi	Ser392, Ser448, Asn450, Thr621,	-	-

Berdasarkan Tabel tersebut *cefotaxime redocking* menghasilkan energi *docking* sebesar -8,79 kkal/mol dan diketahui berinteraksi dengan residu asam amino Ser392, Ser429, His447, Ser448, Asn450, dan Thr621. Kemudian setelah dioptimasi terjadi perpindahan residu His447 yang sebelumnya berada di ikatan Van der Walls berubah menjadi ikatan Hidrogen dan pengurangan banyak residu pada ikatan Van der Walls. Terjadi Pengurangan residu setelah optimasi disebabkan oleh residu yang terikat lemah, sehingga setelah di optimasi residu tersebut lepas. Hasil residu ikatan Hidrogen tersebut selaras dengan penelitian Yoshida et al., (2012) bahwa memiliki interaksi yang sama dengan reseptor yaitu terbentuknya ikatan hidrogen Ser392, Ser448, Asn450 dan Thr621 maupun ikatan hidrofobik yaitu Asn450.

Parameter lain dalam analisis visualisasi hasil *docking* merupakan interaksi ligan dengan makromolekul protein dan posisi ligan. Visualisasi ini menggunakan program Discovery Studio untuk melihat interaksi-interaksi yang terjadi antara

ligan dengan makromolekul protein sedangkan untuk melihat kecocokan bentuk dan posisi ligan dalam makromolekul protein digunakan program Pymol. Visualisasi interaksi hasil *redocking cefotaxime* dan kecocokan bentuk ligan dapat dilihat pada Gambar 4.1 sedangkan untuk visualisasi interaksi masing-masing ligan flavonoid dapat dilihat pada Lampiran 4.



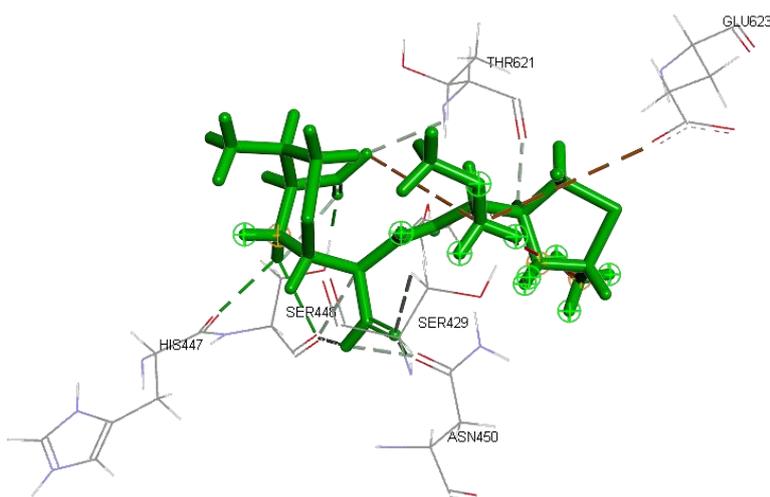
Gambar 4.1 Visualisasi interaksi *cefotaxime redocking* dengan asam amino PBP3

Pada gambar di atas, merupakan visualisasi interaksi dari *redocking cefotaxime* yang divisualisasikan menggunakan program Discovery Studio. Daftar residu interaksi tersebut dipilih berdasarkan interaksi *cefotaxime* awal dengan residu PBP3 hasil eksperimen yang dapat dilihat pada Tabel 4.2. Residu Ser392, Ser429, His447, Ser448, Asn450, dan Thr621 terdeteksi membentuk interaksi ikatan hidrogen dengan *cefotaxime*.

Tabel 4.3 Data residu reseptor PBP3 yang berinteraksi dengan *cefotaxime*

Makromolekul	Jenis Residu
PBP3	Ser392
	Ser429
	Ser448
	Asn450
	Thr621

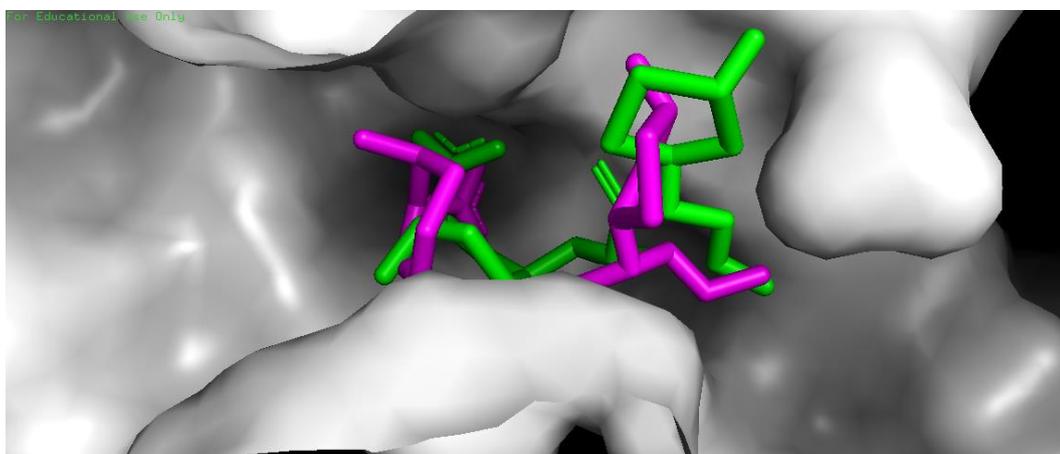
Berdasarkan Gambar 4.1 diketahui gugus samping NH_2 residu Ser392, Ser429, Ser448, dan Thr621 membentuk ikatan hidrogen dengan oksigen pada *cefotaxime*. Penjelasan interaksi yang terjadi antara gugus samping residu reseptor PBP3 dengan *cefotaxime* dapat dilihat pada Gambar 4.2

Gambar 4.2 Visualisasi 3D interaksi *cefotaxime redocking* dengan residu-residu reseptor PBP3

Interaksi ligan kecil-protein yang terjadi di antara senyawa organik dan protein dikoordinasi oleh ikatan hidrogen, interaksi van der Waals, dan ikatan kovalen. Ikatan hidrogen dalam kompleks tersebut diketahui sebanyak 66% dari 67% terbentuk antara NH-grup residu protein dengan atom oksigen dari ligan (Chen dan Kurgan, 2009). Dalam penelitian ini ditunjukkan oleh interaksi yang terjadi

antara gugus samping NH_2 residu Ser392, Ser429, His447, Ser448, Asn450, dan Thr621 dengan atom oksigen milik *cefotaxime*.

Analisis visualisasi selanjutnya adalah membandingkan posisi *cefotaxime* alam dengan *cefotaxime* hasil *redocking*. Analisis ini bertujuan untuk mengetahui bagaimana posisi antara kedua *cefotaxime* tersebut saat berada dalam reseptor PBP3. Gambar visualisasi perbandingan kedua *cefotaxime* tersebut dapat dilihat pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3 Perbandingan posisi antara *cefotaxime* asli (hijau) dan *cefotaxime redocking* (ungu)

Berdasarkan Gambar 4.3 dapat diketahui bahwa hasil *cefotaxime redocking* dengan *cefotaxime* alam tidak berbeda jauh. Namun seperti yang terlihat pada gambar terdapat perbedaan posisi pada titik-titik tertentu yaitu perbedaan posisi pada sisi *cefotaxime* antara *redocking* dan alam. Perbedaan ini dapat terjadi karena saat proses *docking* ligan diatur dapat bergerak bebas sesuai torsinya sehingga diperoleh posisi ligan yang bervariasi. Namun dengan adanya perbandingan ini dapat diketahui bahwa *cefotaxime* berhasil dilakukan penambatan kembali pada PBP3.

Pembahasan selanjutnya yaitu visualisasi dari masing-masing senyawa-senyawa flavonoid yang ditambatkan pada situs aktif *cefotaxime* pada reseptor PBP3. Penambatan ini mengacu pada binding site *cefotaxime* yang diharapkan senyawa-senyawa flavonoid ini diprediksikan memiliki interaksi yang sama dengan *cefotaxime* dan dapat bekerja seperti *cefotaxime* saat berinteraksi dengan PBP3. Visualisasi interaksi masing-masing ligan flavonoid dapat dilihat pada Lampiran 6.

4.2 Preparasi Struktur Molekul ligan (Senyawa Golongan Flavonol)

Tahap awal penambatan molekul dalam penelitian ini adalah preparasi struktur makromolekul protein. Fungsi preparasi struktur yaitu untuk memisahkan makromolekul yang diinginkan dari residu-residu yang lain. Preparasi struktur tersebut dimulai dengan mengunduh struktur pdb makromolekul dari situs web Protein Data Bank dengan alamat situs <http://www.rcsb.org/pdb/>. Makromolekul protein yang akan diunduh adalah protein PBP3 (*Penicilin Binding Protein 3*) dengan PDB ID yaitu 3VSL. Makromolekul tersebut terikat dengan *cefotaxime* dan dengan resolusi 2.40 Å.

Preparasi selanjutnya yaitu memisahkan protein PBP3 dan ligan yang terikat menggunakan aplikasi *Discovery Studio*. Proses pemisahan ini dilakukan untuk memisahkan PBP3 dengan ligan *cefotaxime* yang akan digunakan sebagai makromolekul target untuk *docking*. Ligan *cefotaxime* yang masih terikat dengan PBP3 dipisahkan untuk mendapatkan molekul ligan utuh yang digunakan sebagai bahan *redocking* atau penambatan molekul kembali. Struktur hasil pemisahan disimpan dalam bentuk file pdb.

Makromolekul PBP3 yang telah dipisahkan dipreparasi menggunakan AutodockTools meliputi penghapusan molekul air karena dapat mengganggu terikatnya molekul ketika dalam proses *docking*. Preparasi ini dilakukan karena molekul air dapat mempengaruhi proses penambatan dikarenakan struktur makromolekul protein yang menjadi semakin kompleks. Semakin kompleks suatu makromolekul protein maka semakin banyak perhitungan variabel *docking* yang perlu diselesaikan. Hal ini menyebabkan durasi proses penambatan akan berjalan semakin lama (Wong & Lightstone, 2011).

Ligan *cefotaxime* tersebut kemudian dioptimasi menggunakan Autodock Tools yang meliputi penambahan atom hidrogen, penambahan muatan dan pengaturan grid. Penambahan atom hidrogen bertujuan untuk menyesuaikan kondisi makromolekul protein saat *docking* layaknya di dalam sel. Proses ini dilakukan karena struktur makromolekul protein hasil eksperimen seperti sinar X dan mikroskop elektron berada dalam kondisi kehilangan atom hidrogen. Sehingga dengan adanya penambahan atom hidrogen dapat memaksimalkan proses penambatan molekul.

Tahap preparasi makromolekul terakhir yang dilakukan yaitu pengaturan *grid box*. Pengaturan ini meliputi penentuan lokasi penambatan ligan yang akan ditambatkan pada makromolekul protein. Lokasi penambatan ligan merujuk pada hasil *redocking* atau penambatan ulang ligan yang sudah terikat pada makromolekul protein yaitu *cefotaxime*. Pengaturan grid box meliputi x-center, y-center, z-center untuk mengatur posisi box parameter pada makromolekul protein, kemudian x-dimension, y-dimension, z-dimension dan spacing (Angstrom) digunakan untuk menentukan ukuran grid box parameter serta jarak antara kotak- kotak grid untuk

penambatan molekul. Hasil pengaturan yang diperoleh dari hasil *redocking* yaitu x-center = 18.924, y-center = -47.894, z-center = 25.316, x-dimension = 40, y-dimension = 40, z-dimension = 40 dan spacing (Angstrom) = 0.375.

Makromolekul yang telah dioptimasi menggunakan AutodockTools (ADT) disimpan dalam bentuk file .pdbqt. Format file ini menandakan bahwa masing-masing atom telah ditambahkan muatan gasteiger oleh ADT secara otomatis untuk menyesuaikan lingkungan *docking* sehingga dapat dilakukan kalkulasi variabel *docking* secara tepat (Huey et al., 2012).

4.3 Preparasi Struktur Ligan

Struktur 3D ligan yang digunakan dalam proses penambatan molekul ini diunduh dari situs web <http://PubChem.ncbi.nlm.nih.gov> dalam format .sdf. Ligan-ligan yang didownload dari situs PubChem merupakan senyawa aktif buah pare golongan Flavonoid (quercetin, kaempferol, rutin, myricetin, morin, galangin, quercitrin, cyanidin, naringenin, dan epicatechin) serta *cefotaxime* sebagai senyawa pembanding hasil penambatan molekul senyawa Flavonoid. Tahap selanjutnya format-format ligan diubah dari .sdf menjadi .pdb menggunakan aplikasi Open Babel sehingga dapat dibaca oleh AutodockTools (ADT) dan dapat dilakukan optimasi sebelum penambatan pada makromolekul protein.

Proses penyiapan ligan selanjutnya adalah optimasi ligan yang dilakukan menggunakan AutodockTools. Pengoptimasian meliputi penambahan muatan gasteiger, penambahan atom hidrogen dan pengaturan torsi. Proses penambahan muatan gasteiger ini akan terjadi secara otomatis ketika ligan dibuka menggunakan Autodock. Penambahan muatan gasteiger secara otomatis terjadi karena scoring

function yang digunakan Autodock4 menyesuaikan dengan muatan yang ditambahkan pada ligan dan makromolekul (Morris et al., 2012). Sama halnya dengan penambahan atom hidrogen saat penyiapan makromolekul, penambahan ini berfungsi untuk menyesuaikan ligan di dalam makromolekul saat proses *docking*.

Tabel 4.4 Daftar ligan yang ditambahkan pada makromolekul (Pubchem)

Ligan	Compound ID
<i>Cefotaxime</i>	5742673
Quercetin	5280343
<i>Kaempferol</i>	5280863
<i>Rutin</i>	5280805
<i>Myricetin</i>	5281672
Morin	5281670
<i>Galangin</i>	5281616
<i>Quercitrin</i>	5280459
Cyanidin	128861
Naringenin	932
Epicatechin	72276

Optimasi selanjutnya yaitu pengaturan torsi yang merupakan penentuan torsi aktif ligan. Pengaturan ini dilakukan untuk menentukan ikatan-ikatan aktif ligan yang dapat diputar saat proses *docking* berlangsung. Pada aplikasi Autodock hanya ikatan-ikatan tunggal / sigma yang tidak dalam siklus saja yang dapat diputar atau memiliki torsi aktif (Huey et al., 2012).

Pada penelitian ini penentuan torsi aktif dilakukan mengikuti perhitungan yang dilakukan Autodock Tools yang memiliki range 8-14 yang merupakan angka standar yang biasa digunakan dalam pengaturan torsi aktif sedangkan limit maksimum pengaturan torsi yaitu 32. Semakin besar jumlah torsi pada ligan, maka semakin lama ligan tersebut untuk melakukan *docking* (Rachmania et al., 2015). Menurut Chagas et al., (2018) dalam penelitian lebih lanjut ditambahkan parameter berupa nilai torsion dan senyawa yang dikatakan baik apabila tidak memiliki lebih dari 10 ikatan hidrogen yang berotasi (torsion). Senyawa dapat dikatakan baik

apabila memiliki ikatan hidrogen yang berotasi (Torsion) tidak lebih dari 10. Torsion ini berhubungan dengan fleksibilitas dan permeabilitas obat. Data torsi aktif dari senyawa flavonoid dapat dilihat pada Tabel 4.5. Ligan yang telah dioptimasi kemudian disimpan dalam format file pdbqt.

Tabel 4.5 Data torsi aktif ligan *docking*

Ligan	Torsi Aktif
<i>Cefotaxime</i>	8
Quercetin	1
<i>Kaempferol</i>	1
<i>Rutin</i>	6
<i>Myricetin</i>	1
Morin	1
<i>Galangin</i>	1
<i>Quercitrin</i>	3
Cyanidin	1
Naringenin	1
Epicatechin	1

4.4 Penambatan Molekul dengan Autodock4

4.4.1 Pembentukan File GLG

File glg akan terbentuk setelah dilakukan running file gpf yang diperoleh saat pengaturan grid pada makromolekul protein. Sebelum dilakukan pembentukan file ini, file-file pdbqt sampel, file gpf dan file aplikasi dari ADT yaitu Autogrid4.exe dimasukkan dalam folder menjadi satu. File ini dijalankan melalui cmd atau aplikasi command prompt pada Windows dengan perintah sebagai berikut.

Autogrid4.exe -p grid.gpf -l grid.glg &

Running perintah ini berjalan cukup cepat yang berlangsung sekitar 3-5 menit. File glg yang terbentuk berisi persamaan *scoring function* untuk tipe-tipe atom yang ada di ligan dan *grid box* yang dibuat. Persamaan *scoring function* tersebut akan digunakan untuk menghitung energi saat proses *docking* (pembentukan file dlg). Selain file tersebut, *Autogrid* membuat 2 file dengan ekstensi fld dan xyz. File fld atau *field file* berisi ringkasan dari peta *grid* yang sesuai

dengan Autodock. Sedangkan file xyz merupakan file yang berisi batasan maksimal dan minimal grid box di masing-masing dimensi x, y dan z. (Morris et al., 2012).

4.4.2 Pembentukan File DPF

File dpf (*docking parameter file*) merupakan file yang berisi parameter-parameter yang digunakan untuk perhitungan di Autodock yang meliputi file map/peta untuk *docking*, koordinat ligan dan beberapa parameter pencarian untuk konformasi-konformasi ligan. Tahapan pembentukan file dpf ini meliputi pemilihan makromolekul yang dikondisikan *rigid*/tetap sehingga ligan yang ditambahkan dapat bergerak secara fleksibel pada sisi aktif makromolekul yang sudah ditentukan.

Tahapan selanjutnya yaitu pemilihan algoritma *docking*. Algoritma yang digunakan merupakan *Lamarckian Genetic Algorithm* (LGA) merupakan salah satu algoritma *docking* yang digunakan Autodock. LGA memiliki kode perintah '*set_psw1*' yang menginstruksikan Autodock untuk menggunakan pencarian lokal pseudo-Solis and Wets. Metode ini menggunakan variasi seragam untuk perubahan orientasi, torsi dan translasi. Pada file ini terdapat pula kode perintah '*analysis*' yang akan melakukan analisis pada kluster dari hasil *docking* dan menuliskan hasil pada file log *docking* (Huey, et al, 2012; Morris, et al, 2012).

4.4.3 Pembentukan File DLG

Tahap pembentukan file dlg merupakan tahap *docking* menggunakan Autodock 4.2. tahapan pertama yang dilakukan yaitu memasukkan file ligan dan makromolekul protein yang berformat pdbqt, file glg, serta file dpf ke dalam satu

folder *docking*. Proses *docking* dengan Autodock4 dapat dijalankan melalui perintah *command prompt* yang masuk ke dalam folder *docking* dan kemudian dijalankan dengan perintah sebagai berikut.

Autodock4 -p dock.dpf -l dock.dlg &

Proses *docking* berlangsung selama 1-2 jam pada sekali *running* file *docking*. Durasi yang digunakan selama proses *docking* ini dipengaruhi oleh jumlah konformasi ligan *docking* yang diinginkan saat pemilihan parameter *docking*, yaitu pada penelitian ini 100 buah konformasi ligan *docking* yang terbentuk. Permintaan 100 buah konformasi ligan ini dilakukan untuk mendapatkan hasil *docking* yang lebih spesifik sehingga dapat memilih hasil penambatan terbaik dengan nilai ikatan terendah. Selain jumlah konformasi ligan, spesifikasi komputer/laptop juga dapat mempengaruhi lamanya proses *docking* berjalan. Semakin tinggi spesifikasi suatu komputer maka semakin cepat keberlangsungan proses *docking*.

Hasil yang terbentuk setelah proses *docking* selesai yaitu file 'dlg' atau '*docking log file*' yang merupakan rangkuman data struktur konformasi ligan hasil *docking*, hasil perhitungan nilai-nilai afinitas ikatan antara ligan dan makromolekul protein serta nilai *Root Mean Square Derivation* (RMSD) dari masing-masing konformasi yang terbentuk. File dlg ini dapat dibuka menggunakan AutodockTools (ADT), Pymol dan Discovery Studio untuk melihat posisi dan kesesuaian bentuk ligan di dalam makromolekul serta macam-macam residu / asam amino makromolekul yang berinteraksi dengan ligan.

Tabel 4.6 Data nilai ΔG_{bind} dan residu protein PBP3 yang terdeteksi berinteraksi dengan ligan pada Discovery Studio (DS) setelah *Docking*

Nama Ligan	ΔG_{bind} (kkal/mol)	Residu		
		Hydrogen Bond	Van der Walls	Ikatan non kovalen lain
<i>Cefotaxime Redocking</i>	-8.79	<u>Ser392</u> , Ser429, <u>Ser448</u> , <u>Asn450</u> , <u>Thr621</u> .	Lys395, Arg428, Tyr430, His447, Ser449, <u>Asn450</u> , Ile522, Gln524, Thr603, Lys618, Gly620, Ala622, Glu623, Val632, Pro660.	Lys395, Lys618.
Quercetin	-8.17	His447, <u>Asn450</u> , Gln524, Glu623, Pro659, Pro660.	Ser392, Lys395, Tyr430, <u>Ser448</u> , Ser449, <u>Thr621</u> , Ala622.	Arg428, Ser429, Val632.
<i>Kaempferol</i>	-7.13	Ser449, <u>Asn450</u> , Glu623.	<u>Ser429</u> , Tyr430, His447, <u>Ser448</u> , Val451, Gln524, <u>Thr621</u> , Ala622, Pro660.	Arg428
<i>Rutin</i>	-11.12	<u>Ser392</u> , Ser429, His447, <u>Ser448</u> , <u>Asn450</u> , Thr603, <u>Thr621</u> , Pro661.	Tyr430, Ser449, Lys618, Thr619, Gly620, Val632, Val658, Pro659.	Arg428, Pro660.
<i>Myricetin</i>	-8.32	<u>Ser392</u> , Lys395, Thr619, Gly620, Val632, Val658, Pro659.	<u>Ser392</u> , Lys395, Tyr430, <u>Ser448</u> , Ser449, Thr603, <u>Thr621</u> , Ala622.	Arg428, Ser429, Val632.
Morin	-7.72	<u>Ser392</u> , Ser449, <u>Asn450</u> , Glu623.	Ser429, Tyr430, His447, Ser448, Val451, Gln524, <u>Thr621</u> , Ala622, Pro660.	Arg428
<i>Galangin</i>	-6.98	Ser429, Ser449, <u>Asn450</u> .	Arg428, Tyr430, His447, Ser448, Gln524, Thr603, Ala622, Glu623, Val632	Pro660
<i>Quercitrin</i>	-9.50	<u>Ser392</u> , Lys395, Ser429, <u>Ser448</u> , Thr603, Thr619, <u>Thr621</u> .	Arg428, Ser449, <u>Asn450</u> , Ile522, Gln524, Lys618, Gly620.	Pro660, Pro661.
Cyanidin	-8.44	<u>Ser392</u> , His447, <u>Asn450</u> , Gln524, Glu623, Pro660	Lys395, Tyr430, <u>Ser448</u> , Ser449, <u>Thr621</u> , Ala622, Val632, Val658, Pro659	Arg428, Ser429
Naringenin	-7.45	Ser329, Ser448, Thr619, <u>Thr621</u> , Tyr636, Leu663.	Lys395, Tyr430, His447, <u>Asn450</u> , Thr603, Val606, Gly620, Pro660, Thr664, Gly665, Gly666.	-
Epicatechin	-8.06	Ser449, <u>Asn450</u> , <u>Thr621</u> , Glu623,	Ser429, Tyr430, His447, <u>Ser448</u> , Gln524, Ala622, Val632, Pro660	Arg428

Keterangan :

Residu asam amino dengan garis bawah adalah residu asam amino kunci pada interaksi cefotaxime PBP3

Data hasil *docking* menunjukkan nilai ΔG_{bind} senyawa aktif pare golongan flavonoid memiliki rentang -6,98 kkal/mol hingga -11,12 kkal/mol. Berdasarkan data tersebut Rutin memiliki nilai energi ikatan terbaik dibandingkan dengan nilai energi ikatan flavonoid lainnya. Bila dibandingkan dengan hasil *cefotaxime redocking* yang memiliki nilai energi ikatan -8,79 kkal/mol, senyawa-senyawa aktif

Flavonoid ini memiliki nilai-nilai energi ikatan yang mendekati nilai energi tersebut. Data-data tersebut mengindikasikan bahwa senyawa-senyawa aktif Flavonoid ini memiliki potensi sebagai obat antibakteri.

Nilai RMSD dari senyawa Flavonoid Pare memiliki nilai antara 52,06 Å hingga 57,59 Å. Nilai tersebut terlampaui jauh dari 2 Å karena menurut Muttaqin et al., (2012) parameter tersebut hanya digunakan untuk memprediksi terikatnya kembali antara ligan natif dengan molekul target, tidak digunakan untuk ligan uji.

4.5 Optimasi Molekul Hasil *Docking*

Optimasi energi dilakukan pada hasil *docking* molekuler dengan tujuan untuk mencari energi paling rendah dengan konformasi paling stabil. Optimasi molekul hasil *docking* menggunakan aplikasi YASARA dengan medan gaya NOVA sebagai alat perhitungan. Gaya NOVA diterapkan untuk perhitungan molekul protein dan asam nukleat. Senyawa uji sebelum minimasi yaitu hasil *docking* dari autodock dan sesudah minimasi merupakan energi interaksi ligan dan reseptor hasil dari optimasi YASARA. Hasil optimasi senyawa uji flavonoid dapat dilihat pada Tabel 4.7.

Berdasarkan Tabel 4.7 energi interaksi reseptor dan ligan diperoleh dari Rumus di atas. Setelah optimasi, energi interaksi pada YASARA memiliki perubahan yang sangat signifikan dimana energi interaksi cluster 2 dan 3 tidak selalu menjadi lebih besar dibandingkan cluster 1. Perubahan energi disebabkan oleh YASARA meminimasi molekul di ruang kristal dan menggunakan unit sel lengkap, sehingga medan gaya yang bekerja memiliki energi minimum yang stabil dan memiliki posisi terdekat dengan struktur asli (Krieger et al., 2002).

Tabel 4.7 Hasil energi interaksi R-L golongan flavonoid menggunakan YASARA

Nama senyawa	Cluster	Energi binding hasil <i>docking</i> (kcal/mol)	E _{R-L} interaksi (Kcal/mol)
<i>Cefotaxime</i>	1	-8,57	-5,82
Quercetin	2	-8,17	-84,73
Kaempferol	3	-7,13	-71,27
Rutin	1	-11,12	-25,96
Myricetin	1	-8,32	-82,84
Morin	1	-7,72	-138,51
Galangin	2	-6,98	-97,36
Quercitrin	1	-9,50	-41,96
Cyanidin	1	-8,44	-130,76
Naringenin	1	-7,45	-188,59
Epicatechin	1	-8,06	-43,96

$$E_{\text{interaksi R-L}} = E_{\text{R-L}} - (E_{\text{R}} + E_{\text{L}})$$

Keterangan :

E_{R-L} = Energi kompleks reseptor-ligan teroptimasi

E_R = Energi reseptor teroptimasi

E_L = Energi ligan teroptimasi

4.6 Analisis dan Visualisasi Hasil *Docking*

Analisis dan visualisasi hasil dari proses penambatan yang dilakukan pada penelitian ini meliputi nilai ΔG_{bind} , data RMSD masing-masing konformasi ligan, analisis posisi dan orientasi ligan di dalam makromolekul protein serta residu makromolekul protein yang berinteraksi dengan ligan tambat.

Data konformasi masing-masing ligan *docking* diperingkatkan berdasarkan nilai ΔG_{bind} dari nilai terendah hingga tertinggi. Data hasil *docking* tersebut menunjukkan kestabilan konformasi yang terbentuk ketika ligan berikatan dengan makromolekul. Konformasi dengan nilai ΔG_{bind} rendah menunjukkan bahwa konformasi tersebut stabil saat berikatan dengan sisi aktif makromolekul sedangkan ΔG_{bind} dengan nilai tinggi menunjukkan konformasi tersebut yang kurang stabil saat berikatan dengan makromolekul. Data nilai ΔG_{bind} dari masing- masing ligan dan residu-residu asam amino yang berinteraksi dengan ligan dapat dilihat pada Tabel 4.8.

Tabel 4.8 Data nilai ΔG_{bind} dan residu protein PBP3 yang terdeteksi berinteraksi dengan ligan pada discovery studio (DS) sesudah teroptimasi

Nama Ligan	ΔG_{bind} (kkal/mol)	Residu		
		Ikatan Hidrogen	Van der Walls	Ikatan non kovalen lain
<i>Cefotaxime Redocking</i>	-8.79	<u>Ser392, Ser429, His447, Ser448, Asn450, Thr621.</u>	-	Glu623.
Quercetin	-8.17	<u>Ser392, Ser448, Asn450, Gln524.</u>	Tyr430	Ser429, Val632.
<i>Kaempferol</i>	-7.13	<u>His447, Asn450, Gln524.</u>	-	Ser429
<i>Rutin</i>	-11.12	<u>Ser392, Ser429, His447, Ser448, Ser449, Thr619, Thr621, Pro660, Pro661.</u>	-	Pro659
<i>Myricetin</i>	-8.32	<u>Ser392, His447, Asn450, Gln524.</u>	Tyr430	Ser429, Val632.
Morin	-7.72	<u>His447, Asn450, Gln524, Thr621.</u>	-	Ser429
<i>Galangin</i>	-6.98	<u>Ser429, His447.</u>	Tyr430	Pro660
<i>Quercitrin</i>	-9.50	<u>Ser392, Ser429, Ser448, Asn450, Thr619, Gly620, Thr621.</u>	-	Pro660, Pro661.
Cyanidin	-8.44	<u>His447, Ser448, Asn450.</u>	Tyr430	Ser429, Val632, Pro660.
Naringenin	-7.45	<u>Ser392, Ser448, Asn450, Gly620, Thr621, Leu663.</u>	-	Pro660
Epicatechin	-8.06	<u>Ser449, His447, Ser449, Gln524, Thr621.</u>	-	-

Keterangan :

Residu asam amino dengan garis bawah adalah residu asam amino kunci pada interaksi cefotaxime PBP3

Berdasarkan Tabel 4.8 terdapat perbedaan residu sebelum optimasi (Tabel 4.6) dan setelah optimasi (Tabel 4.8). Hal ini terjadi karena diperoleh energi yang lebih stabil dari proses sebelumnya dengan menggunakan medan gaya NOVA AMBER (Protein + nucleotide Optimization in Vacuo). Medan gaya Amber

merupakan program mekanika molekul yang didesain untuk perhitungan asam nukleat dan peptida (Krieger, et al., 2002).

Selanjutnya yaitu interaksi residu-residu PBP3 dengan senyawa Flavonoid. Data residu-residu pada Tabel 4.8 menunjukkan residu Ser392, Ser429, His447, Ser448, Asn450, dan Thr621 mendominasi interaksi ikatan dengan seluruh senyawa Flavonoid dengan membentuk interaksi ikatan hidrogen. Sedangkan senyawa yang memiliki interaksi yang sama seperti *cefotaxime redocking* ada 2 yaitu Rutin yang berinteraksi dengan residu Ser392, Ser429, His447, Ser448, Asn450, dan Thr621. Kemudian Quercitrin yang berinteraksi dengan residu Ser329, Ser429, Ser448, Asn450, dan Thr621.

Residu-residu tersebut terdeteksi sebagai interaksi ikatan hidrogen dengan senyawa Rutin dan Quercitrin. Residu Ser392, Ser429, Ser448, dan Thr621 yang memiliki gugus samping OH bertindak sebagai donor ikatan dan atom O senyawa flavonoid bertindak sebagai aseptor ikatan.

Hasil analisis berdasarkan interaksi ligan dengan residu protein dapat disimpulkan bahwa Rutin dan Quercitrin merupakan senyawa yang dapat dikandidatkan dapat bekerja seperti *cefotaxime*. Dalam hal ini bukan berarti senyawa-senyawa Flavonoid lain tidak dapat menjadi kandidat, karena jika dilihat dari nilai ΔG_{bind} dan residu-residu selain Ser392, Ser429, His447, Ser448, Asn450, dan Thr621 senyawa-senyawa tersebut memiliki potensi dan dapat tertambat dengan baik dalam binding site *cefotaxime* sehingga dapat membentuk interaksi ikatan hidrogen dengan residu tersebut.

Mekanisme antibakteri *cefotaxime* ada 4, yaitu: (1) *Cefotaxime* dapat merusak bakteri jika masuk ke dalam sel bakteri dengan cara merusak dinding sel ataupun

pori-pori pada dinding sel, (2) Ketika masuk, *cefotaxime* merusak organel sel seperti struktur intraseluler (mitokondria, vakuola, ribosom) atau biomolekul (protein, lipid, dan DNA), (3) *Cefotaxime* menginduksi toksisitas seluler dan stres oksidatif yang dapat mempengaruhi kerusakan organel sel, dan (4) *Cefotaxime* mengendalikan jalur transduksi reseptor untuk merusak sinyal DNA.

Komponen penting untuk aktivitas antibakteri dari *cefotaxime* adalah gugus NH_4^+ yang bermuatan positif dapat berinteraksi dengan dinding sel yang bermuatan negatif seperti lipoprotein. *Cefotaxime* berikatan dengan lipoprotein yang kaya fosfat pada membran luar *S. aureus*, yang menyebabkan kesalahan lipatan dan oksidasi protein, mengaktifkan respons σ^E -stres. Oksidasi intraseluler yang konstan ini menyebabkan kerusakan DNA untai tunggal dan mengalahkan mekanisme pertahanan sel terhadap ROS (Spesi oksigen reaktif). *Cefotaxime* berdifusi ke dalam bakteri melalui lubang dinding sel dan membentuk radikal yang mengoksidasi protein dan DNA, mengaktifkan respons SOS yang menyebabkan kematian sel (Morrison et, al 2016).

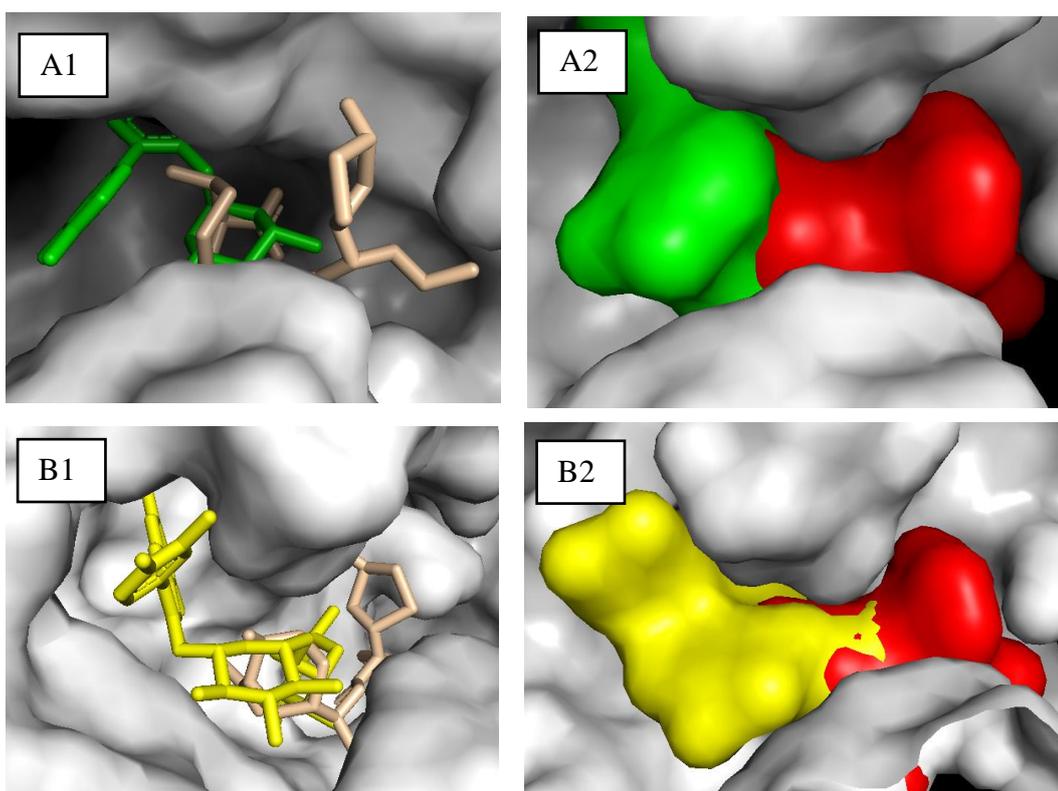
Pembahasan selanjutnya yaitu tentang posisi dan kesesuaian bentuk ligan dalam situs tambat reseptor. Kunci kesesuaian bentuk dalam *docking* merupakan permukaan molekul atau permukaan suatu kompleks. Permukaan reseptor dideskripsikan sebagai permukaan pelarut sedangkan permukaan ligan dideskripsikan sebagai pencocok permukaan reseptor tersebut. Kesesuaian antara keduanya sama dengan deskripsi dari kesesuaian bentuk dan volume yang dapat membantu menemukan pose terbaik dari ligan dan protein targetnya (Mukesh & Rakesh, 2011).

Visualisasi posisi dan kesesuaian ruang pada PBP3 dilakukan menggunakan program Pymol. Pada analisis posisi dan kesesuaian ruang dilakukan dengan membandingkan senyawa ligan Flavonoid yang memiliki interaksi yang dominan sama dengan *cefotaxime redocking* yaitu Rutin dan Quercitrin yang dapat dilihat pada Gambar 4.6.

Berdasarkan Gambar 4.6 dapat dilihat bahwa dari 2 senyawa Flavonoid tersebut Rutin memiliki posisi yang mirip dengan *cefotaxime* sedangkan untuk pengamatan kesesuaian ruang, Rutin terlihat juga menyesuaikan permukaannya dengan permukaan PBP3 dengan baik, sehingga memenuhi ruang binding site yang membuat volume atau kapasitas ruang yang diikat oleh Rutin terlihat penuh jika dibandingkan dengan senyawa Flavonoid lainnya yang terlihat masih memiliki ruang kosong di sekitar daerah tambatnya.

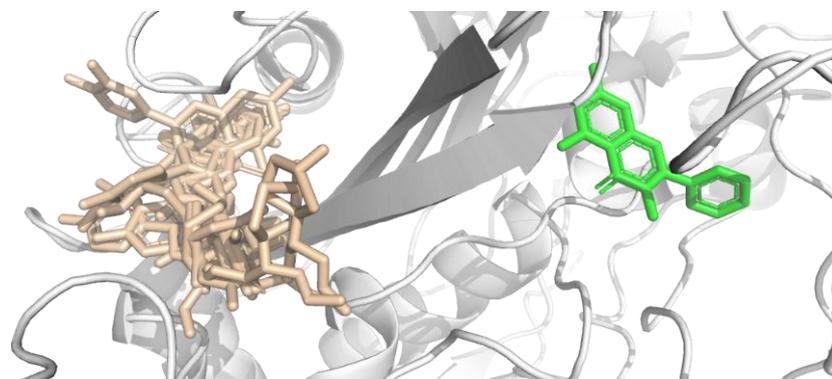
Analisis akhir dari data hasil *docking* yaitu berdasarkan nilai ikatan (*binding affinity*) antara ligan dan makromolekul. Tabel 4.7 menunjukkan residu-residu makromolekul protein yang berinteraksi dengan ligan. Pada tabel tersebut diketahui residu Ser atau Serin merupakan residu protein yang berkontribusi besar dalam interaksi dengan makromolekul PBP3 dalam penelitian ini. Hal ini dikarenakan Serina termasuk dalam residu jenis ionik yang memberikan kontribusi terbesar dalam penentuan nilai ΔG_{bind} . Selain Serin, residu-residu asam amino yang lain yang dapat berinteraksi dengan membentuk interaksi adalah Lisin (Lys), Treonin (Thr), dan Histidin (His). Interaksi ionik merupakan interaksi terkuat di antara interaksi intermolekul yang lain (Patrick, 2012).

Berdasarkan teori tersebut diketahui Rutin dan Quercitrin memiliki nilai ΔG_{bind} yang terbaik dibandingkan dengan senyawa-senyawa Flavonoid lainnya karena baik Rutin dengan nilai ΔG_{bind} . -11.12 kkal/mol maupun Quercitrin dengan nilai ΔG_{bind} . -9.50 kkal/mol terdeteksi berinteraksi dengan 4 residu ionik. Sehingga dapat dikatakan residu ionik ini sangat mempengaruhi nilai ΔG_{bind} yang dihasilkan. Sehingga bila ditinjau berdasarkan nilai ΔG_{bind} , seluruh senyawa Flavonoid dapat dikandidatkan sebagai antibakteri karena besaran energi interaksi dalam interaksi intermolekuler yaitu diatas -7 kkal/mol hingga -30 kkal/mol. Kecuali Galangin yang ΔG_{bind} berada dibawah -7 kkal/mol, yaitu -6.98 kkal/mol. Galangin tidak bisa digunakan sebagai senyawa antibakteri dikarenakan letak situs aktifnya yang jauh dari ligan natifnya, dapat dilihat dari Gambar 4.7



Gambar 4.4 Visualisasi posisi dan kesesuaian ruang **ligan rutin dan quercitrin**;
(A1) perbandingan posisi rutin dengan *cefotaxime redocking*
(A2) kesesuaian ruang rutin dengan *cefotaxime redocking*

(B1) perbandingan posisi quercitrin dengan *cefotaxime redocking*
(B2) kesesuaian ruang quercitrin dengan *cefotaxime redocking*



Gambar 4.7 Visualisasi posisi dan kesesuaian ruang ligan Galangin (hijau), dan ligan uji Flavonoid lainnya (krim)

Tahapan akhir visualisasi yaitu diidentifikasi apakah masih ada ruang kosong yang belum terisi oleh ligan. Ketika sudah teridentifikasi ruang kosong tersebut, dimungkinkan untuk melakukan modifikasi ligan dengan menambahkan substituen ataupun gugus fungsi yang dapat mengisi ruang kosong tersebut. Adanya penambahan substituen yang cocok dan sesuai dengan ruang kosong tersebut diperkirakan dapat menambah keefektifan ligan sebagai obat. Selain itu dengan adanya data-data residu yang berinteraksi dengan ligan dapat memberikan gambaran untuk menentukan substituen-substituen yang dapat ditambahkan dengan tepat kepada ligan sehingga menghasilkan interaksi yang lebih baik (Patrick, 2013).

Modifikasi struktur ligan juga dapat dilakukan dengan mengganti bagian kurang penting ligan dan tetap mempertahankan gugus fungsi (farmakofor) ligan. Modifikasi ini dilakukan di posisi yang jauh dari gugus farmakofor. Bila modifikasi dilakukan pada gugus farmakofor akan menurunkan aktivitas ligan sebagai obat dikarenakan ikatan yang terlibat dengan proses interaksi ligan-reseptor hilang (Siswandono, 2016).

Tujuan perancangan obat adalah menemukan kandidat obat baru yang diharapkan memiliki aktivitas yang lebih baik, lebih ekonomis, memiliki efek samping yang minimal, bekerja selektif, dan memiliki masa kerja yang lebih lama. Menemukan suatu senyawa yang memiliki aktivitas seperti obat, belum tentu senyawa tersebut dapat bekerja seperti obat tersebut ataupun dapat diberikan secara oral. Dalam proses penemuan obat yang layak beredar di masyarakat diperlukan proses panjang meliputi skrining, rancangan menggunakan komputer, permodelan molekul, pengembangan senyawa obat, formulasi dan menjadi obat (Klebe, 2013).

Docking atau penambatan molekul digunakan untuk memprediksikan interaksi ligan dengan reseptor target melalui nilai afinitas kompleks ligan-reseptor. Nilai afinitas yang diperoleh dari hasil *docking* tidak dapat langsung diartikan bahwa senyawa ligan dapat bekerja aktif dalam reseptor. Validasi lanjut perlu dilakukan baik secara *in vitro* maupun *in vivo* terhadap data-data yang diperoleh dari proses *docking*. Meskipun demikian, *docking* memiliki peran penting untuk langkah awal proses perancangan obat baru terutama dalam permodelan molekul. Sehingga *docking* dapat meminimalkan faktor *trial and error*, lebih ekonomis dan lebih menghemat waktu. Dengan adanya metode *docking* untuk perancangan obat ini mendorong perkembangan teknologi dan ilmu pengetahuan tentang studi interaksi ligan dengan reseptor sehingga peran *docking* akan semakin meningkat dalam proses penemuan obat baru (Siswandono, 2016).

4.7 Hasil Uji Kemiripan Obat dan Sifat Fisikokimia dengan Parameter ADME (Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Ekskresi)

Suatu molekul obat yang kuat harus mencapai targetnya dalam tubuh dengan konsentrasi yang cukup, dan berada dalam tubuh dalam bentuk bioaktif yang cukup

lama agar terjadi peristiwa biologis yang diharapkan dan juga efektif sebagai obat. Pengembangan obat melibatkan penilaian penyerapan, distribusi, metabolisme dan ekskresi (ADME). Dalam konteks ini, aplikasi berbasis komputer adalah salah satu cara untuk melakukan penelitian ini, aplikasi tersebut yaitu swissADME. SwissADME adalah software berbasis web yang digunakan untuk memprediksi sifat-sifat fisika-kimia dengan parameter ADME, sifat farmakokinetik dan sifat kemiripan obat dari satu senyawa atau lebih (Daina et al., 2017).

Tabel 4.9 Nilai Sifat Fisikokimia dengan Parameter ADME

Molekul	MW	Fraksi karbon sp ³	Fleksibilitas	TPSA (Å)	XLOGP3	Log S
<i>Cefotaxime</i>	455,47	0,38	9	227,05	-1,36	-1,34
Quercetin	302,24	0	1	131,36	1,54	-3,16
Kaempferol	286,24	0	1	111,13	1,90	-3,31
Rutin	610,52	0,44	6	269,43	0,33	-3,30
Myricetin	318,24	0	1	151,59	1,18	-3,01
Morin	302,24	0	1	131,36	1,54	-3,16
Galangin	270,24	0	1	90,90	2,25	-3,46
Quercitrin	448,38	0,29	3	190,28	0,86	-3,33
Cyanidin	287,24	0	1	114,29	0,77	-2,60
Naringenin	272,25	0,13	1	86,99	2,52	-3,49
Epicatechin	290,27	0,20	1	110,38	0,36	-2,22

Suatu senyawa dikatakan memiliki permeabilitas tinggi apabila memenuhi 2 kriteria atau lebih dari aturan Lipinski, yaitu lipofilisitas: XLOGP3 antara -0,7 sampai +5,0; ukuran: MW antara 150 sampai 500 g/ mol; polaritas: TPSA antara 20 sampai 130 Å; kelarutan: log S tidak lebih tinggi dari 6; saturasi: fraksi karbon dalam hibridisasi sp³ tidak kurang dari 0,25 dan fleksibilitas: tidak lebih dari 9 ikatan yang dapat diputar (Lihat Tabel 4.9) (Daina et al., 2017).

Hasil analisis fisikokimia *Cefotaxime* memiliki bobot molekul kurang dari 500 g/ mol, fraksi karbon dalam hibridisasi sp³ lebih dari 0,25, XLOGP3 dibawah -0,7 TPSA diatas 130 Å, log S dibawah 6, fleksibilitas sebanyak sembilan yang

berarti terdapat 2 penyimpangan hukum lipinski dan hal tersebut menunjukkan bahwa *Cefotaxime* memiliki permeabilitas yang tinggi sebagai obat.

Hasil analisis fisikokimia terhadap 10 senyawa turunan flavonoid yang memiliki afinitas ikatan paling negatif dibandingkan dengan ligan asli (*Cefotaxime*), diperoleh empat senyawa turunan Flavonoid dengan 2 penyimpangan hukum lipinski yaitu Quercetin, Rutin, Myricetin, Morin dan 5 senyawa turunan Flavonoid yang memiliki 1 penyimpangan hukum lipinski yaitu kaempferol, Galangin, Quercitrin, Cyanidin, Naringenin, Epicatechin.

Molekul yang memiliki kelarutan yang baik merupakan suatu keuntungan dalam pengembangan obat karena sifat fisikokimia ini sangat penting dalam proses farmakokinetik (ADME), terlebih untuk obat-obat yang diberikan secara oral dan jenis obat parenteral harus sangat larut dalam air (Daina et al., 2017). Penilaian kelarutan dilakukan secara komputasi menggunakan webtools SwissADME dengan metode ESOL yang dikembangkan oleh Delaney dengan kriteria penilaian tidak boleh lebih dari 6 (Delaney, 2004). Koefisien partisi antara n-oktanol dan air merupakan parameter lipofilisitas yang merupakan desain senyawa yang sangat penting karena berhubungan dengan proses absorpsi dan ikatan protein (Ariyanto, 2007) dengan rentan nilai $-0,7$ sampai $6,0$. Pada penelitian ini, baik ligan asli maupun ligan uji (senyawa turunan flavonoid) memiliki skor tidak lebih dari 6 yang berarti 10 senyawa tersebut tergolong senyawa yang memiliki kelarutan yang baik.

Bobot molekul dari suatu senyawa sangat mempengaruhi permeabilitas suatu obat. Selain dipengaruhi oleh bobot molekul, permeabilitas juga dipengaruhi oleh akseptor ikatan hidrogen dan donor ikatan hidrogen. Semakin besar akseptor dan

donor ikatan hidrogen maka permeabilitas ligan akan semakin buruk. Sehingga ini akan mempengaruhi proses dari absorpsi dan distribusi obat itu sendiri.

Topological polar surface area (TPSA) merupakan luas semua permukaan atom polar dari senyawa obat. Nilai TPSA dapat digunakan untuk optimasi kemampuan obat menembus membran sel. Setelah di absorpsi tentunya obat akan dimetabolisme dan didistribusikan ke seluruh tubuh sehingga efek dari pemberian obat tersebut dapat tercapai dan tentunya proses ini dipengaruhi oleh sifat fisikokimia suatu obat seperti bobot molekul, akseptor dan donor ikatan hidrogen, Permeabilitas yang tinggi berpengaruh pada proses ekskresi, makin tinggi permeabilitas suatu zat, maka akan lebih mudah diekskresikan. Sedangkan permeabilitas itu sendiri dipengaruhi oleh sifat fisikokimia suatu zat (Benet et al., 2016).

4.8 PASS Online (*Prediction of activity Spectra for Substances*)

Analisis dengan Menggunakan software PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances) senyawa turunan Flavonoid diprediksi aktivitasnya dalam mencegah atau mengobati PBP3 (sebagai antibakteri). Analisis PASS berdasarkan pada SAR (Structure Activity Relationship) atau hubungan antara struktur dari senyawa tersebut dengan aktivitas biologinya (Filimonov et al, 2014). Berdasarkan hasil uji PASS (Prediction of Activity Spectra for Substance) Quercetin, Kaempferol, Rutin, Myricetin, Morin, Galangin, Quercitrin, Naringenin, dan Epicatechin memiliki nilai P_a lebih dari 0,3 ($P_a > 0,3$). (Lihat Tabel 4.10).

Tabel 4.10 Nilai Pa dan Pi dengan Parameter PassOnline

Senyawa	Pa	Pi	Senyawa	Pa	Pi
<i>Cefotaxime</i>	0,971	0,001	Morin	0,979	0,001
Quercetin	0,973	0,002	Galangin	0,98	0,001
Kaempferol	0,983	0,001	Quercitrin	0,989	0,001
Rutin	0,993	0,001	Naringenin	0,964	0,003
Myricetin	0,984	0,001	Epicatechin	0,989	0,001

Hasil prediksi PASS ditunjukkan dengan nilai Pa (Probable activity) dan Pi (Probable inactivity). Nilai Pa merupakan estimasi kemungkinan suatu senyawa untuk aktif melakukan aktivitas biologis (antibakteri) dalam eksperimen laboratorium, sedangkan nilai Pi merupakan kebalikannya. Apabila suatu senyawa memiliki Pa lebih besar daripada Pi ($Pa > Pi$), maka dapat diperkirakan bahwa senyawa tersebut berpotensi memiliki aktivitas biologi yang diharapkan, yaitu memblokir reseptor PBP3. Semakin besar nilai Pa maka semakin besar kemungkinan yang dimiliki senyawa tersebut untuk memblokir reseptor PBP3 dalam kepentingan eksperimen laboratorium (Ivanov et al., 2018). Hal ini menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki kemiripan dengan struktur senyawa yang selama ini telah teruji secara eksperimental dapat memblokir reseptor PBP3. Senyawa-senyawa tersebut memiliki nilai $Pa < 0,5$ dan $Pa > 0,5$ yang artinya senyawa-senyawa tersebut ada yang memiliki kemungkinan yang cukup kuat dan ada yang memiliki kemungkinan rendah sebagai antibakteri dalam memblokir reseptor PBP3. Akan tetapi, hal ini bukan berarti bahwa senyawa tersebut secara pasti memiliki aktivitas biologis yang rendah sebagai antibakteri dalam memblokir reseptor PBP3. Oleh karena itu, molecular *docking* perlu dilakukan untuk mengkonfirmasi hasil dari PASS.

Ayat Al-Qur'an yang menggambarkan perumpamaan metode *docking* yang digunakan pada penelitian ini yaitu QS. Yasin (36) ayat 36:

سُبْحٰنَ الَّذِيْ خَلَقَ الْاَزْوَاجَ كُلَّهَا مِمَّا تُنْبِتُ الْاَرْضُ وَمِنْ اَنْفُسِهِمْ وَمِمَّا لَا يَعْلَمُوْنَ

Artinya: “Maha Suci Tuhan yang telah menciptakan pasangan-pasangan semuanya, baik dari apa yang ditumbuhkan oleh bumi dan dari diri mereka maupun dari apa yang tidak mereka ketahui”

Berdasarkan ayat tersebut, kata (الازواج) atau *al-azwaj* memiliki arti berpasangan-pasangan yang dalam penelitian ini digambarkan ketika melakukan proses *docking* terjadi proses mencari posisi ataupun letak yang cocok untuk ligan saat berikatan dengan sebuah makromolekul protein. Selanjutnya kata (مِمَّا تُنْبِتُ الْاَرْضُ) atau *mimma tumbitul ardhi* memiliki arti ‘dari apa yang ditumbuhkan di bumi’ yang dalam penelitian ini dicontohkan dengan senyawa-senyawa aktif yang diperoleh dari buah Pare yang diteliti dan diketahui memiliki aktivitas biologi sebagai antibakteri. Selanjutnya yaitu kata (وَمِنْ اَنْفُسِهِمْ) atau *wamin anfusihim* yang artinya ‘dari diri mereka sendiri’ yang dalam penelitian ini menggambarkan pemilihan reseptor *Stapylococcus aureus* yang ada di dalam kulit dan kata (وَمِمَّا لَا يَعْلَمُوْنَ) atau *wamimmaa laa ya'lamuun* yang memiliki arti ‘dari apa yang mereka tidak ketahui’ yang mana proses yang terjadi di dalam kulit tidak dapat diketahui secara langsung oleh manusia. Berdasarkan ayat tersebut diketahui betapa besarnya kuasa Allah SWT yang dapat memasang-pasangkan segala sesuatu yang ada di bumi hingga terjadinya proses biologis yang sangat kompleks di dalam tubuh. Sesungguhnya hal-hal tersebut merupakan suatu pembuktian bahwa Allah SWT maha kuasa atas segala penciptaan-Nya.

Segala sesuatu yang diciptakan di muka bumi ini berpasang-pasangan dan bukan tanpa tujuan, melainkan semua diciptakan dengan tujuan tertentu. Namun tidak semua tujuan yang dimaksudkan Allah SWT diketahui oleh manusia, seperti halnya manfaat Pare yang harus terus digali potensinya, sehingga semua itu harus dipelajari terlebih dahulu. Sebagaimana firman Allah SWT dalam surat adz-Dzariyat ayat 49:

وَمِنْ كُلِّ شَيْءٍ خَلَقْنَا زَوْجَيْنِ لَعَلَّكُمْ تَذَكَّرُونَ

Artinya: “*dan segala sesuatu Kami ciptakan berpasang-pasangan supaya kamu mengingat kebesaran Allah.*” (Q.S adz-Dzariyat/51:49).

Menurut Tafsir Ibnu Katsir Jilid 7 (1997) makna dari lafadz “*Waminkulli syaiin kholaqnaa zaujaini*” (dan segala sesuatu Kami ciptakan berpasang-pasangan), yaitu seluruh makhluk itu berpasang-pasangan; langit dan bumi, siang dan malam, matahari dan bulan, daratan dan lautan, terang gelap kesengsaraan dan kebahagiaan, surga dan neraka, hidup dengan mati, bahkan sampai pada hewan dan juga tumbuhan yang masing-masing juga berpasangan. Oleh karena itu Allah Ta’ala berfirman, “*La’alukum Tadzkuruun*” (supaya kamu mengingat akan kebesaran Allah), maka hendaklah hamba-hamba-Nya ingat kepada-Nya sebagai Maha pencipta yang Maha Esa tiada bersekutu, maksudnya, berlindunglah kalian kepada-Nya, dan bersandarlah kepada-Nya dalam menangani semua urusan kalian. Hal tersebut menunjukkan bahwa Allah SWT menciptakan segala sesuatu dengan berpasang-pasangan, dalam hal ini Allah menciptakan penyakit berupa *Staphylococcus aureus* sekaligus menciptakan obatnya berupa Flavonoid yang hidup di dalam jaringan tanaman Pare dan mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri.

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan:

1. Rutin dan quercitrin memiliki pose dan kesesuaian ruang dalam cavity/rongga situs aktif pengikatan cefotaxime pada PBP3 yang mirip dengan cefotaxime sedangkan untuk pengamatan kesesuaian ruang, rutin dan quercitrin terlihat juga menyesuaikan permukaannya dengan permukaan PBP3 dengan baik.
2. Hasil *docking*/ penambatan senyawa-senyawa aktif golongan Flavonoid buah Pare (*Momordica charantia* L.) rutin dan quercitrin memiliki interaksi ikatan hidrogen asam amino pada situs aktif PBP3 yang sama dengan cefotaxime yaitu Ser392, Ser429, Ser448, Asn450, dan Thr621. Rutin dan quercitrin memiliki nilai ΔG_{bind} -11,12 dan -9,50 berturut-turut.

5.2 Saran

1. Hasil ini merupakan permodelan molekul yang meramalkan aktivitas secara komputerisasi. Perlu dilakukan uji lanjut yaitu uji *in vitro* dan *in vivo* untuk mengetahui aktivitas senyawa-senyawa tersebut.
2. Perlu dilakukan optimasi kompleks ligan setelah *docking* menggunakan metode yang lebih teliti, misalnya menggunakan metode mekanika kuantum semi empirik

DAFTAR PUSTAKA

- Accelrys Enterprise Platform. (2005). *Introduction to the Discovery studio Visualizer*. San Diego, California, U.S.A: Accelrys Software Inc.
- Ad-Dimasyqi, Al-imam Abu Fida Ismail Ibn Katsir, Tafsir Al-Qur'an al-Adzim, juz 4 (Bandung: Sinar Baru Algesindo,2000).
- Ismail bin Umar Al-Quraisyi bin Katsir Al-Bashri Ad-DimasyqiAdelberg, Jawetz, Melnick. (2008). *Medical Microbiology*. Edisi 23. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Al Rosyad, F. A. (2012). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Pare (*Momordica charantia* L.) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* Secara In Vitro.
- Alfiah, I. (2016). Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Daun Pepaya Gunung (*Carica Pubescens* Lenne & K. Koch) Terhadap Bakteri *Salmonella Typhi* Secara In Silico Dan In Vitro (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim).
- Al-Mahalli, Jalaluddin & Jalaluddin As-Suyuthi. *Tafsir Jalalain*.Terj. Bahrhun Abu Bakar. Jakarta: Sinar Baru Algensindo.
- Angelica, N. (2013). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun dan Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii* (Nees & Th. Nees)) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Calyptra* 2(2):1-8.
- Ariyanto. 2007. Penentuan sifat lipofilisitas senyawa turunan kuinolon secara kimia komputasi dan analisis hubungan sifat lipofilisitas terhadap aktivitas anti toksoplasma. ed. FFUSD Yogyakarta
- Basuki, S. A., & Melinda, N. (2017). Prediksi Mekanisme Kerja Obat Terhadap Reseptornya Secara in Silico (Studi pada Antibiotika Sefotaksim). Research Report.
- Benet LZ, Hosey CM, Ursu O, et al. 2016. BDDCS, the Rule of 5 and drugability. *Advanced drug delivery reviews* 101: 89-98
- Boucher, H. W. & Corey, G. R. (2008), 'Epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*', *Clin*.
- Brooijmans, N., & Kuntz, ID. (2003). Molecular Recognition and *Docking* Algorithms. *Annu Rev Biophys Biomol Struct*.
- Brown, D.F.J., Edwards, D.I., Hawkey, P.M., Morrison, D., Ridgway, G.L., Towner, K.J. & Wren, M.W.D. (2005). 'Guidelines for the laboratory diagnosis and susceptibility testing of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)', *J Antimicrob Chemother*, vol. 56.

- Chagas, C. M., Moss, S., & Alisaraie, L. (2018). Drug metabolites and their effects on the development of adverse reactions: Revisiting Lipinski's Rule of Five. *International journal of pharmaceutics*, 549(1-2), 133–149.
- Chambers, H.F., Deleo, F.R. (2009). 'Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era', *Nat Rev Microbiol*, vol. 7, no. 9.
- Chaudhary, K. K., Mishra, N. (2016). A Review on Molecular *Docking*: Novel Tool for Drug Discovery. *JSM Chem*, 4(3), 1029.
- Chen, K., & Kurgan, L. (2009). Investigation of Atomic Level Patterns in ProteinSmall Ligand Interactions.
- Cosgrove, S.E. (2006). 'The relationship between antimicrobial resistance and patient outcomes: mortality, length of hospital stay, and health care costs', *Clin Infect Dis*, vol. 42.
- Daina, Antoine.,Olivier Michielin&Vincent Zoete. 2017. SwissADME: A Free Web Tool To Evaluate Pharmacokinetics, Drug-likeness and Medicinal Chemistry Friendliness of Small Molecules. *Scientific Reports*. volume7.
- Delaney JS. 2004. ESOL: estimating aqueous solubility directly from molecular structure. *J Chem Inf Comput Sci* 44: 1000-5
- Dzen, S.M., Roekistiningsih, Santoso, S., & Winarsih, S. 2003. *Bakteriologi Medik*. Bayumedia Publisng.Malang. Farhadi, F., Khameneh, B., & Iransh, M. (2018). Antibacterial activity of flavonoids and their structure activity relationship: An update review. *Phytotherapy Research*, 1-28.
- Enright, M., Robinson, D., Randle, G., Fell, E., Grundmann, H. & Spratt, B. (2002). 'The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)', *PNAS*, vol. 99, no. 11.
- Erickson Jon A., Mehran Jalaie, Daniel H. Robertson, Richard A. Lewis, dan Michal Vieth. (2004). Lessons in *Molecular Recognition: The Effects of Ligand and Protein Flexibility on Molecular Docking Accuracy*. *J. Med. Chem* 47, 45-55
- Farhadi, F., Khameneh, B., & Iransh, M. (2018). Antibacterial activity of flavonoids and their structure activity relationship: An update review. *Phytotherapy Research*, 1-28.
- Filimonov, D.A., Lagunin, T. A., Glorizova, A. V., Rudik, D.S., Druzhilovskii, P.V., Poroikov. (2014). Prediction of The Biological Activity Spectra of Organic Compounds Using the Pass Online Web Resource. *Russian Original*.Vol. 50.No.3.
- Finke, B., Polak, M., Hempel, F., Schroeder, K., Lukowski, G., Müller, W. D., & Weltmann, K. D. (2012). Electrochemical Assessment of Cu-PIII Treated

- Titanium Samples for Antimicrobial Surfaces. In *Materials Science Forum* (Vol. 706, pp. 478-483). Trans Tech Publications Ltd.
- Fitri, Nyoman. 2014. Butylated hydroxyanisole sebagai Bahan Aditif Antioksidan pada Makanan dilihat dari Perspektif Kesehatan. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. Vol 4, 41-50. Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Kemenkes RI.
- Fuhrmann, J., Rurainski, A., Lenhof, Hans-Peter., & Neumann, D. (2010). A New Lamarckian Genetic Algorithm for Flexible Ligand-Receptor *Docking*. *Journal of Computational Chemistry*, 31(9), 1911-1918.
- Geo. F. Brooks., Karen. C. Carroll., Janet. Butel., Stephen. A. Morse., & Timothy. A. Mietzner., (2005). *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi ke-25. EGC.
- Hedblom EC, Smulders M, Lapetina E, Gemmen E. The Burden of *Staphylococcus aureus* Infection Hospitals in The United State. 2011;165:1756–61.
- Herbie, Tandi. 2015. *Kitab Tanaman Berkhasiat Obat-226 Tumbuhan Obat untuk Penyembuhan Penyakit dan Kebugaran Tubuh*. Yogyakarta: Octopus Publishing House, p:359.
- Herlina Widyaningrum. (2011). *Kitab Tanaman Obat Nusantara disertai Indeks Pengobatan*. Yogyakarta: MedPress
- Huang, S. Y., Grinter, S. Z., & Zou, X. (2010). Scoring Functions and Their Evaluation Methods for Protein-Ligand *Docking*: Recent Advances and Future Directions. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 12(40), 12899-12908.
- Huey, R., Morris, G. M., Olson, A. J., & Goodsell, D. S. (2007). A Semiempirical Free Energy Force Field with Charge-Based Desolvation. *Journal of Computational Chemistry*, 28(6), 1145-1152.
- I Ketut A.Y, Made S.A, Anak A.G.O.D. (2013). "Identifikasi Golongan Senyawa Kimia Estrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia*) dan Pengaruhnya Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Tikus Putih Jantan (*Rattus novergicus*) yang Diinduksi Aloksan." *Buletin Veteriner Udayana*.
- Ivanov, Sergey M., Alexey A. L., Anastasia V. R. Dmitry A. F. dan Vladimir V. P. 2018. ADVERPred- Web Service for Prediction of Adverse Effects of Drugs. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 58: 8-11
- Jain, A. J. dan Nicholls. A., (2008). Recommendations for evaluational methods. *J. Comput. Aided Mol.*, 22: 133-139.
- Jamkhande, P. G., Wattamwar, A. S., Pekamwar, S. S., & Chandak, P. G. (2014). Antioxidant, antimicrobial activity and in silico PASS prediction of *Annona reticulata* Linn. root extract. Beni-Suef University. *Journal of Basic and Applied Sciences*. 3(2), 140–148.

- Jones, G., Willet, P., Glen, R. C., Leach, A. R., & Taylor, R. (1997). Development and Validation of A Genetic Algorithm for Flexible *Docking*. *Journal of Molecular Biology*, 267(3), 727-748.
- Joyce, James., Baker, Colin., dan Swain, Helem. (2002). *Prinsip-prinsip Sains untuk Keperawatan. Terjemahan oleh Wardhani, Indah Retno. 2008*. Jakarta: Erlangga.
- Katili, Abubakar Sidik. (2009). Struktur dan Fungsi Protein Kolagen. *Jurnal Pelangi Ilmu*, 2(5).
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2011). Pedoman Surveilens Infeksi.
- Kitchen, D. B., Decornez, H., Furr, J. R., & Bajorath, J., (2004), *Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications*, *Nature reviews Drug discovery*, 3(11), 935-949.
- Klebe, G. (2013). *Drug Design: Methodology, Concepts, and Mode-of-Action*. 901(1). SN - 978-3-642-17906-8
- Korb, O., Stützle, T., Exner, T. E., (2007). An Ant Colony Optimization Approach to Flexible Protein-Ligand *Docking*, *Swarm Intell*, 1, 115-134.
- Krieger, et al., (2002). *Increasing The Precision Of Comparative Models With YASARA NOVA - A Self-Parameterizing Force Field*. *Proteins: Structure, Function and Genetics*, 47(3), 393-402.
- Kroemer, R.T., (2007). Structure-Based Drug Design: *Docking and Scoring*. *Current Protein and Peptide Science*, 8, 312-328.
- Kuchel, Philip W., Ralston, Gregory B. (2002). *Biokimia. Terjemahan oleh Laelasari, Eva. 2006*. Jakarta: Erlangga.
- Laianto, S. (2014). Uji efektivitas sediaan gel anti jerawat ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia*) terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acnes* dengan metode difusi. *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*, 1(1).
- Leach, A. R., Shoichet, B. K., & Peishoff, C. E. (2006). Prediction of Protein-Ligand Interactions. *Docking and Scoring: Successes and Gaps*. *Journal of Medicinal Chemistry*, 49(20), 5851-5855.
- Lowy, F.D. (2003). 'Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*', *J Clin Invest*, vol. 111, pp. 1265-1273.
- Malton, S., Kuys, K., Parker, I., and Vanderhoek, N. (1998). "Adsorption of cationic starch on eucalypt pulp fibers and fines," *Appita J*. 51(4), 292-298.

- Martin, G. M., Kandasamy, B., DiMaio, F., Yoshioka, C., & Shyng, S-L. (2017). Title: Anti-Diabetic Drug Binding Site in KATP Channels Revealed by Cryo-EM. *Biophysics and Structural Biology*, (2017). 1-27.
- Misra, K., & Tripathi, A. (2017). Molecular *Docking*: A Structure-Based Drug Designing Approach. *Journal Science Medical*, 5(2), 1042.
- Morris, G. and Huey, R., (2009). AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated *Docking* with selective receptor flexibility. *Journal of Molecular Biology*, 30 (16), 2785–2791.
- Morrison, K. D., Misra, R., & Williams, L. B. (2016). Unearthing the antibacterial mechanism of medicinal clay: A geochemical approach to combating antibiotic resistance. *Scientific Reports*, 6(1), 1-13.
- Mustika N (2018). *Pembuatan Nanopartikel dari Ekstrak Etanol Daun Pugun Tanah (Picria fel-terrae Lour) dan Uji Antibakteri terhadap Staphylococcus aureus dan Escherichia coli*. Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Muttaqin et al., 2019. 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. *Journal of Pharmacopolium*. Vol. 2, No. 2
- Neldawati, Ratnawulan, & Gusnedi. (2013). Nilai Absorbansi dalam Penentuan Kadar Flavonoid untuk Berbagai Jenis Daun Tanaman Obat. *Pillar Of Physics*, 2, 76.
- Nelson, David L., dan Cox, Michael M. (2008). *Lehninger Principle of Biochemistry* Fifth ed. New York: W.H. Freeman and Company.
- Nugraha, A. C., Prasetya, A. T., & Mursiti, S. (2017). Isolasi, identifikasi, uji aktivitas senyawa flavonoid sebagai antibakteri dari daun mangga. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 6(2), 91-96.
- Nuria, M. C., Faizatun, Arvin, Sumantri. (2009). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escheria coli* ATCC 25922 dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *Mediagro*. (2):26-37
- O'Boyle, N. M., Banck, M., James, C. A., Morley, C., Vandermeersch, T., & Hutchison, G. R. (2011). Open Babel: An open chemical toolbox. *Journal of cheminformatics*, 3(1), 1-14.
- Olson, Arthur J., et al.,. (2014). Automated *Docking* of Flexible Ligand To Receptors version 3.0.5. Diunduh tanggal 22 maret 2022 pukul 16.14 dari https://autodock.scripps.edu/wpcontent/uploads/sites/56/2021/10/AutoDock4.2.6_UserGuide.pdf

- Pambudi, A., Syaefudin, S., Noriko, N., Azhari, R., & Azura, P. R. (2015). Identifikasi Bioaktif Golongan Flavonoid Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica* L.). *Jurnal Al-Azhar Indonesia Seri Sains dan Teknologi*, 2(3), 178-187.
- Patrick, G. L. 2013. *An Introduction to Medicinal Chemistry.Fifth Edition*. Oxford University Press. UK. 228-229.
- Pramely, R, and Leon Stephan Raj. 2012. "Prediction of Biological Activity Spectra of a Few Phytoconstituents of *Azadirachta Indicia* A. Juss." *Journal of Biochemical Technology* 3(4): 375–79.
- Rachmania, R. A., Supandi, S., & Larasati, O. A. (2015). Analisis In-Silico Senyawa Diterpenoid Lakton Herba Sambiloto (*Andrographis Paniculata* Nees) Pada Reseptor Alpha-Glucosidase Sebagai Antidiabetes Tipe II. *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia (Pharmaceutical Journal of Indonesia)*, 12(2), 210-222.
- Rachmawati, N., & Nursyamsi, N. (2015). Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Pada Media Pembenuhan Difusi. *Medika Tadulako: Jurnal Ilmiah Kedokteran Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan*, 2(1), 1-9.
- Ramadhan, R. A. K. (2021). *Studi Docking senyawa-senyawa aktif Buah Pare (Momordica charantia L.) golongan Charantoside pada Reseptor Sulfonylurea sel beta pankreas* (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim).
- RCSB. 2018. About the PDB Archive and the RCSB PDB. Retrieved from Protein Data Bank: http://www.rcsb.org/pdb/static.do?p=general_information/about_pdb/index.html.
- Ridgway, J. P., Peterson, L. R., Brown, E. C., Du, H., Hebert, C., Thomson Jr, R. B., & Robicsek, A. (2013). Clinical significance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization on hospital admission: one-year infection risk. *PLoS One*, 8(11), e79716.
- Santoso, B (2017). Pengaruh Volume Gridbox pada *Docking* Senyawa dalam *Stelechocarpus burahol* terhadap Protein Homolog antiinflamasi TRPV1. URECOL.
- Saputri, K. E., Fakhmi, N., Kusumaningtyas, E., Priyatama, D., & Santosos, B. (2016). *Docking* Molekular Potensi Anti Diabetes Melitus Tipe 2 Turunan Zerumbon Sebagai Inhibitor Aldosa Reduktase Dengan Autodock Vina. *Chimica et Natura Acta*, 4(1), 16-20.

- Sayoeti, A. Z. (2015). Effect of Decocta In Bitter Melon Fruit (*Momordica charantia*.) for Decrease Blood Glucose Levels. *Journal of Majority*, 4(4), 18-22.
- Selawa, W., Runtuwene, M. R., & Citraningtyas, G. (2013). Kandungan Flavonoid dan Kapasitas Antioksidan Total Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia*). *Jurnal Ilmiah Farmasi UNSTRAT*, 18-22.
- Setiabudy, R. (2011). Golongan Kuinolon dan Flurokuinolon. Farmakologi dan Terapi Edisi 5. Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Shihab, M. Quraish. (2002). *Tafsir al-Misbah; Pesan, Kesan, dan Keserasian Alquran Vol. 5*. Jakarta: Lentera Hati.
- Simor, A.E., Pelude, L., Golding, G., Fernandes, R., Bryce, E., Frenette, C., Gravel, D., Katz, K., McGeer, A., Mulvey, M.R., Smith, S. & Weiss, K. (2016). Determinants of outcome in hospitalized patients with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bloodstream infection: results from National Surveillance in Canada, 2008-2012', *Infect Control Hosp Epidemiol*, vol. 37, no. 4, pp. 390– 397.
- Siswandono. (2016). *Kimia Medisinal Edisi Kedua*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Suaya, J.A., Mera, R.M., Cassidy, A., Hara, P.O., Amrine-Madsen, H., Burstin, S. & Miller, L.G. (2014). 'Incidence and cost of hospitalizations associated with *Staphylococcus aureus* skin and soft tissue infections in the United States from 2001 through 2009'. *BMC Infect Dis*, vol.14, pp. 296.
- Sulihandari, H. (2013). *Herbal, Satyur, & Buah Ajaib*. Yogyakarta: Trans Idea Publishing.
- Susanto, A., & Sayekti, S. (2018). Pengaruh Kombinasi Ekstrak Pare (*Momordica Charantia*) Dan Sawo (*Manilkara Zapota*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Salmonella Typhi* Secara Invivo Pada Usus Halus Tikus. *Jurnal Insan Cendekia*, 5(2, Septemb).
- Svobodova, A.,Psotova, J.; Walterova, D., (2003). Natural Phenolics in the Prevention of UVInduced Skin Damage. *Biomed. Pap.* 147:137-145.
- Syofyan, Henny Lucida dan Amri Bakhtiar. (2008). Peningkatan Kelarutan Kuersetin Melalui Pembentukan Kompleks Inklusi dengan β -Siklodekstrin. *Jurnal Sains dan Teknologi*. Vol. 13 (2): 43-48.
- Tim Mujamma' Raja Fahd arahan Syaikh al-Allamah Dr. Shalih bin Muhammad Alu asy-Syaikh.

- Toelle, N.N., Lenda, V. (2014). Identifikasi dan Karakteristik *Staphylococcus Sp.* dan *Streptococcus Sp.* dari Infeksi Ovarium Pada Ayam Petelur Komersial. *J. Ilmu Ternak*, 1(7), 32-37.
- Wang, J., Lee, L.N., Lai, H.C., Hsu, H.L., Liaw, Y.S., Hsueh, P.R., Yang, P.C. (2007). 'Prediction of the Tuberculosis Reinfection Proportion from the Local Incidence', *The Journal of Infectious Disease*, vol.196, no.2, pp. 281-288.
- Wardaniati, I., & Herli, M. A. (2018). Studi *Molecular Docking* Senyawa Golongan Flavonol Sebagai Antibakteri. *JOPS (Journal of Pharmacy and Science)*, 1(2), 20-27.
- Wikansari, Nurvita , Retno Hestiningsih dan Budi Raharjo. (2012). Pemeriksaan Total Kuman Udara dan *Staphylococcus aureus* Di Ruang Rawat Inap Rumah Sakit X Kota Semarang. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*.Vol 1 , Nomor 2 , , Hal 384 – 392
- Wong, S. E., Lightstone, F. C. (2010). Accounting for water molecules in drug design. *Lawrence Livermore National Laboratory Journal*
- Xie, X.-Q. (2010). Exploiting Pubchem for *Virtual screening*. NIH Public Access. 5(12): 1205–1220.
- Yoshida, H., Kawai, F., Obayashi, E., Akashi, S., Roper, D. I., Tame, J. R., & Park, S. Y. (2012). Crystal Structures of Penicillin-Binding Protein 3 (PBP3) from Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in the Apo and *Cefotaxime*-Bound Forms. *Journal of molecular biology*, 423(3), 351-364.
- Zaini, W. S., & Shufiyani, S. (2017). Uji Daya Hambat Air Perasan Buah Pare (*Momordica charantia* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia Coli* Secara In Vitro. *Jurnal Medikes (Media Informasi Kesehatan)*, 4(2), 147-156.

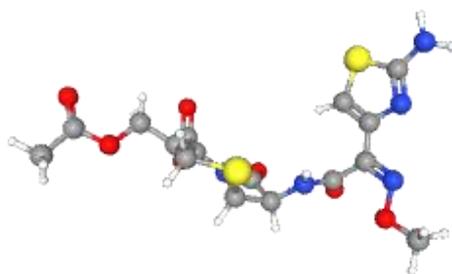
LAMPIRAN

Lampiran 1. Struktur 3D PBP3 Staphylococcus aureus



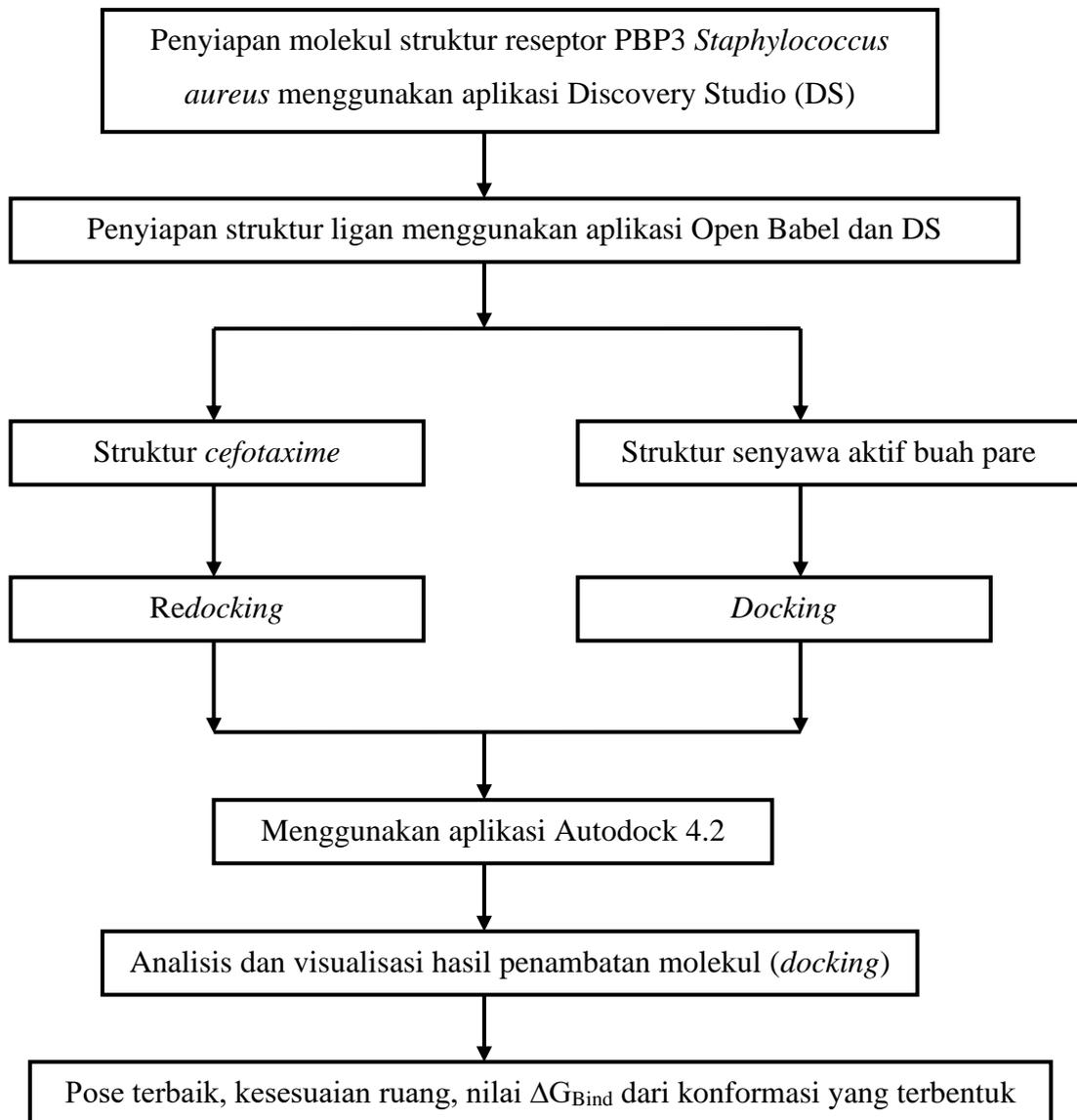
Struktur 3D PBP3 (PDB ID 3VSL)
(Sumber: www.rcsb.org)

Lampiran 2. Struktur 3D *Cefotaxime*



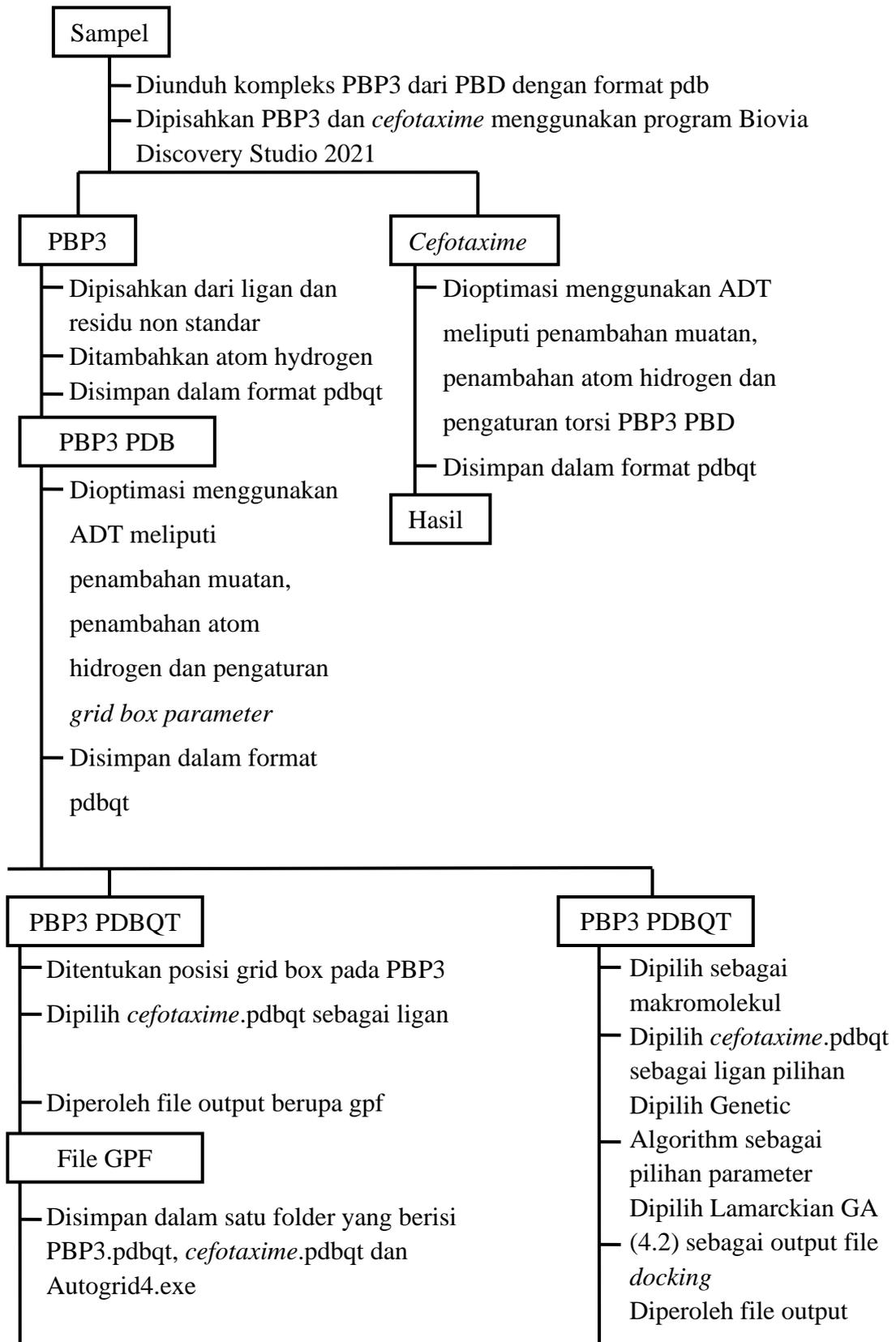
Struktur 3D *Cefotaxime* (PubChem CID 5742673)

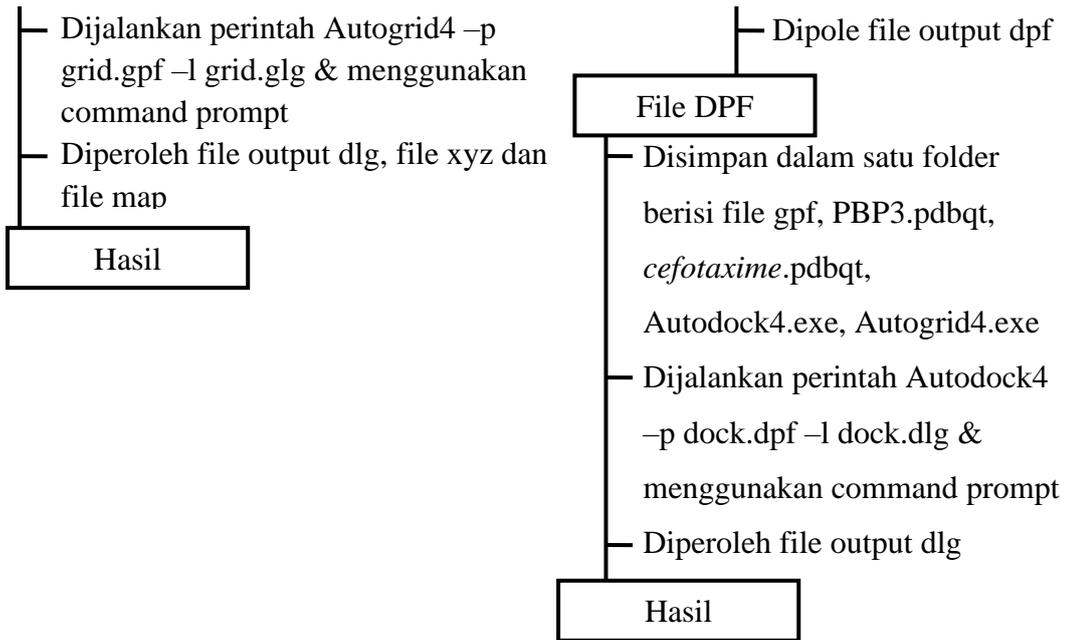
(Sumber: pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)

Lampiran 3. Rancangan Penelitian

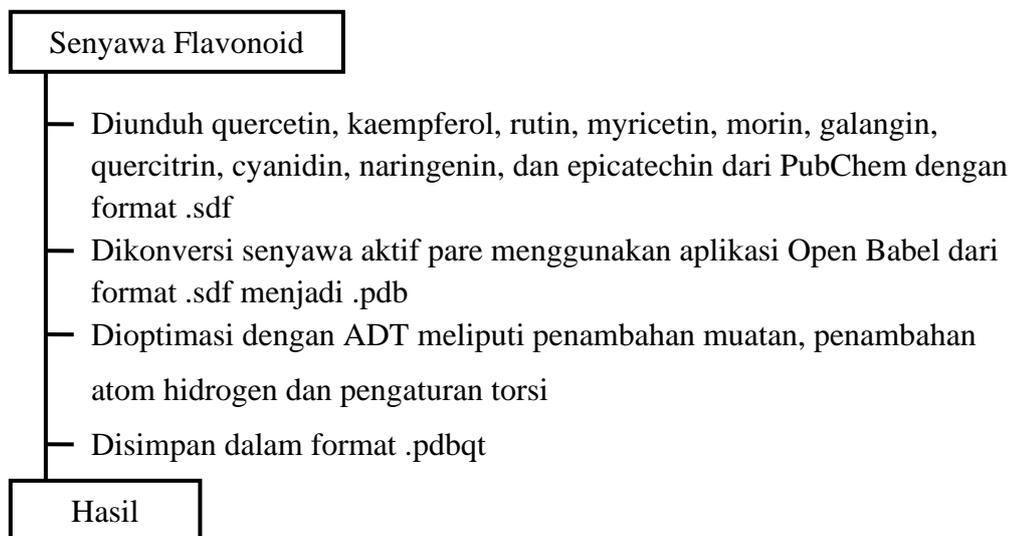
Lampiran 4. Diagram Alir

L 1 Redocking (Penambatan Ulang)

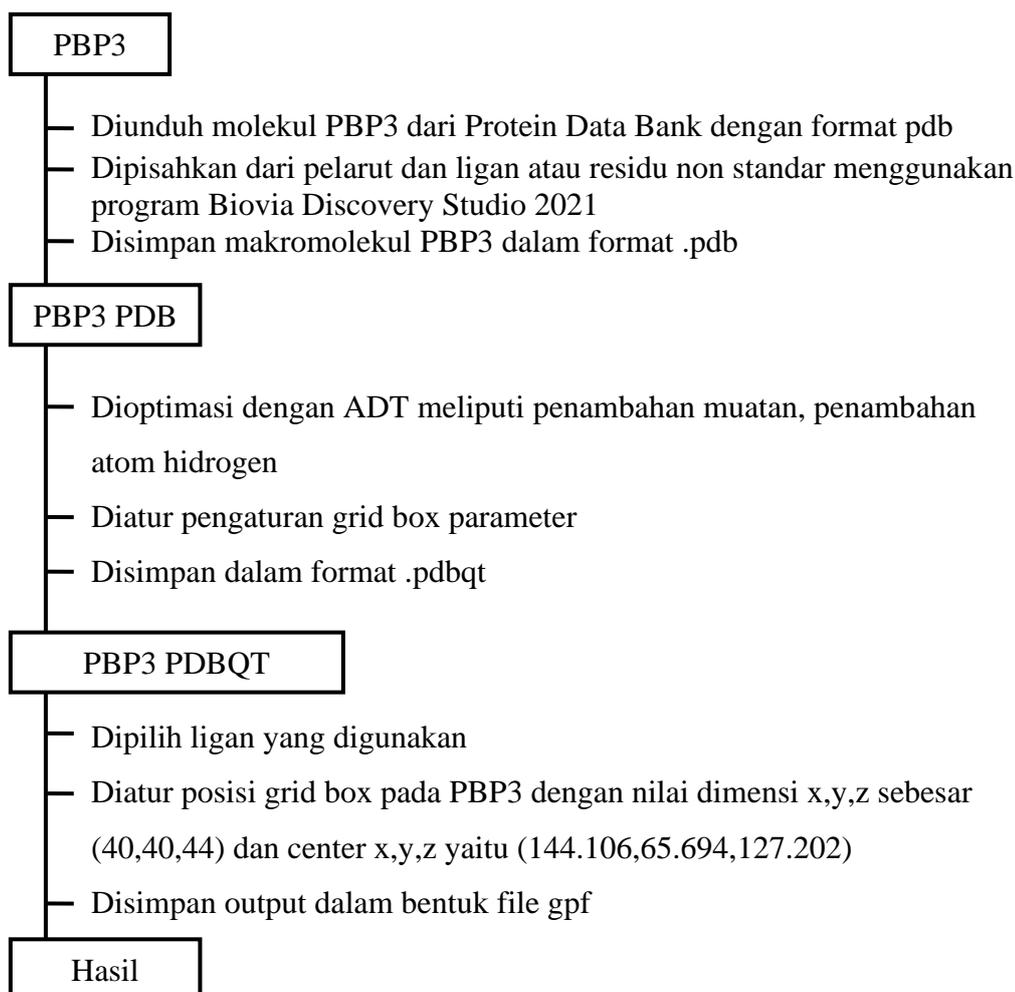




2. Penyiapan Struktur Ligan

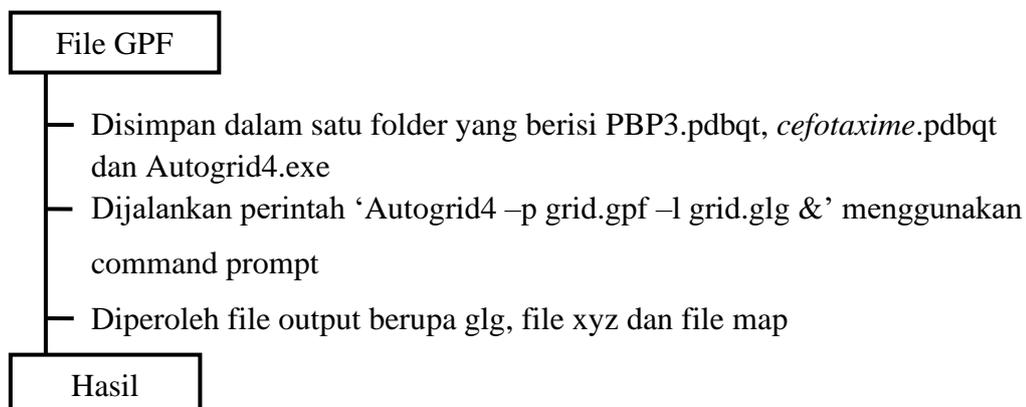


3. Penyiapan Struktur Molekul PBP3

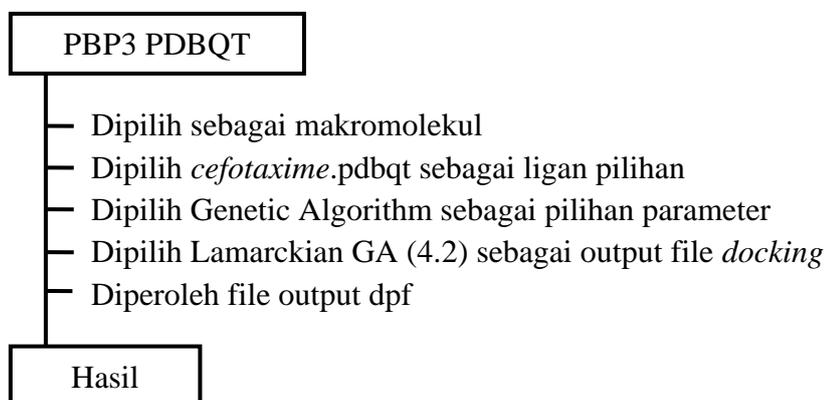


5. Penambatan Molekul dengan Autodock4.2

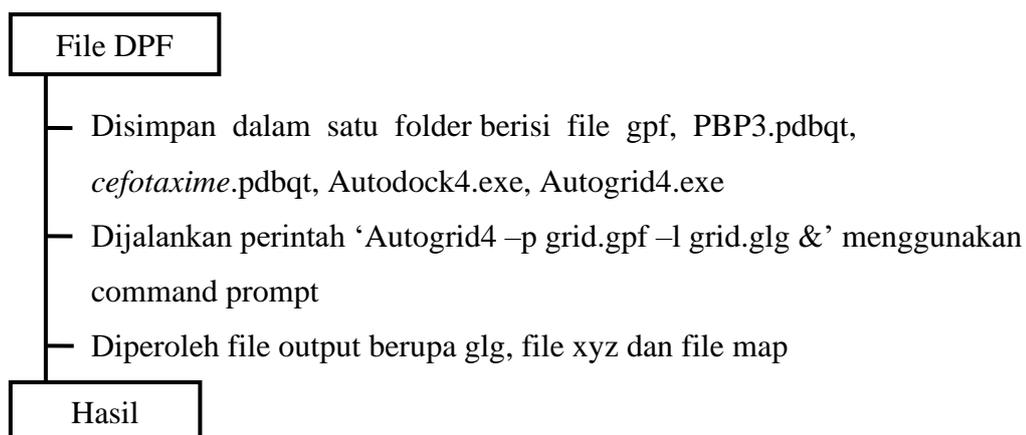
4.1 Pembentukan File GLG



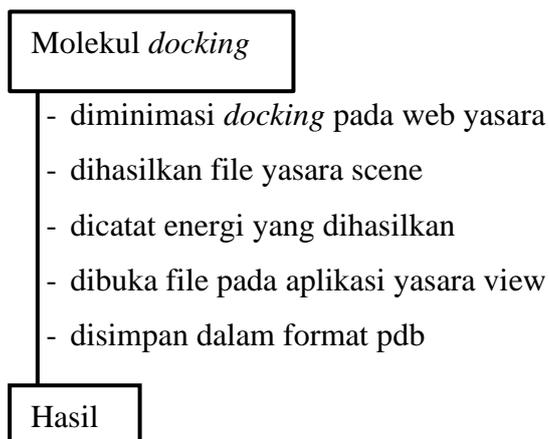
4.2 Pembentukan File DPF



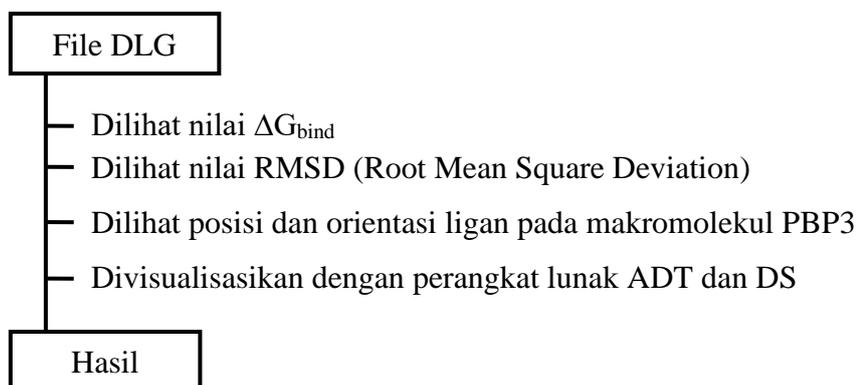
4.3 Pembentukan File DLG



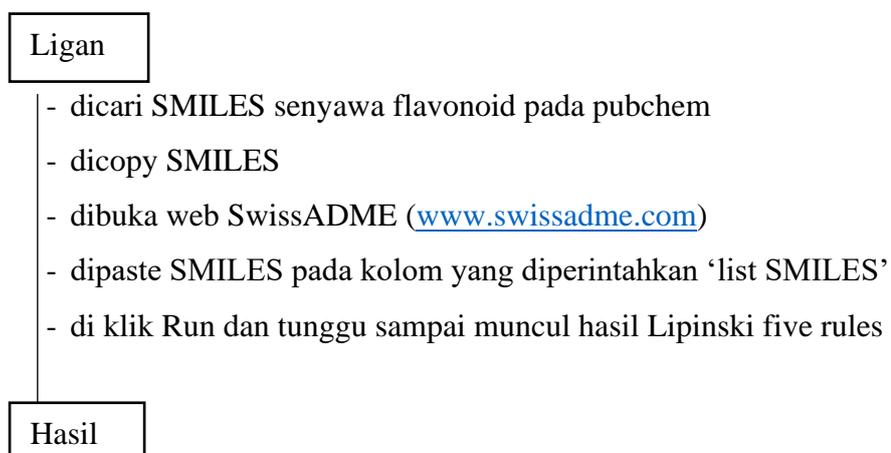
6. Optimasi molekul *docking*



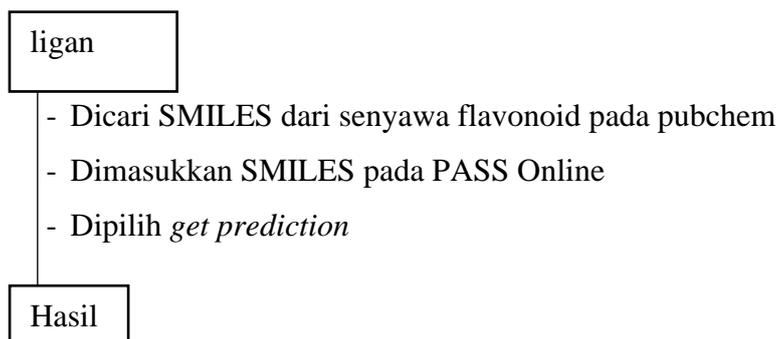
7. Analisis dan Visualisasi Penambatan Molekul



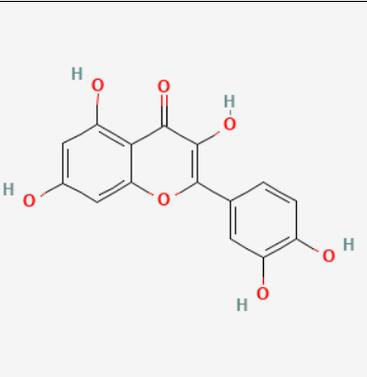
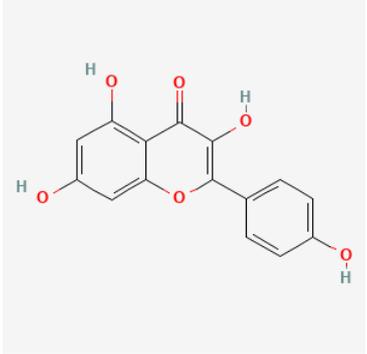
7. Uji kemiripan obat dengan SwissADME

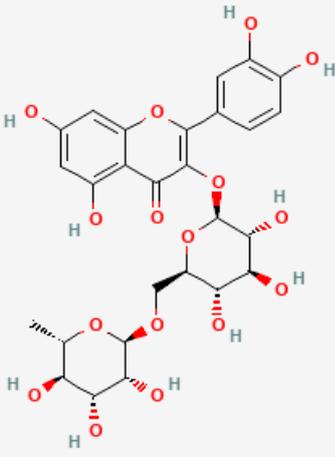
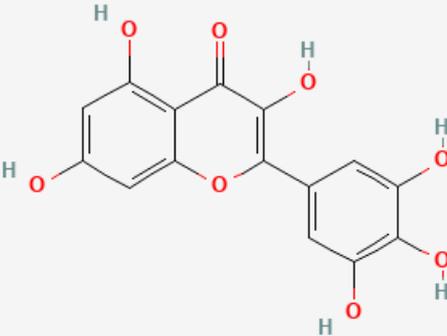
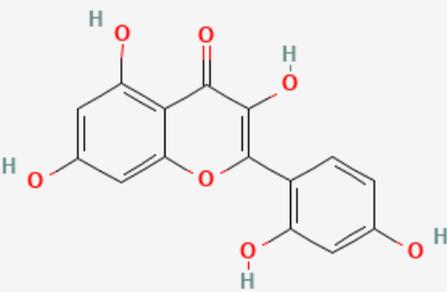


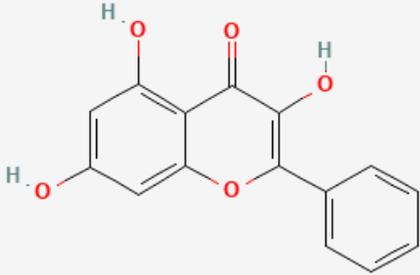
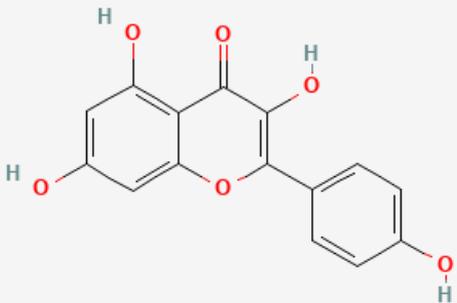
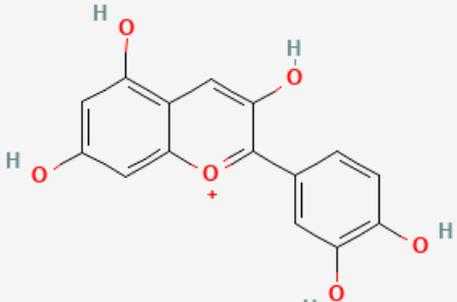
8. Prediksi aktivitas antikanker menggunakan PASS Online

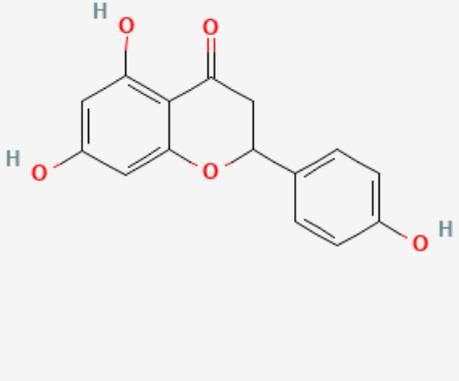
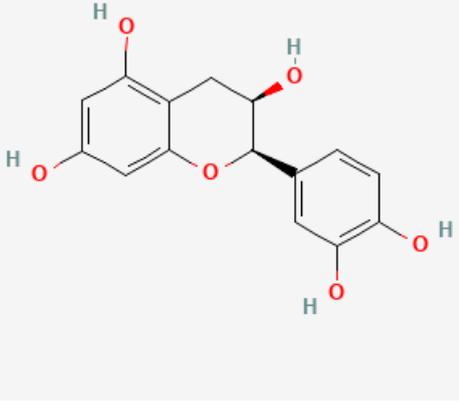


Lampiran 5. Struktur 3D ligan uji

Struktur	Smile
 <p>Quercetin</p>	<chem>C1=CC(=C(C=C1C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O)O)O</chem>
 <p>Kaempferol</p>	<chem>C1=CC(=CC=C1C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O)O</chem>

	<chem>CC1C(C(C(C(O1)O)CC2C(C(C(C(O2)OC3=C(OC4=CC(=CC(=C4C3=O)O)O)O)C5=CC(=C(C=C5)O)O)O)O)O)O)O</chem>
<p>Rutin</p>	
	<chem>C1=C(C=C(C(=C1O)O)O)C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O</chem>
<p>Myricetin</p>	
	<chem>C1=CC(=C(C=C1O)O)C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O</chem>
<p>Morin</p>	

 <p>Galangin</p>	<chem>C1=CC=C(C=C1)C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O</chem>
 <p>Quercitrin</p>	<chem>CC1C(C(C(C(O1)OC2=C(OC3=CC(=CC(=C3C2=O)O)O)C4=CC(=C(C=C4)O)O)O)O)O</chem>
 <p>Cyanidin</p>	<chem>C1=CC(=C(C=C1)C2=[O+]C3=CC(=CC(=C3C=C2O)O)O)O)O</chem>

 <p>Naringenin</p>	<chem>C1C(OC2=CC(=CC(=C2C1=O)O)O)C3=CC=C(C=C3)O</chem>
 <p>Epicatechin</p>	<chem>C1C(C(OC2=CC(=CC(=C21)O)O)O)C3=CC(=C(C=C3)O)O)O</chem>

Lampiran 6. Data Hasil Optimasi YASARA

Nama senyawa	E _{R-L} (setelah minimasi) (kj/mol)	E _{Rmin} (Kj/mol)	E _{Lmin} (Kj/mol)	E _{R-L} interaksi (Kcal/mol)
<i>Cefotaxime</i>	-33548,44	-33702,27	-178,21	-5,82
Quercetin	-33916,12	-33669,61	-107,99	-84,72
Kaempferol	-34031,26	-33733,04	-177,25	-71,27
Rutin	-33212,33	-33599,26	-495,53	-25,95
Myricetin	-33999,34	-33758,21	-105,46	-82,83
Morin	-34059,97	-33711,03	-230,59	-138,50

Galangin	-33929,16	-33653,81	-132,01	-97,35
Quercitrin	-33764,57	-33668,48	-79,48	-41,96
Cyanidin	-34097,20	-33768,67	-218,58	-130,75
Naringenin	-34144,53	-33684,52	-329,07	-188,59
Epicatechin	-33682,58	-33546,03	-47,38	-43,95

Keterangan :

E_{R-L} = Energi kompleks reseptor-ligan teroptimasi

E_R = Energi reseptor teroptimasi

E_L = Energi ligan teroptimasi

Lampiran 7. Data Hasil *Docking* Autodock4.2

Cefotaxime Redocking

Cluster	Konformasi	Binding Energy (kcal/mol)	Cluster RMSD (Å)	Reference RMSD (Å)
1	1	-8,79	0,00	2,39
2	1	-8,65	0,59	2,41
3	1	-8,60	0,66	2,42
4	1	-8,59	0,85	2,22
5	1	-8,57	0,63	2,36
6	1	-8,56	0,73	2,36

Quercetin

Cluster	Konformasi	Binding Energy (kcal/mol)	Cluster RMSD (Å)
1	1	-8,88	0,00
2	1	-8,88	0,04
3	1	-8,88	0,09
4	1	-8,87	0,07
5	1	-8,86	0,06
6	1	-8,86	0,09
7	1	-8,86	0,07
8	1	-8,86	0,07
9	1	-8,83	0,08
10	1	-8,80	0,13

Kaempferol

Cluster	Konformasi	Binding Energy (kcal/mol)	Cluster RMSD (Å)
1	1	-7,69	0,00
2	1	-7,68	0,05
3	1	-7,68	0,01
4	1	-7,68	0,10
5	1	-7,67	0,09
6	1	-7,66	0,04
7	1	-7,64	0,12
8	1	-7,64	0,12
9	1	-7,61	0,12
10	1	-7,61	0,07

Rutin

Cluster	Konformasi	Binding Energy (kcal/mol)	Cluster RMSD (Å)
1	1	-11,12	0,00
2	1	-11,10	0,09
3	1	-11,02	0,23
4	1	-10,91	0,24
5	1	-10,87	0,29
6	1	-10,85	0,28
7	1	-10,80	0,39
8	1	-10,21	0,93
9	1	-9,71	0,94
10	1	-8,73	0,53

Myricetin

Cluster	Konformasi	Binding Energy (kcal/mol)	Cluster RMSD (Å)
1	1	-8,32	0,00
2	1	-8,32	0,02
3	1	-8,32	0,01
4	1	-8,32	0,02
5	1	-8,32	0,02
6	1	-8,32	0,01
7	1	-8,32	0,01
8	1	-8,32	0,01
9	1	-8,32	0,01
10	1	-8,32	0,02

Morin

Cluster	Konformasi	Binding Energy (kcal/mol)	Cluster RMSD (Å)
1	1	-7,72	0,00
2	1	-7,72	0,04
3	1	-7,72	0,12
4	1	-7,71	0,08
5	1	-7,71	0,13
6	1	-7,71	0,10
7	1	-7,71	0,13
8	1	-7,71	0,14
9	1	-7,71	0,27
10	1	-7,71	0,15

Galangin

Cluster	Konformasi	Binding Energy (kcal/mol)	Cluster RMSD (Å)
1	1	-7,50	0,00
2	1	-7,50	0,03

3	1	-7,50	0,07
4	1	-7,50	0,02
5	1	-7,50	0,04
6	1	-7,50	0,04
7	1	-7,49	0,04
8	1	-7,49	0,05
9	1	-7,49	0,08
10	1	-7,48	0,06

Quercitrin

Cluster	Konformasi	Binding Energy (kcal/mol)	Cluster RMSD (Å)
1	1	-9,50	0,00
2	1	-9,50	0,02
3	1	-9,50	0,01
4	1	-9,50	0,34
5	1	-9,50	0,07
6	1	-9,50	0,05
7	1	-9,50	0,03
8	1	-9,50	0,04
9	1	-9,49	0,05
10	1	-9,49	0,03

Cyanidin

Cluster	Konformasi	Binding Energy (kcal/mol)	Cluster RMSD (Å)
1	1	-8,44	0,00
2	1	-8,44	0,02
3	1	-8,44	0,02
4	1	-8,44	0,01
5	1	-8,44	0,01
6	1	-8,43	0,02
7	1	-8,43	0,01

8	1	-8,43	0,01
9	1	-8,43	0,02
10	1	-8,43	0,01

Naringenin

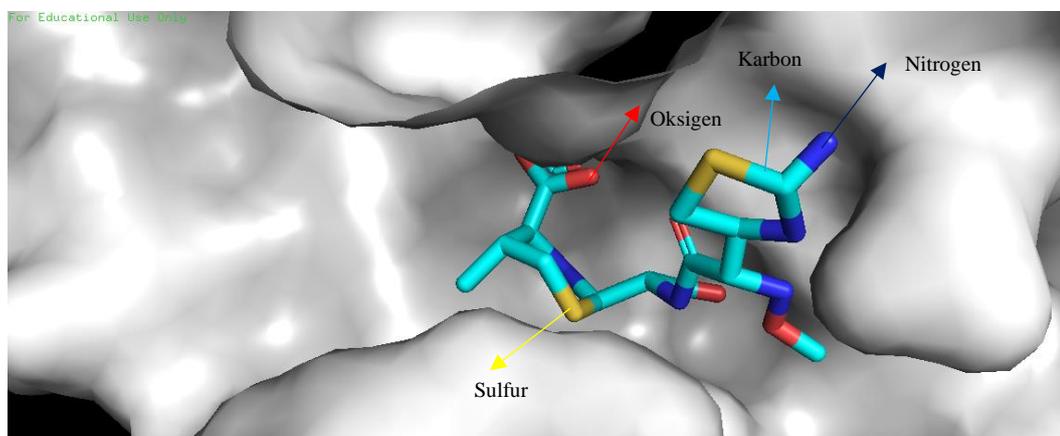
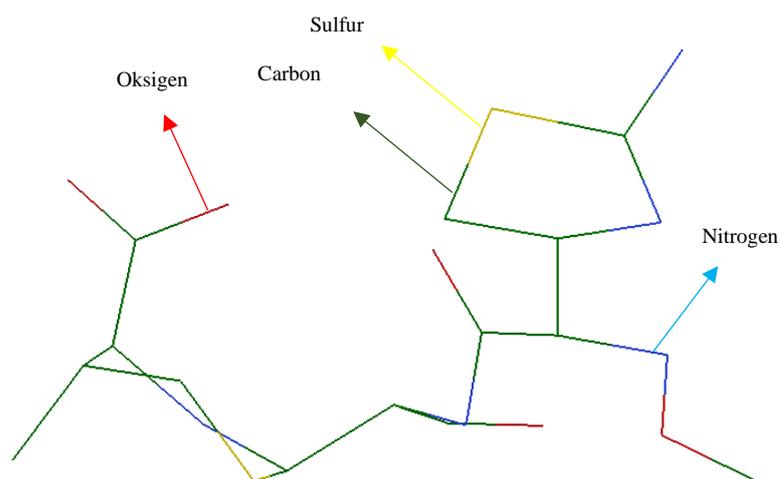
Cluster	Konformasi	Binding Energy (kcal/mol)	Cluster RMSD (Å)
1	1	-7,45	0,00
2	1	-7,45	0,02
3	1	-7,45	0,02
4	1	-7,45	0,03
5	1	-7,45	0,04
6	1	-7,45	0,04
7	1	-7,45	0,02
8	1	-7,45	0,03
9	1	-7,45	0,03
10	1	-7,45	0,04

Epicatechin

Cluster	Konformasi	Binding Energy (kcal/mol)	Cluster RMSD (Å)
1	1	-8,06	0,00
2	1	-8,06	0,01
3	1	-8,06	0,01
4	1	-8,06	0,01
5	1	-8,06	0,01
6	1	-8,06	0,01
7	1	-8,06	0,01
8	1	-8,06	0,01
9	1	-8,06	0,01
10	1	-8,06	0,01

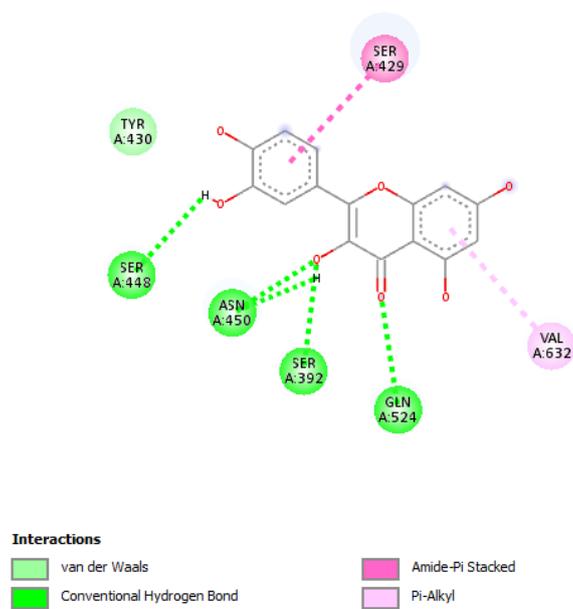
Lampiran 8. Definisi warna pada hasil visualisasi Autodock dan Pymol

Nama Atom	Warna	
	AutodockTools	Pymol
Karbon	Hijau Tua (Aromatik)	Biru Muda
	Abu-abu (Alifatik)	
Hidrogen	Putih	Putih
Nitrogen	Biru	Biru Tua
Oksigen	Merah	Merah
Sulfur	Kuning	Kuning
Klorin	Hijau Muda	Hijau Muda

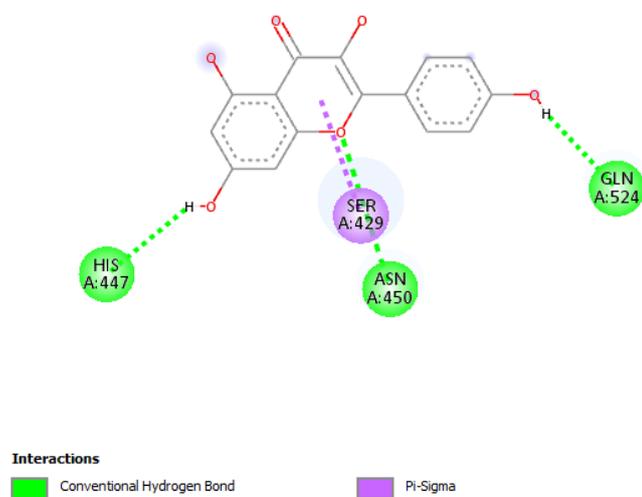


Lampiran 9. Visualisasi Interaksi Ligan Flavonoid

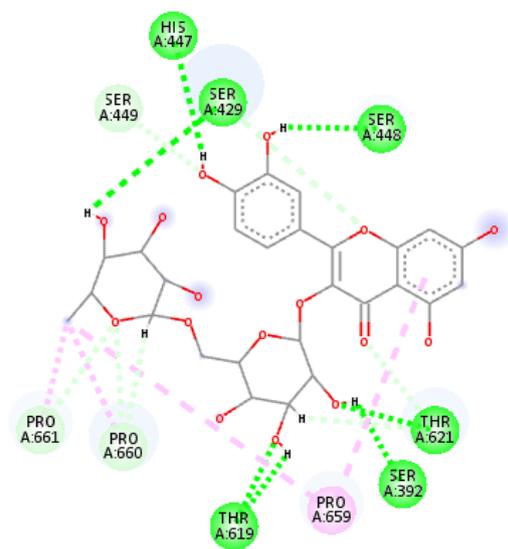
Quercetin



Kaempferol



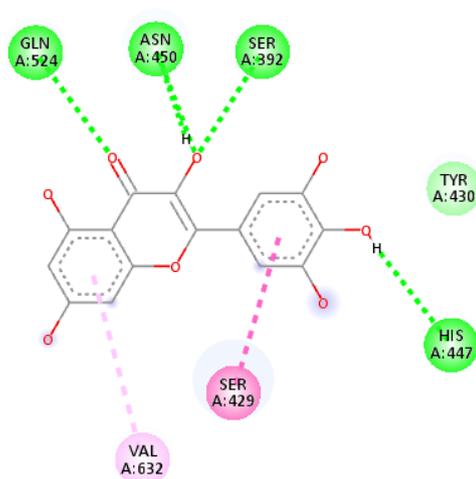
Rutin



Interactions

- | | | | |
|---|----------------------------|---|----------|
|  | Conventional Hydrogen Bond |  | Alkyl |
|  | Carbon Hydrogen Bond |  | Pi-Alkyl |

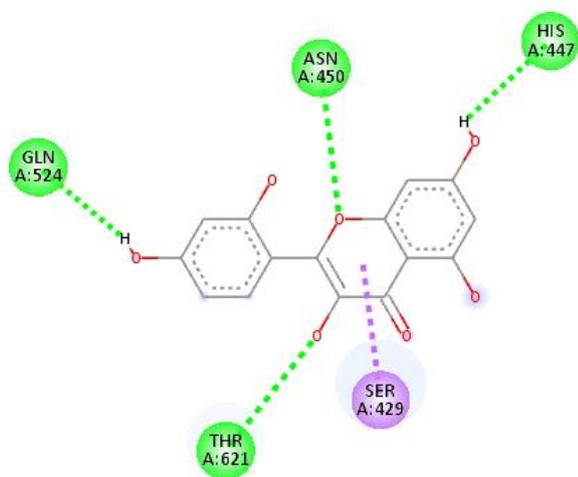
Myricetin



Interactions

- | | | | |
|---|----------------------------|---|------------------|
|  | van der Waals |  | Amide-Pi Stacked |
|  | Conventional Hydrogen Bond |  | Pi-Alkyl |

Morin

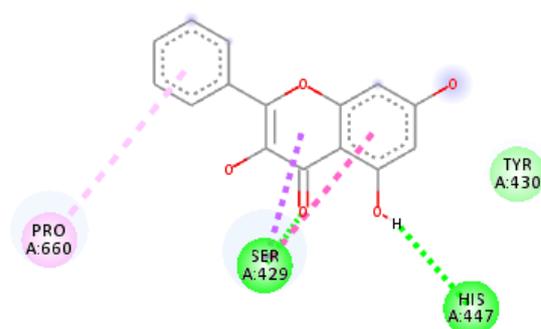


Interactions

■ Conventional Hydrogen Bond

■ Pi-Sigma

Galangin



Interactions

■ van der Waals

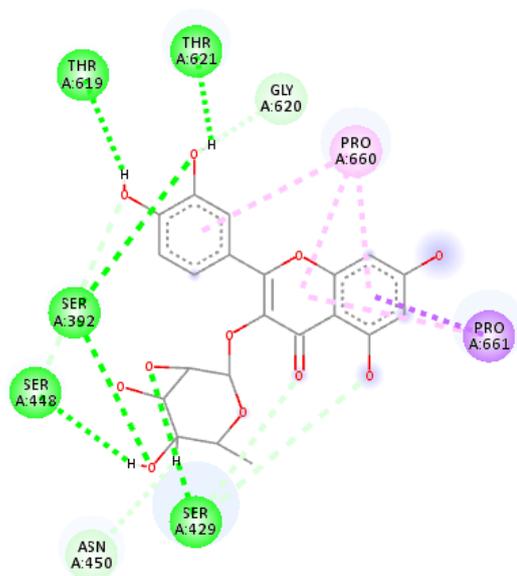
■ Conventional Hydrogen Bond

■ Pi-Sigma

■ Amide-Pi Stacked

■ Pi-Alkyl

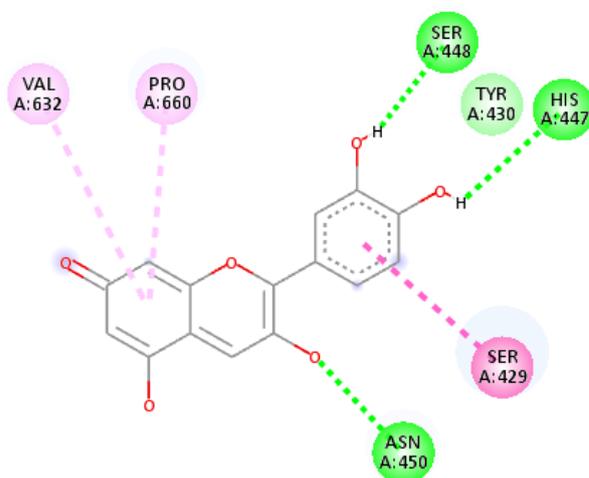
Quercitrin



Interactions

 Conventional Hydrogen Bond	 Pi-Sigma
 Carbon Hydrogen Bond	 Pi-Alkyl

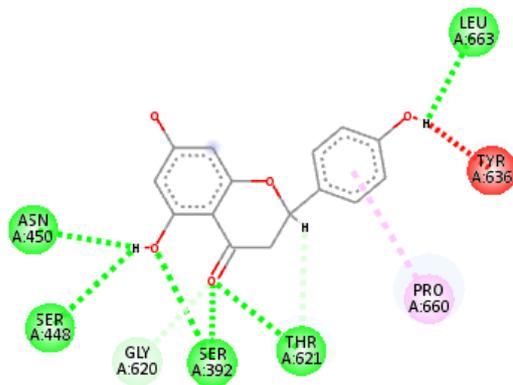
Cyanidin



Interactions

 van der Waals	 Amide-Pi Stacked
 Conventional Hydrogen Bond	 Pi-Alkyl

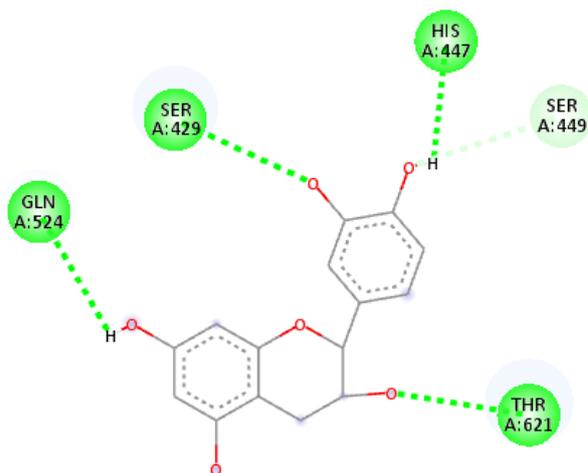
Naringenin



Interactions

 Conventional Hydrogen Bond	 Unfavorable Donor-Donor
 Carbon Hydrogen Bond	 Pi-Alkyl

Epicatechin



Interactions

 Conventional Hydrogen Bond	 Carbon Hydrogen Bond
--	--