

**UJI IN SILICO: AKTIVITAS ANTIBAKTERI SENYAWA AKTIF
Gracilaria verrucosa TERHADAP *Staphylococcus aureus***

Haris Hartono, Zainul Fadli, Yoni Rina Bintari
*Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan : Jumlah kasus resistensi antibiotik *S.aureus* pada IRNA Kulit dan kelamin RSUD Dr. Soetomo Surabaya sebesar (75%). sehingga dilakukan pencarian antibiotik baru. *G.verrucosa* merupakan alga merah yang diketahui mengandung senyawa aktif turunan asam lemak yang memiliki aktifitas sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui nilai energi afinitas senyawa aktif *G.verrucosa* terhadap PBP2a yang menjadi target antibiotik beta-lactam dan *Vancomycin* menjadi terapi utama pada infeksi yang disebabkan MRSA PBP2a secara *In Silico*.

Metode : Uji *In silico* dilakukan docking pada 25 senyawa asam lemak *G.verrucosa* yang sebelumnya diidentifikasi memiliki aktifitas antibakteri secara *in-vitro*, kemudian dilakukan penambatan terhadap protein PBP2a menggunakan software *molecular docking* server dengan kontrol *Amoxicillin* dan *Vancomycin*. Serta prediksi sifat fisikokimia (*Lipinski Rule of Five*) dan profil farmakokinetik dengan parameter ADMET melalui software pkCSM online tools.

Hasil : Senyawa turunan asam lemak *Gracilaria verrucosa* tidak memiliki energi bebas yang lebih kecil dibandingkan dengan *Amoxicillin* dan *Vancomycin*. Senyawa aktif yang memiliki konstanta inhibisi paling baik adalah *Asam Palmitat*, *Asam Arakidonat*, *i-Dodecin*, *Pentadecane*, *Eicosane*, *1-Chloro-octadecane*, *Eicosanoic acid*, *Heneicosanoic acid*, *Tetracosanoic acid*, *(Z)-15-Tetracosenoic acid (nervonic acid) (C24 1)*. Senyawa *Gracilaria verrucosa* yang memiliki ikatan polar ASN32 yang sama dengan *Amoxicillin* yaitu *Benzaldehyde dimethyl acetate*, *(Z, Z)-11,14-Eicosadienoic acid*, *N-Phenethyl – acetamide*, *Palatinol IC [1,2-benzene dicarboxylic acid, di-(2-methylpropyl) ester]*. Hasil prediksi fisikokimia semua senyawa aktif *G.verrucosa* memenuhi *Lipinski rule of five*, terdapat enam senyawa yang dapat menembus *Blood brain barrier*. sebanyak sembilan belas senyawa aktif tidak memiliki efek hepatotoksik.

Kesimpulan : Senyawa aktif *G.verrucosa* tidak berpotensi sebagai antibiotik

KataKunci : *Gracilaria Verrucosa*, *Amoxicillin*, *Penicillin Binding Protein (PBP2a)*, *ADMET*, *INSILICO*

*korespondensi:

Yoni Rina Bintari

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

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

Email: yonirinabintari@unisma.ac.id

ABSTRACT

Introduction : The number of cases of *S. aureus* antibiotic resistance in skin and genital IRNA at RSUD Dr. Soetomo Surabaya by (75%). the search for new antibiotics was carried out. the active compound of *G. verrucosa* is known to contain active compounds derived from fatty acids which have antibacterial activity. This study aims to determine the energy value of the affinity of the active compound *G.verrucosa* for PBP2a which is the target of beta-lactam antibiotics and *Vancomycin* is the main therapy for infections caused by MRSA PBP2a in *Silico*.

Method : *In silico* test was done by docking 25 fatty acid compounds of *G. verrucosa* which were previously identified as having antibacterial activity in vitro, then docking the PBP2a protein using molecular docking server software with *Amoxicillin* and *Vancomycin* control. As well as prediction of physicochemical properties (*Lipinski Rule of Five*) and pharmacokinetic profiles with ADMET parameters through pkCSM online tools software.

Result : All compounds *Gracilaria verrucosa* did not have a lower free energy than the control which had a value of G - 4.41 kcal/mol. The active compounds that had lower inhibition constants were *Palmitic Acid*, *Arachidonic Acid*, *i-Dodecin*, *Pentadecane*, *Eicosane*, *1-Chloro-octadecane*, *Eicosanoic acid*, *Heneicosanoic acid*, *Tetracosanoic acid*, *(Z)-15-Tetracosenoic acid (nervonic) acid (C24 1)*. *Gracilaria verrucosa* active compounds that have the same polar bond ASN32 as *Amoxicillin* are *Benzaldehyde dimethyl acetate*, *(Z, Z)-11,14-Eicosadienoic acid*, *N-Phenethyl-acetamide*, *Palatinol IC [1,2-benzene dicarboxylic acid, di-(2-methylpropyl) ester]*. The results of the physicochemical prediction of all active compounds of *G. verrucosa* meet the *Lipinski rule of five*, there are six compounds that can penetrate the blood brain barrier. Nineteen active compounds have no hepatotoxic effect.

Conclusion : The active compound *G. verrucosa* has no potential as an antibiotic.

Keyword : *Staphylococcus aureus*, *Gracilaria Verrucosa*, *Penicillin Binding Protein*, *insilico*, *ADMET*

*correspondence:

Yoni Rina Bintari

Faculty of Medicine, Islamic University of Malang

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

Email: yonirinabintari@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram-positif yang menyebabkan infeksi akut dan kronis lainnya seperti pneumonia, kolitis pseudomembran, perikarditis, septikemia.¹ pada penelitian meta-analysis sebelumnya berdasarkan 18 studi yang digunakan, prevalensi resistensi *S. aureus* terhadap penisilin G, amoksisilin, ampisilin, dan asam amoksisilin caluanat diperkirakan sebesar 77%.² Prevalensi *Methicillin Resistance S. aureus* (MRSA) di Ethiopia yang tercatat pada laporan pengawasan global 2014 dari World Health Organization (WHO) menunjukkan sebesar 33% hingga 95% di Afrika. Kemudian pada IRNA Kulit dan kelamin RSUD Dr. Soetomo Surabaya kasus resistensi *Amoxicillin* sebesar (75%).³ Saat ini *Vancomycin* menjadi obat pilihan (drug of choice) untuk terapi infeksi yang disebabkan MRSA. Peningkatan penggunaan *Vancomycin* dan pemberiannya yang tidak tepat untuk terapi MRSA memungkinkan juga terjadi peningkatan resistensi *Staphylococcus aureus*.³⁶

Skrining senyawa aktif baru dilakukan sebagai alternatif untuk mencari agen antibiotik dalam mengatasi kasus resistensi antibiotik. *G.verrucosa* menjadi alternatif agen antibakteri baru, *G.verrucosa* merupakan jenis rumput laut yang terdapat di Indonesia dan berpotensi sebagai antibakteri. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa ekstrak *G.verrucosa* mengandung asam lemak yang memiliki aktivitas antibakteri pada *S.aureus* secara in-vitro.⁴ Penelitian lain menyebutkan *G.verrucosa* memiliki turunan asam lemak dan turunan laktone.⁵

Untuk mengetahui senyawa aktif *G.verrucosa* dapat digunakan sebagai obat antibakteri, maka diperlukan waktu dan biaya yang cukup besar. Untuk itu perlu dilakukan skrining terhadap turunan senyawa asam lemak *G. verrucosa* yang berperan sebagai antibakteri. Skrining dilakukan melalui metode *In Silico* dengan menambatkan senyawa aktif *G.verrucosa* terhadap protein reseptor (PBP2a) *S.aureus* menggunakan software *Molecular Docking Server* dan prediksi profil farmakokinetik melalui pkCSM online tools

Molecular Docking dilakukan dengan menambatkan senyawa aktif *G.verrucosa* dengan PBP2a *S.aureus*. *Penicillin Binding Protein* (PBP) adalah sekelompok protein yang terlibat dalam biosintesa peptidoglikan yaitu mengkatalisa reaksi transpeptidasi (pembentukan anyaman peptida). Peptidoglikan *Staphylococcus* memiliki ciri khas berukuran panjang, berupa struktur anyaman (cross linkage) dengan rantai samping pentaglisin yang fleksibel. *Amoxicillin* bekerja dengan cara mengikat dan menonaktifkan *Penicillin Binding Protein* (PBP) pada membran dalam dinding sel bakteri. Inaktivasi PBP menyebabkan terganggunya hubungan silang rantai peptidoglikan yang diperlukan untuk kekuatan dan kekakuan dinding sel bakteri, kemudian sintesis dinding sel bakteri dan dinding sel bakteri menjadi lemah dan mengalami sel lisis.⁶

Selain *Molecular Docking* diperlukan prediksi

profil farmakokinetik dari senyawa aktif *G. verrucosa*, karena efektifitas senyawa antibakteri dipengaruhi berbagai faktor : adsorpsi, metabolisme, distribusi, ekskresi dan toksitas (ADMET) untuk menilai sifat pengikatan yang optimal dari obat baru ke target dan memastikan obat tersebut dapat mencapai lokasi target dalam konsentrasi yang cukup untuk menghasilkan efek fisiologis yang aman. Maka, pada penelitian ini diperlukan prediksi profil farmakokinetik dan uji fisikokimia senyawa, untuk menilai ADMET dari senyawa *G.verrucosa* sebagai bahan pertimbangan penting dalam pengembangan obat tahap awal, yang bertujuan untuk menurunkan risiko gagal dalam uji klinis suatu senyawa.⁷

Penelitian ini bertujuan untuk mengukur parameter; nilai interaksi permukaan, Konstanta Inhibisi, nilai energi ikatan bebas, dan Residu asam amino yang terdapat pada *Molecular Docking*.⁸ Parameter penilaian Fisikokimia senyawa aktif *G.verrucosa* sebagai kandidat bahan obat yang digunakan, maka harus memenuhi lima syarat yang dikenal dengan “*Lipinski Rule of Five*” meliputi berat molekul, memiliki lipofilisitas yang tinggi, donor ikatan hidrogen, akseptor ikatan hidrogen refraktivitas molar.⁷ untuk farmakokinetik obat dilihat dari parameter, yang dilihat dari penyerapan, distribusi, metabolisme, dan ekskresi (ADMET) pada tubuh manusia melalui web pkCSM Online tools.⁷

METODE PENELITIAN

Desain, Tempat, dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan uji *In Silico*, untuk mengetahui prediksi fisikokimia, prediksi farmakokinetik (ADMET), dan Afinitas energi Senyawa aktif *G.verrucosa* terhadap protein PBP2A *S.aureus* dengan hasil berupa deskriptif analitik yang dilakukan di Laboratorium Riset Kedokteran Unisma pada bulan Agustus sampai dengan November 2021.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah komputer dengan spesifikasi RAM 2048 MB, Intel® Celeron® CPU N3350 @ 1.10 GHz (2 CPUs), Sistem operasi Microsoft Windows 10 Home Single Language 64-bit (10.0, Build 18363), koneksi internet. Senyawa aktif *G.verrucosa* didapatkan dari PubChem, dan struktur obat *Amoxicillin* (CID PubChem: 33613) diunduh melalui PubChem (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Struktur tiga dimensi protein target PBP2a (PDB ID:1MWR) diunduh dari website Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/search>). Penerjemah SMILES Online dan Pembuat File Struktur (<https://cactus.nci.nih.gov/translate/>). software berbasis web pada pkCSM online tools (<http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsm/prediction>) software berbasis web pada docking server (<http://www.dockingserver.com>).

Senyawa aktif *G.verrucosa* didapatkan dari PubChem beserta code CID

No	Senyawa aktif	CID
1.	Asam Miristat / Tetradecanoid Acid	11005
2.	Asam Palmitoleat / 9-Hexadecenoid Acid	5282745
3.	Asam Palmitat / Hexadecenoid	985
4.	Asam oleat / 9-octadecenoid Acid	445639
5.	Asam Stearat / Octadecanoid Acid	5281
6.	Asam Arakidonat / 5,8,11,14-Eicosatetraoic Acid	1780
7.	Asam homolinolenic / 7,10,13-Eicosatrienoic Acid	5312532
8.	i-Dodecin	53639128
9.	o-Xylene aromatic hydrocarbon	7237
10.	Benzaldehyde dimethyl acetate	102028858
11.	Pentadecane	12391
12.	Tridecanoic acid	12530
13.	Eicosane	8222
14.	Pentadecanoic acid	13849
15.	1-Chloro-octadecane	18815
16.	Oxacyclopent-3-en-2-on-5-carbonic acid,3,4-dimethyl	148205631
17.	(Z, Z ,Z)-6,9,12-Octadecatrienoic acid	5280933
18.	Eicosanoic acid	10467
19.	Heneicosanoic acid	16898
20.	(Z, Z)-11,14-Eicosadienoic acid	131839787
21.	Tetracosanoic acid	11197
22.	(Z)-15-Tetracosenoic acid (nervonic acid) (C24 : 1)	5281120
23.	2,2-diphenyl-2-hydroxy acetic acid	6463
24.	Palatinol IC [1,2-benzene dicarboxylic acid, di-(2-methylpropyl) ester]	6782
25.	N-Phenethyl – acetamide	19241329

Tahapan *Molecular Docking*

Struktur senyawa aktif *G.verrucosa* yang didapatkan dari PubChem dan struktur obat *Amoxicillin* (CID PubChem: 33613) dan *Vancomycin* (CID PubChem: 14969) yang diunduh melalui PubChem (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Struktur dalam bentuk format sdf diubah menjadi pdb diterjemahkan pada SMILES Online tranlator (<https://cactus.nci.nih.gov/translate/>). Struktur tiga dimensi protein target *Penicillin Binding Protein 2a* (PDB ID:1MWR) diunduh dari website Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/search>). Proses docking menggunakan *Molecular Docking* server (<http://www.dockingserver.com>).

Tahapan Prediksi fisikokimia dan farmakokinetik (ADMET) senyawa aktif *G.verrucosa*

Sebelum dilakukan *docking*, dua puluh lima senyawa *G.verucosa* serta senyawa pembanding *Amoxicillin* dan *Vancomycin*, yang didapatkan dari PubChem, (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Colonial SMILES senyawa aktif diambil pada web (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). lalu diinput pada kolom Provide SMILES a Strings pada pkCSM tools pada <http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsml/prediction>.

dalam bentuk format smiles inilah senyawa diproses untuk melihat data prediksi fisikokimia dan prediksi farmakokinetik (ADMET) yang digunakan untuk senyawa aktif yang diuji berpotensi menjadi obat atau tidak.

Teknik Analisa Data

Afinitas senyawa aktif ekstrak *G.verrucosa* terhadap protein target PBP2a dan diukur berdasarkan perbandingan nilai energi ikatan bebas, konstanta inhibisi dan jumlah residu asam amino,yang diikat dengan senyawa aktif *G.verrucosa* dengan kontrol (*Amoxicillin*) dan (*Vancomycin*). Data yang dihasilkan akan dianalisa secara deskriptif.

Data prediksi fisikokimia menggunakan 5 parameter (*Lipinski rule of five*) yaitu berat masa molekul (BM)<500, Logaritma koefisien partisi oktanol/ait (LogP) <5, hydrogen bond donor (HBD)<5, hydrogen bond acceptor (HBA)<10 dan luas permukaan <140Å.¹² Adapun data hasil farmakokinetik (ADMET) dinilai berdasarkan kelarutan dalam air. Absorpsi menggunakan indikator potensi absorpsi inestinal, dan permeabilitas kulit. distribusi menggunakan indikator Volume distribusi (VDss), kemampuan menembus BBB dan jumlah senyawa aktif dalam bentuk unbound, metabolisme

menggunakan indikator aktivasi enzim sitokrom P450, eksresi menggunakan indikator *clearance* senyawa aktif di hepar, ginjal dan bilier dan renal OCT2. Toksisitas menggunakan indikator hepatotoksik.⁷ Data yang dihasilkan akan dianalisa secara deskriptif.

Uji *Molecular Docking* senyawa aktif *G.verucossa* terhadap PBP2a

Hasil *Molecular Docking* dari senyawa ekstrak *G.verrucosa* terhadap protein reseptor PBP2a meliputi nilai energi ikatan bebas, konstanta inhibisi, luas permukaan dan residu asam amino. Hasil *Molecular Docking* disajikan dalam tabel 3

HASIL PENELITIAN

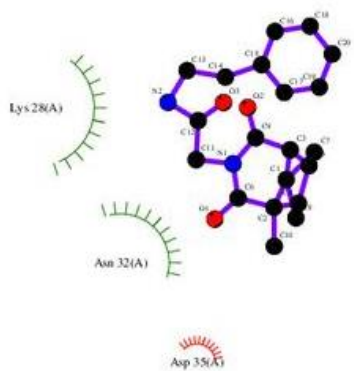
Tabel 3. Hasil *Molecular Docking* Senyawa Ekstrak *G.verrucosa* terhadap protein reseptor PBP2a

Ligan	Energi ikatan bebas (kcal/mol)	Konstanta Inhibisi (nM)	Luas Permukaan (Å)	Residu Asam Amino	Jumlah residu asam amin	Kesamaan Residu Asam Amino yang Terikat dengan Amoxicillin (%)	Kesamaan Residu Asam Amino yang Terikat dengan Vancomycin (%)
Asam Miristat	-0,18	740,83	272,271	Hidrogen LYS28 Polar LYS28 Lain-lain ASN32	3	25%	0%
Asam Palmitoleat	-0,17	753,64	261,288	Polar LYS28 Lain-Lain ASN32	2	25%	0%
Asam Palmitat	0,05	0	264,601	Hidrogen LYS28 Polar LYS28 Lain-lain LYS28	3	0%	0%
Asam Oleat	-0,03	943,76	310,575	Polar LYS28 Lain-lain ASN32, ASP35	3	50%	0%
Asam Stearat	-0,12	811,5	293,864	Hidrogen LYS28 Lain-Lain ASN32	2	25%	0%
Asam Arakidonat	0,15	0	297,181	Hidrogen LYS28 Lain-lain ASP32, ASP35	3	0%	0%
Asam homolinolenic	-0,54	404,78	320,405	Hidrogen LYS28 Lain-lain ASN32, ASP35	3	50%	0%
<i>i-Dodecin</i>	0,04	0	262,67	Lain-lain ASN32, LYS32, ASP35	3	50%	0%
<i>O- Xylene</i>	-1,31	108,96	235,177	Lain-lain LYS28, ASN32, ASP35	3	0%	0%
<i>Benzaldehyde dimethyl acetate</i>	-0,81	256,05	360,369	Polar ASN32 Lain-lain LYS28, ASP35	3	50%	0%
<i>Pentadecane</i>	0,57	0	277,967	Lain-lain ASN32, ASP35, LYS28	3	50%	0%
<i>Tridecanoic acid</i>	-0,4	510,82	302,964	Polar LYS28 Lain-lain ASN32	2	25%	0%
<i>Eicosane</i>	0,87	0	309,886	Lain-lain ASP35, ASN32, LYS28	3	50%	0%
<i>Pentadecanoic acid</i>	-0,08	868,04	271,257	Polar LYS28 Lain-lain ASN32	2	25%	0%
<i>1-Chloro-octadecane</i>	0,76	0	326,331	Lain-lain LYS28, ASN32	2	0%	0%
<i>Oxacyclopent-3-en-2-on-5-carbonic acid,3,4-dimethyl</i>	-2,31	20,18	211,996	Hidrogen LYS28	1	0%	0%
<i>(Z, Z, Z)-6,9,12-Octadecatrienoic acid</i>	-0,49	434,47	297,589	Hidrogen LYS28 Lain-lain ASN32, ASP35	3	50%	0%
<i>Eicosanoic acid</i>	0,49	0	289,98	Polar LYS28 Lain-lain ASN32	2	25%	0%
<i>Heneicosanoic acid</i>	0,27	0	328,277	Hidrogen LYS28 Lain-lain ASN32, ASP35	3	50%	0%
<i>(Z, Z)-11,14-Eicosadienoic acid</i>	-0,39	518,91	319,281	Hidrogen LYS28, Polar ASN32, ASP35	3	25%	0%
<i>Tetracosanoic acid</i>	0,41	0	331,541	Hidrogen LYS28 Lain-lain ASN32	2	25%	0%
<i>(Z)-15-Tetracosenoic acid (nervonic acid)</i>	0,28	0	325,049	Hidrogen LYS28 Lain-lain ASN32, ASP35	3	50%	0%

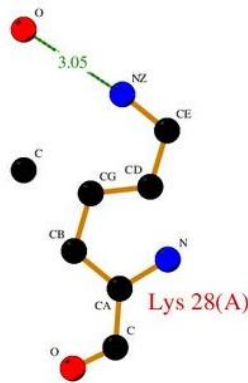
(C24 1)							
2,2-diphenyl-2-hydroxy acetic acid	-2,01	33,44	244,437	Hidrogen LYS28 Lain-lain ASN32	2	25%	0%
N-Phenethyl - acetamide	-2,4	17,45	312,362	Polar ASN32 Lain-lain LYS28, ASP35	3	50%	0%
Palatinol IC [1,2-benzene dicarboxylic acid, di-(2-methylpropyl) ester]	-0,33	568,7	297,939	Polar ASN32 Lain-lain LYS28, ASP35	3	50%	0%
Amoxicillin (Kontrol)	-4,41	0,583	269,98	Hidrogen ASP35 Polar ASN 32 Lain-lain ASN32,ASP35	4	100%	0%
Vancomycin (Kontrol)	-10,98	8,89	864,093	Hidrogen GLU240 Polar GLU151, GLU240, ARG299 Hydrophobic LEU148	6	100%	100%

Keterangan: Data yang diperlihatkan merupakan hasil penelitian dari penambahan 25 senyawa aktif *G. verrucosa* terhadap PBP2a dengan kontrol *Amoxicillin* dan *Vancomycin*.

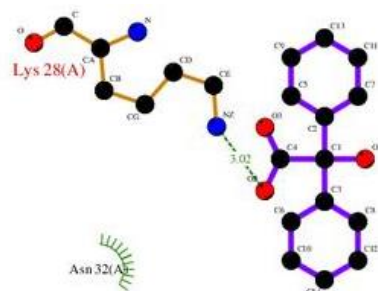
A.



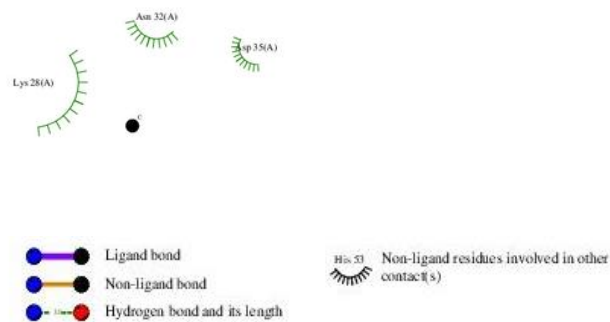
B.



C.



D.



Gambar 1. Struktur ligan berikatan dengan *Penicillin Binding Protein 2a* yaitu (A) *N-Phenethyl - acetamide* (B) *Oxacyclopent-3-en-2-on-5-carbonic acid,3,4-dimethyl* (C) *2,2-diphenyl-2-hydroxy acetic acid* (D) *O- Xylene*

Keterangan : Senyawa aktif *G. verrucosa* yang beberapa memiliki nilai energi ikatan bebas yang paling tinggi dan residu asam amino terhadap *Penicillin Binding Protein*.

Berdasarkan **tabel 1**, menunjukkan suatu senyawa memiliki energi bebas yang dianggap telah berikatan dengan protein target jika memiliki nilai <0 kcal/mol.¹³ Semua senyawa ekstrak *G. verrucosa* tidak memiliki energi bebas yang lebih kecil dibandingkan kontrol yang memiliki nilai ΔG -4,41 kcal/mol dan ΔG -10,98 kcal/mol. Hanya terdapat tiga senyawa yang memiliki nilai energi ikatan bebas yang

terbaik yaitu *Oxacyclopent-3-en-2-on-5-carbonic acid,3,4-dimethyl*, *N-Phenethyl - acetamide* dan, *2,2-diphenyl-2-hydroxy acetic acid*. Konstanta inhibisi (K_i) adalah proses yang menggambarkan penghambatan antara ligan pada protein, semakin rendah nilai yang ditunjukkan maka semakin mudah pembentukan ikatan terjadi.⁹ terdapat sepuluh Senyawa memiliki konstanta inhibisi lebih kecil

daripada *Amoxicillin* dan *Vancomycin* yaitu Asam Palmitat, Asam Arakidonat, *i-Dodecin*, *Pentadecane*, *Eicosane*, *1-Chloro-octadecane*, *Eicosanoic acid*, *Heneicosanoic acid*, *Tetracosanoic acid*, *(Z)-15-Tetracosanoic acid (nervonic acid) (C24 1)*. Nilai interaksi permukaan (\AA) jika Semakin tinggi nilai ikatan maka semakin stabil dan tinggi aktivitas biologis yang dihasilkan.¹⁴ Senyawa dengan interaksi permukaan terbesar adalah *Benzaldehyde dimethyl acetate*.

Pada penelitian ini kesamaan residu asam amino pada ikatan hidrogen ligan dengan kontrol tidak ada. Pada *Amoxicillin* memiliki ikatan hidrogen ASP35, ikatan Polar ASN32, ikatan Lain-lain ASN32, ASP32 dan *Vancomycin* Hidrogen GLU240 Polar GLU151, GLU240, ARG299 Hydrophobic LEU148. terdapat empat Senyawa ekstrak *G.verrucosa* yang memiliki ikatan polar ASN32 yang sama dengan *Amoxicillin* yaitu *Benzaldehyde dimethyl acetate*, *(Z, Z)-11,14-Eicosadienoic acid*, *N-Phenethyl – acetamide*, dan *Palatinol IC [1,2-benzene dicarboxylic acid, di-(2-methylpropyl) ester]*. Sebanyak dua puluh senyawa

aktif memiliki ikatan Lainnya yang sama seperti *Amoxicillin*. sebagian besar senyawa ekstrak *G.verrucosa* memiliki ikatan hidrogen LYS28. Namun semua senyawa tidak memiliki residu asam amino yang sama dengan *Vancomycin*. Residu asam amino senyawa aktif *G.verrucosa* terhadap PBP2a yang memiliki Afinitas terbaik ditunjukkan pada **gambar 1**.

Hasil dan analisa data prediksi Fisikokimia dan Farmakokinetik dari senyawa aktif *G.verrucosa* melalui website pkCSM online tool

Prediksi *in silico* berisi sifat fisikokimia senyawa ekstrak *G.verrucosa* dengan mendeskripsikan nilai senyawa aktif pada web pkCSM, data senyawa tersebut kemudian dideskripsikan dengan indikator *Lipinski rule of five* seperti pada tabel 1. Analisa senyawa ekstrak *G.verrucosa*, kemudian dilanjutkan dengan mengevaluasi profil farmakokinetik menggunakan web <http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsm/prediction> pkCSM yang disajikan dalam **tabel 2**.

Tabel 2. Data Prediksi Sifat Fisikokimia dan Penerapan *Lipinski Rule of Five* dari Senyawa Aktif *G.verrucosa*, *Amoxicillin* dan *Vancomycin*.

Senyawa Aktif	BM(Da)	HBD	HBA	LogP	PSA(\AA)
Asam Miristat/ <i>Tetradecanoic Acid</i>	228,00	1	1	4,77	100.439
Asam Palmitoleat/ <i>9-Hexadecenoic Acid</i>	254,00	1	1	5,32	112.480
Asam Palmitat/ <i>Hexadecenoic Acid</i>	256,00	1	1	5,55	113.169
Asam Oleat/ <i>9-Octadecenoic Acid</i>	282,00	1	1	6,10	125.209
Asam Stearat/ <i>Octadecenoic Acid</i>	284,00	1	1	6,33	125.899
Asam Arakidonat	296,00	1	1	4,00	134.626
Asam homolinolenic	306,00	1	1	6,44	136.560
<i>i-Dodecin</i>	166,00	0	0	4,00	77.753
<i>O- Xylene</i>	106,00	0	0	2,30	50.161
<i>Benzaldehyde dimethyl acetate</i>	288,00	0	4	3,16	125.258
<i>Pentadecane</i>	212,00	0	0	6,09	97.848
<i>Tridecanoic acid</i>	214,00	1	1	4,38	94.074
<i>Eicosane</i>	282,00	0	0	8,04	129.673
<i>Pentadecanoic acid</i>	242,00	1	1	5,16	106.804
<i>1-Chloro-octadecane</i>	288,50	0	0	7,48	127.247
<i>Oxacyclopent-3-en-2-on-5-carbonic acid,3,4-dimethyl</i>	214.04	0	1	0,98	214.046
<i>(Z, Z, Z)-6,9,12-Octadecatrienoic acid</i>	278,00	1	1	5,66	123.830
<i>Eicosanoic acid</i>	312,00	1	1	7,11	138.629
<i>Heneicosanoic acid</i>	326,00	1	1	7,50	144.994
<i>(Z, Z)-11,14-Eicosadienoic acid</i>	322,00	1	2	5,65	141.357
<i>Tetracosanoic acid</i>	368,00	1	1	8,67	164.089
<i>(Z)-15-Tetracosanoic acid (nervonic acid) (C24 1)</i>	366,00	1	1	8,44	163.399
<i>2,2-diphenyl-2-hydroxy acetic acid</i>	228,00	2	2	2,00	98.968
<i>N-Phenethyl – acetamide</i>	342,00	1	3	2,15	148.323
<i>Palatinol IC [1,2-benzene dicarboxylic acid, di-(2-methylpropyl) ester]</i>	278.34	0	4	3,31	119.631
<i>Amoxicillin (Kontrol)</i>	365,41	4	6	0,02	147,92
<i>Vancomycin (Kontrol)</i>	1449,27	19	25	0,12	583,820

Keterangan: *Molecular Weight (BM)*, *Logarithm of Octanol (Log P)*, *Hydrogen Bond Acceptors (HBA)*, *Hydrogen Bond Donors (HBD)*, *Polar Surface Activity (PSA)*. Data yang ditampilkan merupakan hasil prediksi fisikokimia dari senyawa aktif *G.verrucosa* kontrol *Amoxicillin* dan *Vancomycin*.

Dari data sifat fisikokimia *Lipinski rule of five* pada **Tabel 1**, senyawa yang bisa menjadi kandidat obat jika memenuhi minimal dua syarat atau lebih. Adapun syaratnya adalah hydrogen bond donor tidak lebih dari lima, hydrogen bond acceptor tidak lebih

dari 10, masa molekul tidak lebih dari 500 dalton, dan Koefisien octanol-water partition coefficient ($\text{LogP} < 5$), dan surface area atau luas permukaan harus dibawah $< 140 \text{\AA}$. Berdasarkan *Lipinski rule of five* dan hasil analisa di **tabel 1**, maka semua senyawa aktif dari *G.verrucosa* berpotensi menjadi obat

Tabel 2. Prediksi profil Farmakokinetik dari senyawa aktif *G. verrucosa* melalui website pkCSM. Prediksi profil Farmakokinetik meliputi data Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Ekskresi (ADME) dan Toksisitas.

Senyawa Aktif	Absorpsi	Distribusi		Permeabilitas kulit (Log kp)	Permeabilitas BBB (log BB)	Unbound (FU)	Metabolisme		Renal Clearance (log ml/min/kg)	Toksisitas Hepatotoksik
	Absorpsi intestinal (%)	Permeabilitas (Log kp)	Volume Distribusi (logL/kg)				CYP2D6	CYP3A4		
Asam Miristat	92,691	-2.705	-0,578	-0,027	0.171	X	X	X	1,693	X
Asam Palmitoleat	92,51	-2,715	-0,574	-0,084	0.104	X	X	X	1,817	X
Asam Palmitat	92,004	-2.717	-0,543	-0,111	0.101	X	X	X	1,763	X
Asam Oleat	91,823	-2.725	-0,558	-0,168	0.052	X	X	X	1,884	X
Asam Stearat	91,317	-2.726	-0,528	-0,195	0.051	X	X	X	1,832	X
Asam Arakidonat	97,879	-2.722	-0,842	0,036	0.052	X	X	X	1,776	X
Asam homolinolenic	92,148	-2.729	-0,616	-0,199	0.02	X	X	X	2,053	X
<i>i-Dodecin</i>	94,317	-1.175	0,491	0,88	0,21	X	X	X	1,578	X
<i>O- Xylene</i>	95,713	-1.236	0,325	0,409	0.362	X	X	X	0,269	X
<i>Benzaldehyde dimethyl acetate</i>	96,081	-2.391	0,016	-0,085	0.182	X	X	X	0,767	X
<i>Pentadecane</i>	91,389	-2.117	0,664	0,92	0.074	X	X	X	1,811	X
<i>Tridecanoic acid</i>	93,035	-2.698	-0,602	0,015	0.214	X	X	X	1,658	X
<i>Eicosane</i>	89,671	-2.774	0,614	1,014	0	X	X	X	1,998	X
<i>Pentadecanoic acid</i>	92,348	-2.711	-0,558	-0,069	0.134	X	X	X	1,728	X
<i>1-Chloro-octadecane</i>	89,734	-2.725	0,596	0,997	0	X	X	X	0,872	X
<i>Oxacyclopent-3-en-2-on-5-carbonic acid,3,4-dimethyl</i>	91,179	-2.347	0,437	0,223	0.702	X	X	X	-0,692	X
<i>(Z, Z, Z)-6,9,12-Octadecatrienoic acid</i>	92,836	-2.722	-0,617	-0,115	0.056	X	√	X	1,989	√
<i>Eicosanoic acid</i>	90,63	-2.731	-0,532	-0,279	0.021	X	X	X	1,9	√
<i>Heneicosanoic acid</i>	90,286	-2.733	-0,541	-0,321	0.013	X	X	X	1,933	√
<i>(Z, Z)-11,14-Eicosadienoic acid</i>	94,136	-2.734	-0,774	-0,318	0.038	X	X	X	1,796	√
<i>Tetracosanoic acid</i>	89,255	-2.735	-0,59	-0,448	0.015	X	X	X	2,034	√
<i>(Z)-15-Tetracosenoic acid (nervonic acid) (C24 1)</i>	89,761	-2.735	-0,615	-0,421	0.011	X	X	X	2,082	√
<i>2,2-diphenyl-2-hydroxy acetic acid</i>	100	-2.735	-2,288	0,565	0.154	X	X	X	0,547	X
<i>N-Phenethyl - acetamide</i>	95,89	-3.498	-0,117	-0,046	0.157	X	X	X	1,693	X
<i>Palatinol IC [1,2-benzene dicarboxylic acid, di-(2-methylpropyl) ester]</i>	93,96	-2.645	0,144	0,394	0.103	X	X	X	1,817	X
<i>Amoxicillin (Kontrol)</i>	37,35	-2.735	-0,853	-1,06	0.753	X	X	X	1,763	√
<i>Vancomycin (Kontrol)</i>	0	-2,735	-0,284	-3,351	0,308	X	X	X	-1,273	√

Keterangan: Data yang diperlihatkan merupakan hasil uji prediksi ADME dan toksisitas dari Senyawa Aktif *G. verrucosa*, dan *Vancomycin*.

Hasil dari tabel 2. Semua senyawa aktif yang baik jika memiliki nilai absorpsi intestinal diatas 30%, senyawa aktif *G. verrucosa* dan *Amoxicillin* memiliki absorpsi intestinal lebih dari 30%. Obat antibiotik yang berpotensi memiliki skin permeabilitas yang baik jika memiliki logkp < -2,5. Semua senyawa *G. verrucosa* dan *Amoxicillin* memenuhi syarat parameter skin permeability.

Senyawa yang mempunyai volume Distribusi buruk bila nilai Log VD < -0,15 dan bagus bila > 0,45 terdapat empat Senyawa aktif memiliki Volume distribusi yang memenuhi syarat adalah, *pentadecane*, *Eicosane*, *1-Chloro-octadecane*, *I-Dodecin*. Senyawa aktif yang mampu melakukan penetrasi ke *blood brain barrier* jika mempunyai nilai Log BB > 0,3, dan tidak dapat terdistribusi bila logBB < -1.⁷ Terdapat enam senyawa aktif yang dapat menembus *Blood brain barrier* yaitu *I-Dodecin*, *O-Xylene*, *Pentadecane*, *Eicosane*, *1-Chloro-octadecane*, dan *Oxacyclopent-3-en-2-on-5 carbonic acid,3,4-dimethyl*. Semua senyawa aktif *G. verrucosa* memiliki nilai unbound lebih rendah dibandingkan *Amoxicillin* dan *Vancomycin*, karena

semakin besar nilai unbound maka semakin banyak yang berikatan dengan protein plasma.⁷

Senyawa aktif *G. verrucosa* yang paling berpotensi mengganggu metabolisme obat adalah *(Z, Z, Z)-6,9,12 Octadecatrienoic acid*. Hal ini disebabkan karena kedua senyawa tersebut menghambat *CYP3A4* inhibitor. Prediksi proses ekskresi senyawa dapat dilakukan dengan mengukur tetapan *Total Clearance* dan *Renal Organic Cation Transporter (OCT2)*. Dua puluh satu senyawa aktif yang mempunyai total clearance lebih tinggi daripada *Amoxicillin*. Sedangkan *Vancomycin* memiliki total clearance paling rendah semua senyawa aktif *G. verrucosa* tidak mempengaruhi substrat OCT2. Sebanyak sembilan belas senyawa aktif tidak memiliki efek hepatotoksik, sedangkan *Amoxicillin* dan *Vancomycin* bersifat hepatotoksik

PEMBAHASAN

Analisa Molecular Docking Senyawa Ekstrak *G. verrucosa*

Pada penelitian ini, semua senyawa ekstrak *G. verrucosa* tidak memiliki energi bebas yang lebih kecil dibandingkan dengan *Amoxicillin* dan *Vancomycin*. Senyawa dengan energi bebas terkecil adalah *Oxacyclopent-3-en-2-on-5 carbonic acid, 3,4 dimethyl* dengan nilai -2,31 kcal/mol sedangkan untuk nilai kontrol (*Amoxicillin*) memiliki nilai -4,41 kcal/mol dan *Vancomycin* -10,98 kcal/mol. Energi ikatan bebas adalah energi yang ada untuk melakukan kerja. Energi ikatan bebas juga menggambarkan stabilitas dan spontanitas pengikatan antar ligan dan protein target. Penurunan energi bebas menunjukkan bahwa interaksi ligan dan protein tersebut semakin spontan sehingga afinitasnya semakin tinggi. Tingginya afinitas ikatan antara senyawa herbal dan protein reseptor menunjukkan bahwa senyawa tersebut semakin berpotensi sebagai obat.²⁹

Selain energi bebas, konstanta inhibisi berperan dalam afinitas ikatan ligan dan reseptor. Senyawa aktif dengan konstanta inhibisi yang memiliki nilai 0 nM adalah Asam Palmitat, Asam Arakidonat, *Pentadecane*, *Eicosane*, *Heneicosanoic acid*, *Tetracosanoic acid*, dan (*Z*)-15- *Tetracosenoic acid (nervonic acid)* dan lebih kecil dibandingkan dengan kontrol *Amoxicillin* dengan nilai 0,583 nM dan *Vancomycin* dengan nilai 8,89 nM. Konstanta inhibition adalah ukuran seberapa kuat suatu ligan menghasilkan setengah penghambatan maksimum. Tingginya konstanta inhibisi menunjukkan ligan tersebut sukar berikatan dengan protein target. Hal yang sebaliknya, semakin kecil konstanta inhibisi suatu ligan maka ligan tersebut lebih berpotensi sebagai obat.³⁰

Interaksi luas permukaan yang merupakan hubungan ligan dan protein target juga mempengaruhi ikatan antara ligan dan protein target. Pada penelitian ini *Benzaldehyde dimethyl acetate* memiliki interaksi permukaan tertinggi terhadap protein target *Penicillin Binding Protein (PBP2a)* yang memiliki nilai 360,37 Å dan lebih besar dari *Amoxicillin* dengan nilai 269,98 Å namun lebih kecil dari *Vancomycin* dengan nilai 864,093 Å. Interaksi permukaan dipengaruhi oleh luas molekul ligan. Nilai interaksi permukaan yang tinggi memberikan peluang yang tinggi senyawa aktif untuk berinteraksi dengan protein target. Tingginya peluang berinteraksi dengan protein target maka ligan tersebut semakin kuat ikatannya sehingga lebih berpotensi sebagai obat.³¹

Residu asam amino ligan senyawa ekstrak *G. verrucosa* terhadap protein PBP2a memiliki beberapa kesamaan dengan *Amoxicillin* tetapi tidak dengan *Vancomycin*. Terdapat empat Senyawa ekstrak *G. verrucosa* yang memiliki ikatan polar ASN32 yang sama dengan *Amoxicillin* yaitu *Benzaldehyde dimethyl acetate*, (*Z, Z*)-11,14-*Eicosadienoic acid*, *N-Phenethyl – acetamide*, dan *Palatinol IC [1,2-benzene dicarboxylic acid, di-(2-methylpropyl) ester]*. Sebanyak dua puluh senyawa aktif memiliki ikatan lain yang sama seperti *Amoxicillin*. Senyawa aktif diperkirakan memiliki ikatan yang kuat dengan reseptor target jika dapat

berikatan kuat melalui ikatan hidrogen dan dapat berikatan dengan salah satu residu asam amino yang sama dari sisi aktif.³² Residu asam amino terbentuk dari dorongan atau tarikan antara unsur ligan dan protein target salah satu contohnya adalah ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen adalah interaksi antarmolekul antara ion dan ikatan hidrogen akibat perbedaan muatan elektromagnetik. Tingginya interaksi antarmolekul menyebabkan peningkatan afinitas sehingga senyawa tersebut semakin berpotensi sebagai obat.³³

Prediksi Sifat Fisikokimia dan Farmakokinetik (ADMET) Senyawa Aktif *G. verrucosa* Menggunakan pkCSM.

Berdasarkan data Fisikokimia semua senyawa ekstrak *G. verrucosa* berpotensi sebagai obat. Sesuai dengan aturan *Lipinski rule of five* merupakan lima parameter yang digunakan untuk menganalisis suatu senyawa menjadi obat baru. Suatu senyawa akan memiliki absorbs atau permeabilitas yang tinggi apabila nilai berat molekul (BM) <500 Da, nilai Log P <5, hydrogen bond donor (HBD) <5, hydrogen bond acceptor (HBA) <10 dan luas permukaan (PSA) <140 Å.⁷ Adapun aturan *Lipinski 5* yang membantu dalam membedakan antara molekul seperti obat dan non obat. Indikator ini memprediksi kemungkinan keberhasilan atau kegagalan yang tinggi karena kemiripan obat untuk molekul yang mematuhi 2 atau lebih aturan.¹⁵ Pemenuhan hukum *Lipinski* bertujuan untuk mengetahui sifat fisikokimia ligan dalam menentukan karakter hidrofobik atau hidrofilik suatu senyawa untuk melalui membran sel oleh difusi pasif. Metode ini berfungsi untuk screening dalam proses penemuan obat sehingga mempercepat penemuan obat dengan kelarutan dan permeabilitas yang baik.¹⁶ Penggunaan metode ini sudah pernah dilakukan sebelumnya oleh Rengasamy et al., tahun 2014 untuk memprediksi senyawa alga sebagai obat.¹⁷

Profil farmakokinetik dan toksisitasnya ditentukan melalui website pkCSM. Farmakokinetik suatu obat diawali oleh proses absorpsi yang pada penelitian ini dinilai berdasarkan absorpsi intestinal.¹⁸ Pada penelitian ini yang semua senyawa ekstrak *G. verrucosa* memiliki nilai absorbs lebih dari 30% dan lebih baik daripada *Amoxicillin* dan *Vancomycin*. Obat yang baik untuk diabsorpsi adalah obat yang memiliki tingkat absorpsi >30% . Apabila obat tersebut dibawah nilai 30% maka obat tersebut tidak dapat diabsorpsi dengan baik oleh usus.⁷ Absorpsi intestinal berperan penting dalam proses farmakokinetik obat. Proses absorpsi obat berakhir pada organ kolon. Semakin banyak presentase obat tersebut diabsorpsi di usus maka obat tersebut semakin efektif untuk masuk ke tubuh.¹⁹

Dua puluh senyawa aktif memiliki nilai skin permeabilitas yang lebih cepat diserap oleh kulit dan yang tertinggi adalah *N-Phenethyl – acetamide* dengan nilai -3,498 dan *Eicosane* dengan nilai -2,774 daripada *Amoxicillin* dan *Vancomycin* dengan nilai -2,735 , sehingga dapat diprediksi bahwa semua

turunan senyawa *G. verrucosa* tersebut mempunyai permeabilitas kulit yang baik. Parameter permeabilitas kulit sangat penting dalam penghantaran obat melalui kulit. Senyawa yang memiliki permeabilitas kulit yang rendah jika memiliki $\log K_p > -2,5$. Senyawa yang memiliki permeabilitas kulit yang tinggi jika memiliki nilai $\log K_p < -2,5$.⁷

Setelah melalui proses absorpsi, obat kemudian menuju proses distribusi. Pada penelitian ini, distribusi dari obat dinilai dari volume distribusi dan kemampuan obat menembus *Blood Brain Barrier*. Senyawa aktif yang memiliki Volume distribusi yang memenuhi syarat dari urutan yang tertinggi adalah *pentadecane*, *Eicosane*, *1-Chloro-octadecane*, *1-Dodecin*. Volume distribusi dianggap rendah jika dibawah $\log VD < -0,15$ dan tinggi jika diatas $\log VD > 0,45$.⁷ Volume distribusi adalah parameter farmakokinetik yang mewakili kecenderungan obat individu untuk tetap berada dalam plasma atau mendistribusikan kembali ke kompartemen jaringan lain.²⁰ Volume stabil suatu obat yang didistribusikan secara merata untuk memberikan konsentrasi yang sama seperti dalam plasma darah. Semakin tinggi Volume distribusi, semakin banyak obat yang terdistribusi dalam jaringan daripada plasma.

Selain volume distribusi, permeabilitas obat menembus *Blood Brain Barrier* (BBB) merupakan hal yang penting untuk mengetahui efek sampingnya. Permeabilitas *Blood Brain Barrier*, dihitung berdasarkan perbandingan konsentrasi yang menembus BBB dengan konsentrasi plasma. terdapat sembilan senyawa aktif ekstrak *G. verrucosa* tidak bersifat toksik terhadap sistem saraf pusat dari urutan nilai terbaik yaitu *Tetracosanoic acid*, *(Z)-15-Tetracosenoic acid (nervonic acid) (C24 1)*, *Heneicosanoic acid*, *(Z, Z)-11,14-Eicosadienoic acid*, *Eicosanoic acid*, *Asam homolinolenic*, *Asam Stearat*, *Asam Oleat*, dan *Asam Palmitat*. Hal ini menyebabkan semakin kecil nilainya maka konsentrasinya dalam menembus BBB semakin kecil.²¹ Obat yang memiliki nilai distribusi blood brain barrier yang lebih dari 3 menggambarkan bahwa obat tersebut dapat menembus BBB dan memiliki efek samping dan toksisitas, sedangkan pada nilai distribusi kurang dari -1 menggambarkan obat tersebut tidak dapat menembus *Blood Brain Barrier*.⁷

Pada nilai distribusi unbound dari semua senyawa aktif ekstrak *G. verrucosa* memiliki nilai unbound lebih rendah dibandingkan *Amoxicillin* yang memiliki nilai sebesar 0,753 dan *Vancomycin* 0,308. Nilai unbound digunakan untuk memprediksi seberapa besar senyawa berikatan dengan protein plasma darah. Semakin besar nilai unbound maka senyawa semakin terikat kuat dengan protein plasma darah sehingga obat atau senyawa dalam kondisi tidak terikat dengan protein sehingga dapat bekerja pada reseptor target dengan baik.⁷ Dengan demikian potensi senyawa aktif ekstrak *G. verrucosa* untuk berikatan dengan reseptor target lebih rendah dibandingkan dengan *Amoxicillin* dan *Vancomycin*.

Pada proses farmakokinetik, obat mengalami proses distribusi kemudian dilanjutkan dengan proses metabolisme. Reaksi metabolik terjadi karena adanya proses oksidasi. dalam tubuh, dan terutama ditemukan di hati. Bekerja dengan cara mengoksidasi senyawa organik asing, termasuk obat, dan memfasilitasi ekskresi senyawa tersebut. Inhibitor enzim ini, seperti jus grapefruit, dapat mempengaruhi metabolisme obat sehingga dikontraindikasikan terhadap enzim sitokrom P450.²² Oleh karena itu penting untuk menilai kemampuan senyawa yang dapat menghambat sitokrom P450, yang dalam penelitian ini diwakili oleh isoform sitokrom CYP2D6 dan CYP3A4.⁷ Hasil prediksi metabolisme, kontrol *Amoxicillin* dan *Vancomycin* tidak mengaktifkan maupun menghambat golongan enzim CYP2D6, CYP3A4. Hampir semua senyawa aktif ekstrak *G. verrucosa* juga tidak mengaktifkan dan menghambat enzim CYP2D6 dan CYP3A4 kecuali senyawa (*Z, Z*)-6,9,12-Octadecatrienoic acid yang dapat menghambat CYP3A4. Senyawa ekstrak yang memiliki inhibisi terhadap beberapa sitokrom tersebut berpotensi menyebabkan interaksi obat sehingga menurunkan efektivitas obat.²³ Pada penelitian ini proses metabolisme obat dinilai berdasarkan kemampuan menghambat beberapa sitokrom yaitu CYP2D6, dan CYP3A4 adalah sitokrom yang berinteraksi dengan banyak obat. Inhibisi dari sitokrom ini akan menurunkan aktivasi obat yang berinteraksi dengan sitokrom ini. Proses ini dapat menyebabkan hambatan pada katalisis sintesis kolesterol.²⁴ CYP2D6 adalah sitokrom yang berperan dalam aktivasi obat antidepresan, antipsikotik, beta bloker, dan antikonvulsan.²⁵ CYP3A4 adalah sitokrom yang berperan untuk mengaktifkan obat bersifat lipofilik, enzim ini menghambat senyawa yang memiliki muatan positif dan biasanya memiliki unsur nitrogen. Beberapa obat yang diaktivasi oleh sitokrom ini adalah *ergotamin*, *quinidine*, *vinblastine*, dan *cochicine*.²³

Setelah melewati proses metabolisme obat akan dikeluarkan tubuh melalui proses ekskresi.²⁶ Pada penelitian ini kemampuan ekskresi dari senyawa ekstrak *G. verrucosa* diukur berdasarkan tetapan *Total Clearance* dan *Renal Organic Cation Transporter2* (OCT2) substrate.²² Total clearance adalah kecepatan obat untuk diekskresikan dari tubuh. Organic Cation Transporter 2 adalah transporter pada ginjal yang memegang peran penting dalam disposisi dan clearance obat-obatan dan senyawa endogen. Substrat OCT2 juga berpotensi menimbulkan interaksi sampingan bila diberikan bersama-sama dengan inhibitor OCT2.²² Pada penelitian ini menunjukkan bahwa 21 senyawa aktif yang mempunyai total *clearance* lebih tinggi daripada *Amoxicillin* tetapi tidak dengan *Vancomycin*, semua senyawa aktif tidak mempengaruhi substrat OCT2. Dari Tabel 2. dapat dilihat bahwa nilai total *clearance* dari senyawa *G. verrucosa* berkisar antara 0,767 sampai 2,082. dari nilai-nilai tersebut dapat diprediksi kecepatan ekskresi senyawa. Semakin tinggi total

clearance maka obat tersebut cepat untuk diekskresikan dan tidak bertahan lama di tubuh.²⁷

Selain farmakokinetik, toksisitas dari obat merupakan parameter yang penting dalam menjaga kesehatan pasien. Pada penelitian ini, toksisitas senyawa herbal diukur berdasarkan kadar hepatotoksik., efek toksisitas dinilai berdasarkan efek hepatotoksiknya. Senyawa ekstrak yang memiliki efek hepatotoksik adalah *Octadecatrienoic acid*, *Eicosanoic acid*, *Heneicosanoic acid*, (*Z, Z*)-*11,14-Eicosadienoic acid*, dan (*Z*)-*15-Tetracosenoic acid*. Efek hepatotoksik terjadi akibat senyawa aktif tersebut menginduksi pembentukan ROS dan merusak mitokondria hepatosit.²⁸

Pada penelitian ini, kontrol ligan menggunakan *Amoxicillin* dan *Vancomycin*. *Amoxicillin* adalah antibiotik golongan *beta laktam* yang bekerja dengan cara berikatan dengan PBP2a. Ikatan ini akan menghambat transpeptidasi sehingga tidak terjadi pembentukan dinding sel bakteri.³⁴ Selain itu, *Amoxicillin* juga dipilih sebagai kontrol karena antibiotik ini adalah broadspectrum dan lebih sering digunakan secara klinis.³⁵ dan *Vancomycin* dipilih sebagai kontrol karena efektivitasnya sebagai penghambat PBP2a.³⁶ Senyawa ekstrak *G.verrucosa* secara farmakokinetik dan toksisitas berpotensi sebagai obat. Penelitian ini menggunakan metode insilico yang memungkinkan memiliki hasil berbeda apabila dilakukan uji *Molecular Docking* menggunakan metode lain. Selain itu, pada penelitian ini senyawa herbal hanya diujikan terhadap target protein PBP2a sehingga masih berpeluang menjadi antibiotik dengan mekanisme yang berbeda.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil *Molecular Docking*, senyawa aktif *G.verrucosa* tidak berpotensi dalam penghambat enzim PBP2a. karena senyawa ekstrak *G.verrucosa* memiliki nilai afinitas yang lemah dibandingkan dengan kontrol *Amoxicillin* dan *Vancomycin* dalam menghambat *Penicillin Binding Protein 2a*.

Berdasarkan sifat Fisikokimia (*Lipinski Rule of five*) dan Farmakokinetik (ADMET) dua puluh lima senyawa ekstrak *G.verrucosa* berpotensi sebagai obat. Memiliki absorpsi yang baik, dapat didistribusikan secara merata untuk memberikan konsentrasi yang sama seperti pada plasma darah, terdapat enam senyawa yang mampu menembus sawar darah otak (*Blood Brain Barrier*) secara moderat, dan sebagian besar senyawa cenderung tidak dimetabolisme oleh enzim P450, mempunyai toksisitas yang relatif rendah dibandingkan dengan *Amoxicillin* dan *Vancomycin*.

SARAN

Untuk mendukung kesimpulan dari penelitian ini diperlukan penelitian lanjutan dengan

1. Melakukan uji *Molecular Docking* dengan metode yang berbeda.
2. Melakukan uji *Molecular Docking* dengan protein

target yang berbeda.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih disampaikan kepada IOM dan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang, serta tim kelompok penelitian yang telah membantu penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Spaulding, A. R., Satterwhite, E. A., Ying-Chi, L., Chuang-Smith, O. N., Frank, K. L., Merriman, J. A., et al. (2012). Comparison of *staphylococcus aureus* strains for ability to cause infective endocarditis and lethal sepsis in rabbits. *Front. Cell infect. Microbiol.* 2:1–9. *IDF International Diabetes Federation, The Lancet.* doi:10.1016/S0140-6736(55)92135-8.(2019)
2. Deyno, S., Fekadu, S., & Astatkie, A. (2017). Resistance of *Staphylococcus aureus* to antimicrobial agents in Ethiopia: a meta-analysis. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 6(1). Guthrie, R. A. and Guthrie, D. W. 'Pathophysiology of Diabetes Mellitus', *Critical Care Nursing Quarterly*, 27(2), pp.113–125. doi: 10.1097/00002727-200404000-00003.(2004)
3. Rosalina, D., Martodihardjo, S. and Listiawan, M. Y., 2010. *Staphylococcus aureus* sebagai Penyebab Tersering Infeksi Sekunder pada Semua Erosi Kulit Dermatitis Vesikobulosa. *Berkala Ilmu Kesehatan Kulit & Kelamin*, 22(2), pp.102-108. Hastuti, Rini Tri. Faktor-faktor Risiko Ulkus Diabetika Pada Penderita Diabetes Melitus Stud iKasus di RSUD Dr. Moewardi Surakarta. Universitas Diponegoro (Semarang). 2008
4. Panjaitan, R. S., Simanjuntak, Y. V., & Sumantri, S. (2020). Ekstrak Lemak *Gracilaria verrucosa* sebagai Antibakteri *Shigella dysenteriae* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*, 15(1), 13-20.
5. Giiven, C. K., 2012, *Biochemical and Pharmacological Researches on Turkish Marine Algae*, Turkey, ege university, faculty of Engineering, Bioengineering Department
6. Kaur, S. P., Rao, R. and Nanda, S. A. N. J. U. 2011. Amoxicillin: a broad spectrum antibiotic. *Int J Pharm Pharm Sci*, 3(3), pp.30-7.
7. Pires, D. E. V., Blundell, T. L., and Ascher, D. B. (2015). pkCSM: Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity Properties Using Graph-Based Signatures. *Journal of Medicinal Chemistry*, 58(9), 4066–4072.
8. Ferreira, L. G., Dos-Santos, R. N., Oliva, G., and Andricopulo, A. D., 2015. *Molecular Docking and Structure-Based Drug Design Strategies*. *Molecules*, (20): 13384-13421.
9. McConkey, B., Sobolev, V., and Edelman, M,

2002. The performance of current methods in ligand–protein docking. *Current Science*, 83(7), 845–856.
10. Firmansyah, R.R., 2015. Efek Anti hipertensi Dekokta Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*) Melalui Penghambatan tACE (Studi In Silico). Malang. Fakultas Kedokteran UNISMA
 11. Kesuma, D., Purwanto, B.T. and Hardjono, S., 2018. Uji in silico aktivitas sitotoksik dan toksisitas senyawa Turunan N-(Benzoil)-N'-feniltiourea sebagai calon obat antikanker. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 3(1), pp.1-11.
 12. Adinda. A. Wulandari. (2020). UJI INSILICO SIFAT FISIKOKIMIA DAN PROFIL FARMAKOKINETIK (ADMET) SENYAWA TURUNAN ASAM BETULINAT SEBAGAI KANDIDAT OBAT HIV. Surabaya, Universitas Airlangga Surabaya McConkey BJ, Sobolev V, Edelman M. "The performance of current methods in ligand-protein docking". *Current Science*. 83(7):2002. hal .845–855.
 13. Muttaqin, F.Z., Ismail, H. and Hubbi, N.M., 2019. Studi *Molecular Docking*, Molecular Dynamic, Dan Prediksi Toksisitas Senyawa Turunan Alkaloid Naftiridin Sebagai Inhibitor Protein Kasein Kinase 2-A Pada Kanker Leukemia. *J of Pharmacoscript*, 2(1).
 14. Bikadi, Z. and Hazai, E., 2009. Application of the PM6 semi-empirical method to modeling proteins enhances docking accuracy of AutoDock. *Journal of cheminformatics*, 1(1), pp.1-16. Jeffrey GA. An Introduction to Hydrogen Bonding. Oxford University Press, Oxford: 1997.
 15. Lipinski, C.A., 2004. Lead-and drug-like compounds: the rule-of-five revolution. *Drug discovery today: Technologies*, 1(4), pp.337-341.
 16. Pollastri M. P. (2010). Overview on the Rule of Five. *Current protocols in pharmacology*, Chapter 9, <https://doi.org/10.1002/0471141755.ph0912s49>
 17. Rengasamy, K. R., Kulkarni, M. G., Stirk, W. A., & Van Staden, J. (2014). Advances in algal drug research with emphasis on enzyme inhibitors. *Biotechnology advances*, 32(8), 1364–1381. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2014.08.005>
 18. Lin, L., & Wong, H. (2017). Predicting Oral Drug Absorption: Mini Review on Physiologically-Based Pharmacokinetic Models. *Pharmaceutics*, 9(4), 41. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics904041>
 19. Dahlgren, D., & Lennernäs, H. (2019). Intestinal Permeability and Drug Absorption: Predictive Experimental, Computational and In Vivo Approaches. *Pharmaceutics*, 11(8), 411. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11080411>
 20. Mansoor, A., & Mahabadi, N. (2020). Volume of Distribution. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.
 21. Carpenter, T. S., Kirshner, D. A., Lau, E. Y., Wong, S. E., Nilmeier, J. P., & Lightstone, F. C. (2014). A method to predict blood-brain barrier permeability of drug-like compounds using molecular dynamics simulations. *Biophysical journal*, 107(3), 630–641. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2014.06.024>
 22. Hardjono, S. (2017). Prediksi Sifat Farmakokinetik, Toksisitas dan Aktivitas Sitotoksik Turunan N-Benzoil-N'-(4-fluorofenil) tiourea sebagai Calon Obat Antikanker melalui Pemodelan Molekul. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 14(2), 246-255.
 23. Ashour, M. L., Youssef, F. S., Gad, H. A., & Wink, M. (2017). Inhibition of Cytochrome P450 (CYP3A4) Activity by Extracts from 57 Plants Used in Traditional Chinese Medicine (TCM). *Pharmacognosy magazine*, 13(50), 300–308. <https://doi.org/10.4103/0973-1296.204561>
 24. Brignac-Huber, L. M., Reed, J. R., Eyer, M. K., & Backes, W. L. (2013). Relationship between CYP1A2 localization and lipid microdomain formation as a function of lipid composition. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals*, 41(11), 1896–1905. <https://doi.org/10.1124/dmd.113.053611>
 25. Johannessen, S. I., & Landmark, C. J. (2010). Antiepileptic drug interactions - principles and clinical implications. *Current neuropharmacology*, 8(3), 254–267. <https://doi.org/10.2174/157015910792246254>
 26. Li, Y., Meng, Q., Yang, M., Liu, D., Hou, X., Tang, L., Wang, X., Lyu, Y., Chen, X., Liu, K., Yu, A. M., Zuo, Z., & Bi, H. (2019). Current trends in drug metabolism and pharmacokinetics. *Acta pharmaceutica Sinica B*, 9(6), 1113–1144. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2019.10.001>
 27. Li, Y., Sun, D., Palmisano, M., & Zhou, S. (2016). Slow drug delivery decreased total body clearance and altered bioavailability of immediate- and controlled-release oxycodone formulations. *Pharmacology research & perspectives*, 4(1), e00210. <https://doi.org/10.1002/prp2.210>
 28. Yuan, L., & Kaplowitz, N. (2013). Mechanisms of drug-induced liver injury. *Clinics in liver disease*, 17(4), 507–vii. <https://doi.org/10.1016/j.cld.2013.07.002>

29. Du, X., Li, Y., Xia, Y. L., Ai, S. M., Liang, J., Sang, P., Ji, X. L., & Liu, S. Q. (2016). Insights into Protein-Ligand Interactions: Mechanisms, Models, and Methods. *International journal of molecular sciences*, 17(2), 144. <https://doi.org/10.3390/ijms17020144>
30. Ramsay, R. R., & Tipton, K. F. (2017). Assessment of Enzyme Inhibition: A Review with Examples from the Development of Monoamine Oxidase and Cholinesterase Inhibitory Drugs. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 22(7), 1192. <https://doi.org/10.3390/molecules22071192>
31. Myslinski, J. M., DeLorbe, J. E., Clements, J. H., & Martin, S. F. (2011). Protein-ligand interactions: thermodynamic effects associated with increasing nonpolar surface area. *Journal of the American Chemical Society*, 133(46), 18518–18521. <https://doi.org/10.1021/ja2068752>
32. Arrasyid, M.A.A., Damayanti, D.S. and Lestari, R.D., 2020. Studi In Silico Senyawa Aktif Ekstrak Rimpang Jahe Emprit (Zingiber officinale Rosc.) terhadap Penghambatan Asetilkolinesterase, β -Tubulin dan Aktivasi Kanal Kalsium sebagai Antelmintik. *Jurnal Kedokteran Komunitas*, 8(2).
33. Liu, J., Fang, L., & Liu, C. (2020). Investigating the influences of intermolecular interactions on viscoelastic performance of pressure-sensitive adhesive by FT-IR spectroscopy and molecular modeling. *Drug development and industrial pharmacy*, 46(6), 1005–1014. <https://doi.org/10.1080/03639045.2020.1764026>
34. Soares, G. M., Figueiredo, L. C., Faveri, M., Cortelli, S. C., Duarte, P. M., & Feres, M. (2012). Mechanisms of action of systemic antibiotics used in periodontal treatment and mechanisms of bacterial resistance to these drugs. *Journal of applied oral science : revista FOB*, 20(3), 295–309. <https://doi.org/10.1590/s1678-77572012000300002>
35. Yogo, N., Shihadeh, K., Young, H., Calcaterra, S. L., Knepper, B. C., Burman, W. J., Mehler, P. S., & Jenkins, T. C. (2017). Intervention to Reduce Broad-Spectrum Antibiotics and Treatment Durations Prescribed at the Time of Hospital Discharge: A Novel Stewardship Approach. *Infection control and hospital epidemiology*, 38(5), 534–54. <https://doi.org/10.1017/ice.2017.10>
36. Afifurrahman, A., Samadin, K.H. and Aziz, S., 2014. Pola Kepekaan Bakteri Staphylococcus aureus terhadap Antibiotik Vancomycin di RSUP Dr. Mohammad Hoesin Palembang. *Majalah Kedokteran Sriwijaya*, 46(4), pp.266-270.

