

Desain dan Studi *In Silico* Senyawa Daun Kelor (*Moringa oleifera*) sebagai Kandidat Antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus*

Design and In Silico Study of Moringa Leaf (Moringa oleifera) Compounds as an Antibacterial Candidate Against Staphylococcus

Nonah Sa'banah, Richa Mardianingrum*, Srie Rezeki Nur Endah

Program Studi Farmasi, Universitas Perjuangan Tasikmalaya, Tasikmalaya, Indonesia

*E-mail: richamardianingrum@unper.ac.id

ABSTRAK

Infeksi adalah suatu penyakit dimana bakteri patogen masuk ke dalam tubuh dan berkembang biak sehingga menimbulkan penyakit. Bakteri patogen *Staphylococcus aureus* bisa menyebabkan infeksi pneumonia yang terjadi karena peradangan pada alveoli. Tujuan penelitian ini adalah untuk menemukan kandidat obat dari 68 senyawa daun kelor sebagai antibakteri *S. aureus*. Metode yang diujikan meliputi skrining toksisitas, farmakokinetik, *drug scan*, penambatan molekul, visualisasi *docking*, serta simulasi molekuler dinamik secara *in silico*. Hasil toksisitas dan farmakokinetik dengan menggunakan web server PkCSM terdapat 8 senyawa yang lolos dan memenuhi kriteria. Hasil penambatan molekul dengan menggunakan PyRx nilai *binding energy* yang rendah yaitu -8.02 dan -6.19 masing-masing pada senyawa genistein dan benzylamine, dapat dibuktikan dengan simulasi molekuler dinamik selama 100 ns menggunakan Desmond yang berinteraksi dengan sisi aktif terhadap reseptor inhibitor benzamide pada residu asam amino Gln 192, Leu 209, Gly 227, Asn 243, Val 310, serta memiliki interaksi yang stabil pada waktu 66-100 ns. Hasil ini menunjukkan bahwa genistein menunjukkan potensi antibakteri yang lebih unggul dibandingkan linezolid dan bisa menjadi agen antibakteri yang menjanjikan melawan *S. aureus*.

Kata Kunci: Antibakteri, genistein, *in silico*, *Moringa oleifera*, *Staphylococcus aureus*

ABSTRACT

Infection is a disease where pathogenic bacteria enter the body and multiply, causing illness. The pathogenic bacteria *Staphylococcus aureus* can cause pneumonia infections due to inflammation in the alveoli. The aim of this research is to find drug candidates from 68 compounds of moringa leaves as an antibacterial against *S. aureus*. The methods tested include toxicity screening, pharmacokinetics, drug scanning, molecular docking, docking visualization, and *in silico* molecular dynamics simulation. The toxicity and pharmacokinetics results using the PkCSM web server showed that 8 compounds passed and met the criteria. The results of molecular docking using PyRx showed low binding energy values of -8.02 and -6.19 for genistein and benzylamine compounds, respectively. This was confirmed by molecular dynamics simulations over 100 ns using Desmond, which interacted with the active site of the benzamide inhibitor receptor at the amino acid residues Gln 192, Leu 209, Gly 227, Asn 243, and Val 310 and exhibited stable interactions from 66 to 100 ns. These results indicate that genistein exhibits superior antibacterial potential compared to linezolid and could be a promising antibacterial agent against *S. aureus*.

Keywords: Antibacterial, genistein, *in silico*, *Moringa oleifera*, *Staphylococcus aureus*

Submitted: October 1st 2024 | 1st Revised: November 5th 2024 | 2nd Revised: December 9th 2024 | Accepted: December 15th 2024 | Published: December 31st 2024

Pendahuluan

Infeksi adalah suatu penyakit yang disebabkan oleh bakteri patogen yang masuk ke dalam tubuh dan berkembang biak sehingga menyebabkan penyakit. Bakteri patogen *Staphylococcus aureus* bisa menyebabkan infeksi pneumonia yang terjadi karena peradangan pada alveoli. Bakteri *S. aureus* sering ditemukan pada kulit, saluran pernafasan, dan pencernaan makanan pada manusia. Data profil kesehatan di Provinsi Jawa Barat menunjukkan adanya peningkatan yang fluktuatif antara

tahun 2021 dan 2022. Pada tahun 2021, prevalensi pneumonia sebesar 27,90%, sedangkan pada tahun 2022 sebesar 44,90% [1].

Staphylococcus aureus adalah bakteri yang menyebabkan infeksi paling sering di dunia dan sangat rentan terhadap infeksi yang parah. *Staphylococcus aureus* resisten terhadap antibiotik beta-laktam antara lain metisilin, oksasilin, penisilin, dan amoksisilin [2]. Antibiotik yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* adalah vankomisin, linezolid, daptomycin, sulfamethoxazole, trimethoprim, clindamycin,

dan tigeccycline [3]. Efek samping obat ini antara lain mual dan muntah, diare, alergi, demam, dan sakit kepala. Berdasarkan penelitian Kato *et al.*, dari meta analisis yang dilakukan menunjukkan bahwa linezolid dengan dosis oral efektif dan aman untuk mencegah pertumbuhan bakteri *S. aureus* yang resisten terhadap methicillin [4]. Kelebihan linezolid diantaranya memiliki bioavailabilitas oral 100% karena penyerapan yang cepat, bersifat bakteriostatik terhadap *S. aureus*, dan volume distribusinya mendekati kadar air sebesar 40-50 L [5].

Perkembangan bakteri *S. aureus* yang resisten terhadap antibiotik mendorong para ilmuwan untuk mencari suatu agen antimikroba baru yang lebih aman, efektif, dan murah, salah satunya yaitu yang berasal dari tanaman kelor (*Moringa oleifera* L.). Secara empiris, masyarakat menggunakan tanaman kelor sebagai makanan dan obat. Pada penelitian yang dilakukan oleh Tunas dkk., ditemukan bahwa daya hambat *S. aureus* tertinggi pada konsentrasi 7% dengan diameter zona hambat sedang yaitu 5,75 mm, dari konsentrasi 1, 3, 5, 7, dan 9% [6]. Ada beberapa zat kimia di daun kelor, diantaranya yaitu flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid. Zat-zat tersebut memiliki sifat antibakteri yang kuat. Kaempferol, myrecytin, dan quercetin adalah flavonoid utama yang ditemukan pada daun kelor. Flavonoid bekerja sebagai antibakteri dengan beberapa mekanisme aksi, diantaranya menghambat sintesis asam nukleat serta menghambat fungsi membran sitoplasma dan menghambat metabolisme energi dari bakteri, sehingga dapat disintesis pada tanaman daun kelor sebagai reaksi terhadap infeksi mikroba [7].

Penelitian tersebut perlu dikembangkan lebih lanjut untuk mencari potensi senyawa bahan obat terhadap *S. aureus* secara *in silico*. *In silico* adalah pemodelan molekuler dengan bantuan komputer untuk penemuan obat. Kelebihan dari metode *in silico* adalah dapat memprediksi fisikokimia dan farmakokinetik dari suatu senyawa yang sesuai dengan uji aktivitasnya. Berdasarkan latar belakang tersebut, peneliti bermaksud untuk memprediksi aktivitas antibakteri dari senyawa daun kelor terhadap *S. aureus* secara *in silico*.

Bahan dan Metode

Bahan

Penelitian ini menggunakan *software* berupa Microsoft Office Word 2013, Microsoft Office Excel 2013, Chemdraw Ultra 8.0, MarvinSketch 5.2, Molegro Molecular Viewer 2.5, Autodock Tools 1.5.6, pyrx, Discovery Studio 2017, dan Desmond. Selain itu, penelitian ini juga menggunakan web server seperti KNApSack, pKCSM, PDBsum, RCSB PDB, Lipinski's rule of five, Pubchem, dan Drug bank. *Hardware* berupa laptop Acer Aspire ES1-531 prosesor Intel® Celeron® CPU N3050 @ 1.60GHz, RAM 4 GB, *type system* 64-bit Operating System, x-64 based processor, dan Windows 8.1 pro. Pada proses dinamika molekuler menggunakan *personal computer* (PC) sistem operasi Linux Ubuntu 12.04 LTS 64-bit, prosesor pentium® Dual-Core CPU E660 @ 3.06 GHz, 2408 MB of RAM.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi 68 senyawa daun kelor dengan melihat gambar struktur senyawa yang bisa digunakan sesuai dengan nama IUPAC-nya, diperoleh dari web server KNApSack, reseptor 8HTB yang diunduh dari web server RCSB dan linezolid sebagai kontrol positif.

Metode

1. Analisis dan Preparasi Reseptor

Pemilihan reseptor dilakukan pada web server RCSB PDB. Preparasi reseptor dilakukan dengan menghilangkan air dan menambahkan hidrogen serta pemisahan antara ligan dan protein dari kofaktor karena untuk memudahkan pada saat proses *docking* berlangsung menggunakan Molegro Molecular Viewers [8].

2. Validasi Docking

Validasi *docking* dilakukan dengan cara men-*docking*-kan kembali ligan asli terhadap reseptor aktif dengan *setting grid* 40. × 40 × 40 Å, *spacing* 0,375 Å, dan koordinat pusat *grid* (X, Y, Z) untuk mengetahui posisi ligan berada di dalam *box*, agar nilai RMSD nya kurang dari 2 Å.

3. Preparasi Ligan

MarvinSketch digunakan untuk menggambarkan struktur 2D. Kemudian diprotonasi pada pH 7,4 dan disimpan dalam format mrv. Kemudian konformasi ligan disimpan dalam format pdb [9].

4. Skrining Toksisitas dan Farmakokinetik

Struktur senyawa digambar pada *software* Chemdraw dalam format SMILES kemudian dianalisis menggunakan situs web pKCSM dengan melihat parameter dari ames test, LD₅₀, hepatotoxicity, CaCO₂, HIA, dan PPB.

5. Skrining Drug-Likeness

Drug-likeness dengan menggunakan *software* MarvinSketch yang disimpan dalam format pdb, lalu mengunjungi web server lipinski.

6. Docking Senyawa Uji

Proses ini dilakukan dengan menggunakan *software* Pyrx dengan data gridbox yang telah disesuaikan pada langkah validasi reseptor dan autogrid yang dijalankan hingga selesai.

7. Visualisasi Docking

Visualisasi hasil *docking* dilakukan untuk melihat interaksi antara ligan dan reseptor yang terdiri dari ikatan digambarkan dalam 2D dan 3D menggunakan *software* Discovery [10].

8. Analisis Dinamika Molekuler

Simulasi dinamika molekul dilakukan pada senyawa terbaik dan obat pembanding menggunakan *software* Desmond. Proses ini melibatkan beberapa tahap yaitu preparasi protein dengan *fill in show*, persiapan system, dan penambahan molekul air TIP3P pada langkah solvasi dan NaCl 0,15 M untuk meniru konsentrasi ion fisiologis. Langkah minimalisasi dilakukan selama 100 ns pada suhu 300 K dan tekanan konstan (1,01325 bar) dalam kotak ortorombik dengan buffer berdimensi 10Å×10Å×10Å dan ansambel NPT, protein-ligan dinetralkan dengan menambahkan ion Na⁺ dan Cl⁻.

Hasil

Hasil validasi *docking*, uji toksisitas, uji farmakokinetik, skrining *ligand-based drug likeness* (*drug scan*), *docking* senyawa uji, nilai RMSD hasil dinamika molekuler, dan histogram senyawa pembanding, genistein, dan benzylamine ditunjukkan pada **Tabel 1, 2, 3, 4, 5, 6, dan 7**.

Tabel 1. Hasil validasi *docking*

Kode PDB	Center Grid Box	Box Dimension	Space	RMSD (Å)	Binding Energy (kkal/mol)
8HTB	x = -15,826 y = -14,16 z = 18,87	x = 40 y = 40 z = 40	0,375	0,33	-10,02

Tabel 2. Hasil uji toksisitas

No	Nama Senyawa	Ames Test	LD ₅₀	Hepatotoxicity
1	Linezolid (kontrol +)	No	2,949	Yes
2	<i>p</i> -Cumaoric acid	No	1,909	No
3	Salicylic acid	No	1,869	No
4	Caffeic acid	No	2,258	No
5	Eugenol	No	1,646	No
6	5,7,3',4'-Tetrahydroxyflavone*	Yes	2,145	No
7	(-)-Epicatechin	No	1,786	No
8	Myricetin	No	2,672	No
9	Glucocochlearin	No	1,984	No
10	Glucoconringiin	No	2,165	No
11	Glucoputranjivin	No	1,977	No
12	Sinalbin*	No	2,531	Yes
13	Genistein	No	1,909	No
14	Gallic acid	No	2,211	No
15	Gentisic acid	No	2,094	No
16	Stringic acid	No	1,978	No
17	Vanillin	No	1,645	No
18	3-O-Caffeoylquinic acid	No	2,305	Yes
19	2-Hydroxycinnamid acid	No	2,257	No
20	Ferulic acid	No	2,076	No
21	Sinapic acid	No	2,240	No
22	<i>P</i> -Cymene	No	1,616	No
23	Alpha-Phellandrene	No	1,676	No
24	(-)-Beta-Sitosterol	No	2,420	No
25	Alpha-Amyrin	No	2,292	No
26	Beta-Amyrin	No	2,281	No
27	Lupeol	No	4,007	No
28	Lupeol acetate	No	2,603	No
29	Lutein	No	3,511	No
30	Apigenin	No	2,045	No
31	Kaempferol	No	2,399	No
32	Quercetin*	Yes	2,518	No
33	Rhamnetin*	Yes	2,123	No
34	Isorhamnetin	No	2,065	No
35	Astragalin*	Yes	3,045	No
36	Kaempferol 3-O-sophoroside	No	2,483	No
37	Kaempferol 3-rutinoside	No	2,552	No
38	Hirsutrin*	Yes	2,960	No
39	Quercetin 3-O-alpha-L-rhamnoside*	Yes	3,083	No
40	Quercetin 3-rutinoside*	Yes	2,440	No
41	Vicenin*	Yes	2,481	No
42	Benzylglucosinolate*	No	2,436	Yes

43	4-(4'-O-Acetyl-alpha-L-rhamnopyranosyloxyl)benzyl glucosinolate*	No	2,402	Yes
44	4-Hydroxybenzyl glucosinolate Glucosinalbate*	No	2,531	Yes
45	2-Methylpropyl glucosinolate Isobutyl glucosinolate	No	1,995	No
46	Daidzein*	Yes	1,852	No
47	Ellagic acid*	Yes	2,528	No
48	3-O-beta-D-Glucopyranosyl sitosterol	No	2,731	No
49	4-Caffeoylquinic acid	No	2,352	No
50	5-Caffeoylquinic acid*	No	2,288	Yes
51	Benzyl isothiocyanate	No	1,735	No
52	Benzylamine	No	2,044	No
53	Amino (methoxysulfinyl) pentasulfide	No	4,098	No
54	Niazirin	No	2,282	No
55	Niazinin B	No	2,888	No
56	Niazimicin A*	No	2,674	Yes
57	Niaziminin A	No	2,875	No
58	Niaziminin B	No	2,875	No
59	Niazinin A	No	2,888	No
60	Niazirinin*	No	2,342	Yes
61	Niazimin A*	No	2,656	Yes
62	Niazicin A*	No	2,630	Yes
63	Niazicinin A*	No	2,593	Yes
64	Niazidin	No	2,584	Yes
65	4-O-alpha-L-Rhamnopyranosylglucosinalbin	No	2,431	No
66	Moringyne*	No	2,262	Yes
67	Marumoside A*	No	2,238	Yes
68	D-Allose	No	1,321	No
69	Cholest-5-en-3-ol	No	2,298	No

*senyawa tidak memenuhi syarat

Tabel 3. Hasil uji farmakokinetik

No	Nama Senyawa	CaCO ₂ (> 0.90)	HIA (> 30)	PPB (< 90)
1	Linezolid (kontrol +)	0,828	90,453	50,336
2	p-Cumaoric acid	1,16	95,07	63,055
3	Salicylic acid	1,142	70,878	8,772
4	Caffeic acid*	0,321	58,348	40,290
5	Eugenol*	1,095	94,583	100
6	(-)-Epicatechin*	-0,376	68,117	100
7	Myricetin*	0,178	55,609	96,784
8	Glucocochlearin*	-0,797	0,579	34,355
9	Glucoconringiin*	-0,831	0	15,042
10	Glucoputranjivin*	-0,772	0	21,331
11	Genistein	1,014	90,851	58,815
12	Gallic acid*	0,023	44,599	89,738
13	Gentisic acid*	0,555	72,608	63,384
14	Stringic acid*	0,408	74,796	69,613
15	Vanillin	1,205	79,737	69,775
16	2-Hydroxycinnamid acid	1,152	92,624	64,851
17	Ferulic acid*	0,1	94,737	50,414
18	Sinapic acid*	0,229	94,773	47,507
19	P-Cymene*	1,393	94,547	100

20	<i>Alpha-Phellandrene*</i>	1,403	95,63	100
21	<i>(-)-Beta-Sitosterol*</i>	1,271	96,131	100
22	<i>Alpha-Amyrin*</i>	1,247	98,788	100
23	<i>Beta-Amyrin*</i>	1,262	99,107	100
24	<i>Lupeol*</i>	1,325	100	100
25	<i>Lupeol acetate*</i>	1,328	100	100
26	<i>Lutein*</i>	1,41	89,947	100
27	<i>Apigenin*</i>	1,09	91,639	97,253
28	<i>Kaempferol*</i>	0,375	82,145	89,608
29	<i>Isorhamnetin*</i>	0,494	74,217	83,545
30	<i>Kaempferol 3-O-sophoroside*</i>	-0,463	15,767	45,087
31	<i>Kaempferol 3-rutinoside*</i>	-0,202	28,223	42,374
32	<i>2-Methylpropyl glucosinolate Isobutyl glucosinolate*</i>	-0,794	0,547	36,907
33	<i>3-O-beta-D-Glucopyranosyl sitosterol*</i>	0,485	81,326	100
34	<i>4-Caffeoylquinic acid*</i>	-0,706	13,626	43,977
35	<i>Benzyl isothiocyanate</i>	1,535	94,980	26,675
36	<i>Benzylamine</i>	1,493	78,912	0,000
37	<i>Amino (methoxysulfinyl) pentasulfide</i>	1,478	86,088	0,000
38	<i>Niazirin*</i>	0,291	54,144	48,120
39	<i>Niazinin B*</i>	0,207	56,144	73,536
40	<i>Niaziminin A*</i>	0,329	63,455	81,203
41	<i>Niaziminin B*</i>	-0,329	63,455	81,203
42	<i>Niazinin A*</i>	-0,207	56,775	73,536
43	<i>4-O-alpha-L-Rhamnopyranosylglucosinalbin*</i>	-0,808	0	34,599
44	<i>D-Allose*</i>	-0,427	27,21	7,312
45	<i>Cholest-5-en-3-ol*</i>	1,224	96,458	100

*senyawa tidak memenuhi syarat

Tabel 4. Hasil skrining *ligand-based drug likeness (drug scan)*

No	Nama Senyawa	Berat Molekul	Donor Hidrogen	Akseptor Hidrogen	Log P	Refraktori Molar
		< 500 g/mol	< 5	< 10	< 5	40 - 130
1	Linezolid (kontrol +)	337	1	7	4,03	84,47
2	<i>p-Cumaoric acid*</i>	164	0	3	1,83	36,85
3	<i>Salicylic acid*</i>	138	0	3	1,98	28,32
4	<i>Genistein</i>	270	0	5	3,08	62,69
5	<i>Vanillin*</i>	152	0	3	-5,95	88,94
6	<i>2-Hydroxycinnamid acid*</i>	354	1	9	1,83	35,29
7	<i>Benzyl isothiocyanate</i>	149	0	1	2,79	91,50
8	<i>Benzylamine</i>	107	0	1	1,10	40,59
9	<i>Amino(methoxysulfinyl) pentasulfide</i>	253	0	2	3,19	107,07

*senyawa tidak memenuhi syarat

Tabel 5. Hasil *docking* senyawa uji

No	Nama Senyawa	Binding Energy (kkal/mol)	Konstanta Inhibisi (μ m)
1	Linezolid (kontrol +)	-7,90	1,62
2	Genistein	-8,02	1,33
3	<i>Benzyl isothiocyanate</i>	-5,62	75,97
4	Benzylamine	-6,19	29,04
5	<i>Amino (methoxysulfinyl) pentasulfide</i>	-5,86	50,76

Tabel 6. Nilai RMSD hasil dinamika molekuler

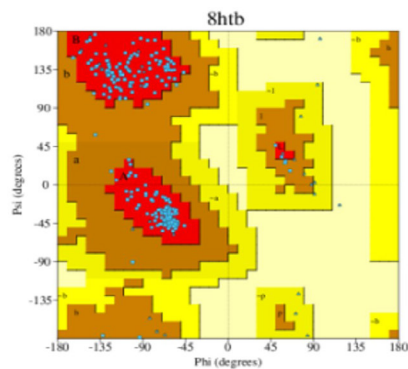
Senyawa Kompleks	Rata-Rata RMSD	Minimum RMSD	Maksimum RMSD
Linezolid	2,213	1,278	2,498
Genistein	2,192	1,115	2,345
Benzylamine	2,621	1,464	2,607

Tabel 7. Hasil histogram senyawa pembanding, genistein, benzylamine

No	Nama Senyawa	Interaksi dengan Asam Amino			
		Hidrogen	Hidrofobik	Ionik	Jembatan Air
1	Linezolid	Gln 192, Gly 205, Leu 209, Gly 227, Asn 263, Val 310	Leu 200, Val 203, Met 226, Ile 228, Val 297	Asp 199, Glu 206, Val 207, Asn 208, Leu 261, Thr 265, Thr 309	
2	Genistein	Asn 188, Val 189, Gln 192, Gly 193, Gly 196, Asp 199, Leu 200, Leu 209, Phe 211, Met 226, Gly 227, Ser 247, Asn 243, Val 310	Ile 162, Val 194, Ile 197, Val 214, Ile 228, Leu 250, Leu 261, Val 297, Ile 711	Glu 185, Gln 195, Ala 202, Ser 204, Gly 205, Val 207, Asn 208, Leu 249, Thr 296, Ile 298, Asn 299, Thr 309	
3	Benzylamine	Glu 87, Asp 91, Leu200, Val 203, Glu 206, Asn 208, Leu 209, Asp 210, Asp 213, Glu 268, Asp 287, Glu 288, Asp 289, Gly 205	Met 11, Ile 59, Ala 211, Val 214, Leu 270, Ile 293, Val 297, Ile 298	Gln 60, Glu 63, Arg 67, Glu 90, Gly 205, Gln 258, Gly 267, Asn 299	His 10, Ser 204

Hasil analisis dan preparasi preseptor ditunjukkan pada **Gambar 1** dan **2**. Hasil visualisasi *docking* dapat dilihat pada **Gambar 3**. Sedangkan hasil analisis dinamika molekuler berupa grafik nilai *Root Mean Square Dimension* (RMSD),

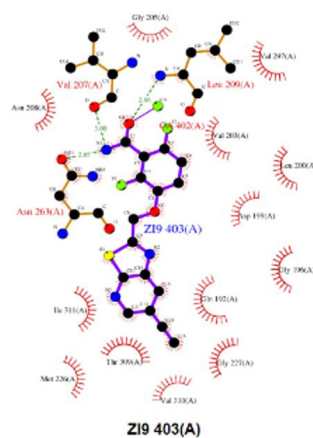
grafik *Root Mean Square Fluktuation* (RMSF), hasil histogram senyawa kompleks, serta hasil histogram senyawa pembanding, genistein, dan benzylamine dapat dilihat pada **Gambar 4, 5, 6, dan 7**.

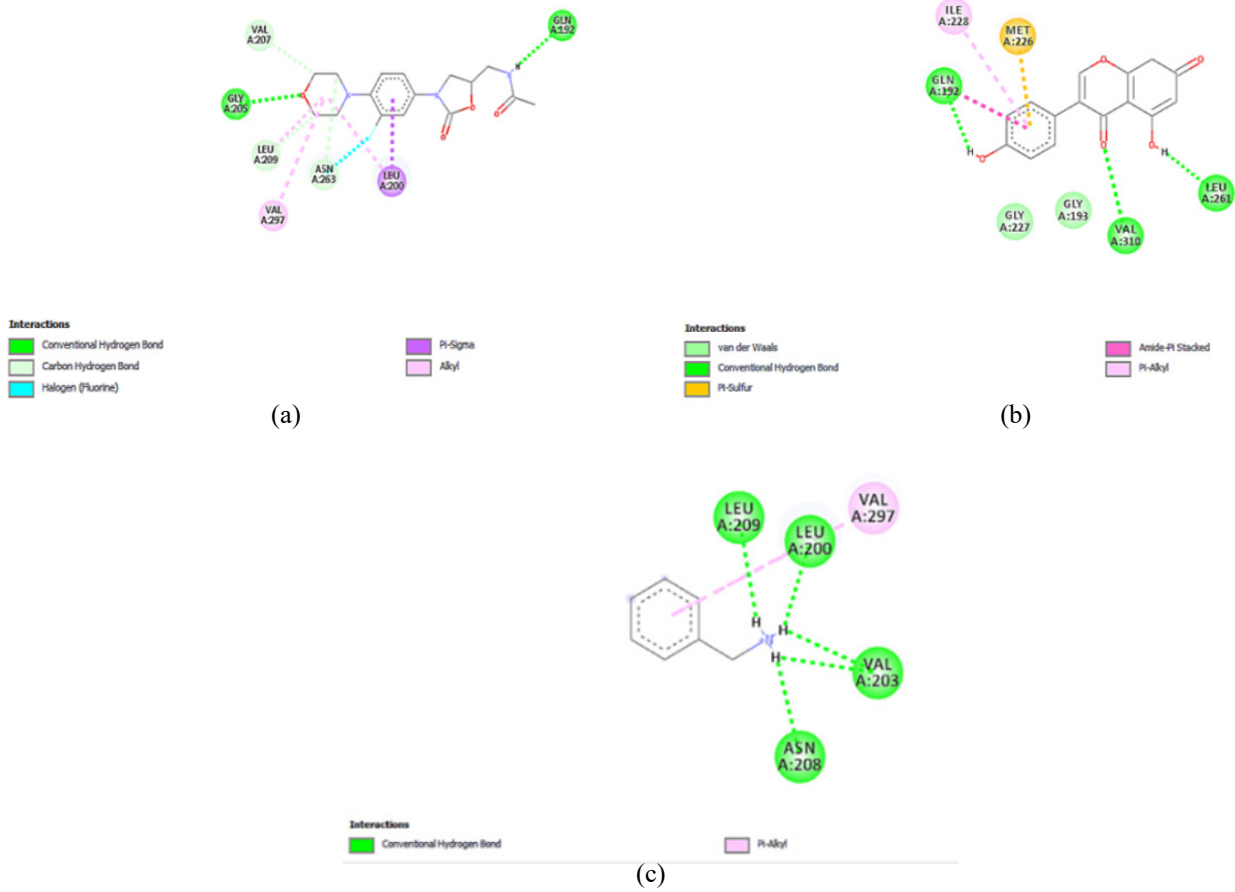
**1. Ramachandran Plot statistics**

	No. of residues	%-tage
Most favoured regions [A,B,L]	249	95.4%
Additional allowed regions [a,b,l,p]	12	4.6%
Generously allowed regions [-a,-b,-l,-p]	0	0.0%
Disallowed regions [XX]	0	0.0%

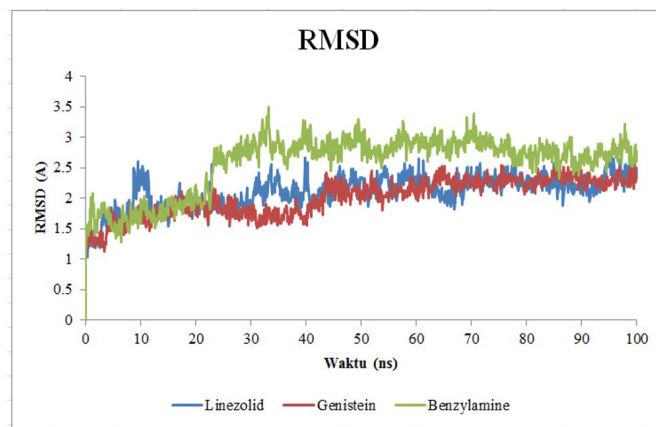
Non-glycine and non-proline residues	261	100.0%
End-residues (excl. Gly and Pro)	2	
Glycine residues	36	
Proline residues	7	

Total number of residues	306	

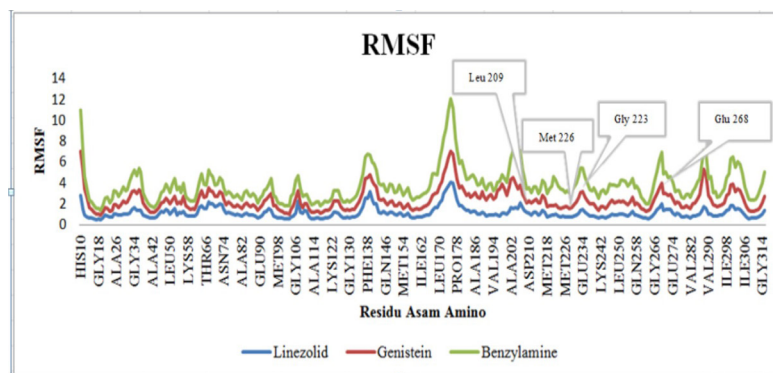
Gambar 1. Statistik plot Ramachandran dari reseptor 8HTB**Gambar 2.** Interaksi sisi ikatan reseptor 8HTB



Gambar 3. Hasil visualisasi interaksi ligan terhadap reseptor 8HTB
 (a) Linezolid (b) Genistein (c) Benzylamine



Gambar 4. Grafik nilai RMSD



Gambar 5. Grafik RMSF

Pembahasan

Analisis dan Preparasi Reseptor

Pemilihan reseptor bertujuan untuk mendapatkan protein yang paling baik pada penambatan molekul berdasarkan hasil dan validasi. Reseptor yang digunakan adalah inhibitor benzamide FtsZ dengan kode PDB 8HTB yang berhubungan dengan antibakteri yang disebabkan oleh *S. aureus*. FtsZ adalah protein yang sangat terkonservasi untuk pembelahan sel bakteri [11]. Reseptor yang dihasilkan harus memenuhi kriteria nilai resolusi yang baik, seperti yang ditunjukkan oleh data eksperimental dan analisis statistik plot Ramachandran. Nilai resolution ini harus $<2 \text{ \AA}$, *most favoured redions* $>90\%$, *dissalowed regions* $<0,8\%$ [12] [13].

Statistik plot Ramachandran dari reseptor 8HTB yang ditunjukkan pada **Gambar 1** memiliki nilai resolusi 1,30 \AA , yang menunjukkan bahwa reseptor tersebut memiliki struktur protein dengan resolusi yang rendah yang berarti bahwa struktur protein memiliki kualitas yang baik. Reseptor 8HTB dapat menjadi protein target untuk *docking* molekuler terhadap aktivitas antibakteri. Pada tahap preparasi, reseptor dipisahkan dari molekul air, hal ini disebabkan oleh kemungkinan bahwa air akan terikat pada sisi aktif reseptor. Atom hidrogen ditambahkan karena untuk memastikan posisi atom hidrogen yang optimal pada struktur reseptor. Selain itu, ligan dan protein dipisahkan dari kofaktor untuk memastikan bahwa hanya ligan uji yang berinteraksi dengan protein.

Pada **Gambar 2**, menunjukkan reseptor 8HTB memiliki sisi aktif dari ikatan hidrogen yaitu Val 207, Asn 263, dan Leu 209. Sedangkan interaksi hidrofobiknya yaitu Gly 205, Asn 208, Val 297, Val 203, Asn 208, Leu 200, Asp 199, Gly 196, Gln 192, Ile 311, Thr 309, Gly 227, Val 310, dan Met 226. Reseptor 8HTB menunjukkan stabilitas tinggi dan nilai RMSD rendah ($<2 \text{ \AA}$), yang menegaskan kesesuaiannya untuk *docking* molekuler dengan senyawa uji.

Validasi Reseptor

Validasi *docking* bertujuan untuk memastikan bahwa metode yang dipilih memenuhi syarat validitas dan dapat digunakan untuk menguji senyawa. Selain itu, pengaturan *grid box* juga dilakukan untuk memberi ruang bagi *native ligand* membentuk konformasi pada saat di-*docking*-kan dengan protein target. Validasi *docking* dianggap baik jika nilai RMSD $<2 \text{ \AA}$.

Tabel 1 menunjukkan bahwa validasi metode *docking* terhadap reseptor target memiliki nilai RMSD $<2 \text{ \AA}$, yang menunjukkan bahwa reseptor tersebut valid dan memenuhi kriteria validitas metode *docking*. Oleh karena itu, reseptor ini dapat digunakan untuk senyawa uji *docking*. Jika nilai RMSD lebih rendah posisi ligan alami hasil *docking* lebih dekat dengan ligan alami hasil kristalografi [14].

Preparasi Senyawa Uji

Ligan yang diperoleh dari senyawa daun kelor dioptimasi dengan protonasi untuk menyesuaikan pH darah manusia 7,4 dan dilakukan konformasi untuk menghasilkan molekul yang paling stabil, yang memungkinkan berinteraksi dengan sisi aktif reseptor dan menghasilkan energi potensial yang rendah [15].

Skrining Toksisitas dan Farmakokinetik

Tujuan dari prediksi toksisitas untuk melihat keamanan

obat atau suatu senyawa. *Ames test*, *Median Lethal Dose* (LD_{50}) dan hepatotoksisitas merupakan parameter dari uji toksisitas. Uji *Ames test* merupakan parameter yang sering digunakan untuk memprediksi potensi mutagenik suatu senyawa yang ditunjukkan bersifat karsinogen [16]. Nilai LD_{50} menunjukkan dosis yang menyebabkan mati dari hewan uji 50%. Semakin rendah nilai LD_{50} , senyawa tersebut semakin toksik [17]. Tujuan dari uji hepatotoksisitas adalah untuk memprediksi zat toksik yang ada di hati.

Berdasarkan hasil studi prediksi toksisitas pada **Tabel 2**, dari 68 senyawa uji terdapat 44 senyawa daun kelor diprediksi tidak toksik, nilai LD_{50} rata-rata berada pada kelas IV dan tidak merusak fungsi hati. Proses skrining farmakokinetik bertujuan untuk memprediksi proses absorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi di dalam tubuh. Nilai $CaCO_2$, *human colon adenocarcinoma* (HCA), *human intestinal absorption* (HIA), dan *protein plasma binding* (PPB) merupakan parameter dari uji farmakokinetik yang berhubungan dengan proses absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi di dalam tubuh.

Parameter sel $CaCO_2$ digunakan untuk memprediksi penyerapan obat melalui epitel usus pada sel adenokarsinoma usus besar manusia, dengan interpretasi hasil permeabilitas yang tinggi memiliki nilai $> 0,90$. Parameter HIA digunakan untuk memprediksi seberapa baik sediaan obat oral diserap oleh usus. Suatu senyawa memiliki absorpsi yang baik jika $> 30\%$ dan diabsorpsi kurang baik jika $< 30\%$. Parameter PPB digunakan untuk memprediksi distribusi obat di dalam tubuh. Senyawa dianggap baik jika $< 90\%$, karena memiliki ikatan yang lemah dengan protein plasma.

Berdasarkan **Tabel 3**, diketahui bahwa hasil uji farmakokinetik senyawa daun kelor yang diprediksi baik berjumlah 8 senyawa diantaranya p-cumaoric acid, salicylic acid, genistein, vanilin, 2-hydroxycinnamid acid, benzyl isothiocyanate, benzylamine, amino(methoxysulfinyl) pentasulfide. Oleh karena itu senyawa tersebut dapat dilanjutkan pada tahap selanjutnya yaitu skrining *drug scan*.

Skrining Ligand-Based Drug Likeness

Skrining *drug-likeness* dilakukan untuk mengetahui sifat fisikokimia obat dengan menggunakan parameter Lipinski Rule's of Five. Berat molekul menunjukkan suatu obat dapat didistribusikan melalui difusi pasif dengan cara menembus membran biologis. Jika nilai BM $< 500 \text{ g/mol}$, senyawa tersebut dianggap mudah menembus membran biologis.

Kapasitas ikatan hidrogen ditunjukkan oleh donor dan akseptor hidrogen. Semakin besar kapasitas ikatan, kapasitas ikatan meningkatkan jumlah energi yang dibutuhkan untuk proses absorpsi [18]. Log P menunjukkan lipofilitas yaitu kemampuan suatu zat larut dalam lemak, minyak, dan pelarut non polar. Nilai Log P yang negatif akan memungkinkan terjadinya interaksi dengan pelarut air dan mencegah melewati membran lipid bilayer [19]. Refraktori molar menunjukkan nilai polarisibilitas, dimana sifat polar membantu mengeluarkan metabolisme dari tubuh, agar senyawa dapat terikat dengan reseptor, sifat non polar menentukan momentumnya.

Berdasarkan **Tabel 4** dari hasil *drug scan* terdapat 4 senyawa uji yang lolos diantaranya genistein, benzyl isothiocyanate, benzylamine, amino(methoxysulfinyl) pentasulfide yang menunjukkan potensi sifat fisikokimia dan dapat diberikan secara rute peroral. Setelah berhasil mengidentifikasi *drug-likeness*, kandidat ini akan melanjutkan

ke skrining virtual menggunakan perangkat lunak PyRx untuk menilai afinitas pengikatannya dengan reseptor target.

Docking Senyawa Uji

Proses *docking* ligan uji dilakukan dengan menggunakan konfigurasi kotak grid yang sama pada tahap validasi *docking*. Parameter yang digunakan diantaranya *binding energy* (ΔG) dan konstanta inhibisi (KI). *Binding energy* (ΔG) merupakan energi minimum yang dilepaskan pada saat interaksi reseptor dan ligan membentuk ikatan. Nilai KI menunjukkan afinitas ikatan yang diperlukan untuk mengurangi aktivitas enzim. Nilai KI yang lebih rendah menunjukkan afinitas ikatan yang lebih tinggi.

Pada **Tabel 5**, terdapat 2 senyawa uji dengan nilai skor *docking* lebih kecil yaitu pada senyawa genistein dan benzylamine. Berdasarkan toksisitas dan farmakokinetik yang didapat, senyawa tersebut telah memenuhi syarat dan menunjukkan mempunyai interaksi yang stabil dan baik terhadap bakteri *S. aureus*, yang mengindikasikan bisa jadi berpotensi sebagai obat antibakteri.

Visualisasi Docking

Visualisasi *docking* bertujuan untuk melihat interaksi ikatan pada residu asam amino terhadap reseptor antibakteri. Ikatan hidrogen sangat penting karena untuk menjaga stabilitas ligan dalam situs pengikatan reseptor. Sedangkan ikatan hidrofobik mendukung stabilitas tambahan pada kantong pengikat.

Berdasarkan **Gambar 3**, ikatan yang dapat diamati ialah ikatan hidrogen dan hidrofobik. Ikatan hidrogen merupakan ikatan yang terbentuk dari atom H dengan N, O, dan F. Sedangkan ikatan hidrofobik adalah ikatan yang bersifat tidak mampu menyerap dan menerima air. Dapat disimpulkan bahwa senyawa genistein diprediksi memiliki interaksi yang stabil karena berikatan dengan residu asam amino Gln 192 yang sama dengan pembanding.

Analisis Dinamika Molekuler

Tujuan analisis dinamika molekuler adalah untuk melihat seberapa kompleks ligan-reseptor berubah setiap waktunya sampai waktunya berakhir serta memastikan kestabilan struktur kompleks ligan-reseptor dengan parameter *Root Mean Square Dimension* (RMSD), *Root Mean Square Fluktuation* (RMSF), dan interaksi ligan dengan protein. Analisis dari nilai RMSD bertujuan untuk menunjukkan bahwa protein stabil dan tidak terdenaturasi. Nilai RMSD digambarkan dalam sebuah grafik yang dihitung dari awal simulasi dan diplot dengan waktu dalam satuan Å.

Gambar 4 menunjukkan bahwa semua kompleks mencapai konformasi stabil setelah 60 ns. Hasil nilai RMSD yang didapat pada senyawa genistein terhadap reseptor menunjukkan kestabilan secara konstan pada waktu 66 – 100 ns dengan nilai RMSD 2 Å. Sedangkan pada linezolid menunjukkan kestabilan secara konstan pada waktu 68 – 100 ns dengan nilai RMSD 2 Å. Nilai RMSD yang stabil menunjukkan protein telah mencapai konformasi maksimal ketika berikatan dengan ligan, sehingga mempertahankan posisinya [20]. Rata-rata, minimum, dan maksimum nilai RMSD dapat dilihat pada **Tabel 6**.

Berdasarkan pada **Tabel 6** menunjukkan bahwa semua senyawa kompleks memiliki nilai RMSD yang rendah, dapat disimpulkan bahwa genistein lebih rendah dibandingkan

dengan benzylamine dan senyawa pembanding. RMSD sangat penting dalam menentukan integritas struktural dan konformasi pengikatan ligan yang stabil dari waktu ke waktu karena untuk mengetahui di waktu ke berapa suatu ligan bisa mencapai kestabilannya. Selain nilai RMSD, representasi stabilitas interaksi juga dapat dievaluasi menggunakan data grafik RMSF.

Analisis nilai RMSF menggambarkan fleksibilitas residu asam amino penyusun reseptor selama simulasi. Residu penyusun protein pada analisis RMSF ditunjukkan dengan menghitung variasi pergerakan setiap residu selama simulasi berlangsung.

Berdasarkan **Gambar 5** linezolid, genistein, benzylamine mengalami fluktuasi tinggi pada residu asam amino Gly 223, Glu 268. Sehingga dapat dikatakan ada kemiripan nilai fluktuasi tinggi antara linezolid, genistein, dan benzylamine akan tetapi nilai fluktuasi paling tinggi tidak berperan penting atau tidak aktif pada situs pengikatan karena karena setiap posisi mengalami banyak perubahan selama simulasi.

Residu asam amino yang mengalami fluktuasi rendah pada linezolid, genistein, benzylamine yaitu Leu 209, Met 226. Sehingga dapat dikatakan ada kemiripan dari fluktuasi rendah antara linezolid, genistein, benzylamine terhadap reseptor, dan dapat dikatakan nilai RMSF dengan fluktuasi rendah menunjukkan interaksi ligan-reseptor yang stabil dan mendukung afinitas ligan. Seperti yang ditunjukkan pada **Gambar 6**, residu kontak dengan senyawa pembanding, genistein, benzylamine berinteraksi melalui ikatan hidrogen yang ditandai dengan warna hijau, hidrofobik yang ditandai dengan warna ungu, ionik yang ditandai dengan warna biru dan jembatan air yang ditandai dengan warna merah muda. Hasil histogram senyawa kompleks dapat dilihat pada **Tabel 7**.

Berdasarkan hasil molekuler dinamik dari histogram senyawa kompleks pada **Tabel 7**, genistein memiliki 35 ikatan, sedangkan pada benzylamine memiliki 32 ikatan, dari semua ikatan yang terjadi pada hasil molekuler dinamik, ikatan hidrogen sangat berperan karena untuk mempertahankan kompleks pengikatan yang stabil. *Binding site* yang terjadi pada residu asam amino Gln 192, Leu 209, Gly 227, Asn 243, Val 310 karena sisi aktifnya sama dengan obat pembanding (linezolid). Glutamin membantu meningkatkan proliferasi dan meningkatkan fungsi sel makrofag serta menjadi prekursor untuk substrat yang penting untuk metabolisme energi dan menghambat sintesis protein [21]. Glisin berperan dalam penyembuhan luka. Isoleusin berperan dalam produksi dan penyimpanan protein. Asparagin berperan dalam sintesis amonia [22]. Tubuh menggunakan leusin untuk melakukan banyak hal, terutama mengontrol sintesa protein. Sedangkan valin sering digunakan dalam suplemen kesehatan terutama dalam sintesis dan pemeliharaan otot [23].

Berdasarkan **Gambar 7** terlihat bahwa genistein mengalami tiga interaksi selama simulasi molekuler dinamik 100 ns dengan reseptor benzamide FtsZ, yaitu interaksi hidrogen, hidrofobik, dan ionik dengan waktu simulasi (0, 20, 40, 60, 80, dan 100 ns) yang menunjukkan pengikatan yang stabil sepanjang simulasi. Interaksi yang konsisten dari waktu ke waktu sangat penting, hal ini dikarenakan menunjukkan retensi ligan yang kuat di situs aktif dan dapat berkolerasi dengan potensi efektivitas.

Kesimpulan

Hasil skrining toksisitas dan farmakokinetik dari 68 senyawa daun kelor (*Moringa oleifera*), terdapat 8 senyawa (p-cumaoric acid, salicylic acid, genistein, vanilin, 2-hydroxycinnamid acid, benzyl isothiocyanate, benzylamine, dan amino (methoxysulfinyl) pentasulfide) yang telah lolos. Sisi aktif interaksi yang terjadi pada senyawa genistein pada residu asam amino Gln 192, Leu 209, Gly 227, Asn 243, Val 310 dan memiliki interaksi yang stabil pada waktu 66 – 100 ns.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Fakultas Ilmu Kesehatan, Program Studi Farmasi, Universitas Perjuangan Tasikmalaya atas fasilitas yang diberikan untuk penelitian ini.

Referensi

- [1] Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Barat. Data Prevalensi Pneumonia di Jawa Barat. Dinkes:Jawa Barat;2023.
- [2] Salsabil AD, Rochmanti M, Widodo ADW. Vancomycin Monotherapy vs Alternative Antibiotics for MRSA Patients: A Systematic Review. *Inter J of Res Public.* 2022;92(1):124-5. <http://dx.doi.org/10.47119/IJRP100921120222689>.
- [3] Widyastriana DMD, Cahyaningsih E, Wardani IGAK. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Tanaman Obat Terhadap Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *J Integ Obat Trad.* 2021;1(1):30-7.
- [4] Kato H, Hagihara M, Asai N, Shibata Y, Koizumi Y, Yamagishi Y, Mikamo H. Meta-analysis of vancomycin versus linezolid in pneumonia with proven methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *J of Glob Antimicro Resist.* 2021;24:98-105. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2020.12.009>.
- [5] Hashemian SMR, Farhadi T, Ganj Parvar M. Linezolid: a review of its properties, function, and use in critical care. *J Drug Des Dev and Ther.* 2018;12:1759-67. <https://doi.org/10.2147/dddt.s164515>.
- [6] Tunas TH, Edy HJ, Siampa JP. Efek antibakteri ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L.) dan sediaan masker gel peel-off ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L.). *J MIPA.* 2019;8(3):112-5. <https://dx.doi.org/10.35799/jmuo.8.3.2019.25778>.
- [7] Kumar S, Pandey AK. Chemistry and biological activities of flavonoids: An overview. *Sci World J.* 2013;162750. <https://doi.org/10.1155/2013/162750>.
- [8] Farhan M. Penambatan Molekuler Senyawa Aktif Okra (*Abelmoschus esculentus* L.) Pada Enzim Alfa-Glukosidase Sebagai Kandidat Obat Antidiabetes Melitus. Bogor: Institut Pertanian Bogor;2019.
- [9] Ruswanto R, Mardianingrum R, Siswandono S, Kusuma D. Reverse Docking, Molekular Docking, Penyerapan, Distribusi, dan Prediksi Toksisitas Artemisinin Sebagai Kandidat Anti Diabetes. *Molekul.* 2020;15(2):88-96. <http://dx.doi.org/10.20884/1.jm.2020.15.2.579>.
- [10] Ratu BDPM, Bodhi W, Budiarmo F, Kepel BJ, Fatmawati, Manampiring A. Molecular Docking Senyawa Gingerol dan Zingiberol Pada Tanaman Jahe Sebagai Penanganan Covid-19. *E Biomed.* 2021;9(1):126-30. <https://doi.org/10.35790/ebm.9.1.2021.32361>.
- [11] Silber N, Matos de Opitz CL, Mayer C, Sass P. Cell Division Protein FtsZ: From Structure and Mechanism to Antibiotic Target. *Fut Microb.* 2020;15:801–31. <https://doi.org/10.2217/fmb-2019-0348>.
- [12] Ruswanto R, Nofianti T, Mardianingrum R, Lestari T. Desain dan Studi In Silico Senyawa Turunan Kuwanon-H sebagai Kandidat Obat Anti-HIV. *J Kim Valen.* 2018;4(1):57–66. <http://dx.doi.org/10.15408/jkv.v4i1.6867>.
- [13] Mardianingrum R, Endah SRN, Suhardiana E, Ruswanto R, Siswandono S. Docking and molecular dynamic study of isoniazid derivatives as antituberculosis drug candidate. *J Chem Data Coll.* 2021;32:10067. <https://doi.org/10.1016/j.cdc.2021.100647>.
- [14] Suherlan S, Rohayah, Fakhri TM. Uji Aktivitas Antikanker Payudara Senyawa Andrografolida Dari Tumbuhan Sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm F) Ness) Terhadap Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (Her-2) secara In Silico. *J Ilm Farm.* 2021;4(2):39-50. <http://dx.doi.org/10.29313/jiff.v4i2.7784>.
- [15] Ruswanto R, Khasanah NUG, Wardani AG, Mardianingrum R. Synthesis and Computational Study of Bis-(1-(3-Chlorobenzoyl)-3-Phenylthiourea) Cobalt (III) as Anticancer Candidate. *J Kim Sains dan Apl.* 2023;26(7):238-48. <https://doi.org/10.14710/jksa.26.7.238-248>.
- [16] Ruswanto R, Mardianingrum R, Yanuar A. Computational Studies of Thiourea Derivatives as Anticancer Candidates through Inhibition of Sirtuin-1 (SIRT1). *J Kim Sains dan Apl.* 2022;25(3):87-96. <https://doi.org/10.14710/jksa.25.3.87-96>.
- [17] Gatne MM, Chaudhary A, Ravikanth K. Acute oral toxicity study of polyherbal formulation AV/KPC/10. *Inter J of Biomed and Adv Res.* 2015;6(3):281-3. <http://dx.doi.org/10.7439/ijbar.v6i3.1619>.
- [18] Syahputra G, Ambarsari L, Sudadi. Simulasi Docking Kurkumin Enol, Bisdemetoksikurkumin dan Analognya sebagai Inhibitor Enzim 12-Lipoksigenase. *J Biofis.* 2014;10(1):55-67.
- [19] Kilo AL, Aman LO, Sabihi I, Kilo JL. Study of Potential of 1-N-Substituted Pyrazoline Analogues of Thiosemicarbazones as Antiamoebic Agent using In Silico Screening. *J Chem Res.* 2019;7(1):9-24. <http://dx.doi.org/10.30598/ijcr.2019.7-akr>.
- [20] Maya M, Ruswanto. Simulasi Dinamika Molekular Senyawa Pyridin pada Protein 2Xnb sebagai Antikanker Menggunakan Aplikasi Gromacs. *Prosiding Seminar Nasional dan Penelitian Kesehatan;2019.*
- [21] Daslina, Derwin E, Djamal A. Pengaruh Pemberian Glutamin Pada Kemampuan Fagositosis Makrofag Terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. *J Kes Andalas.* 2015;4(3):659-95.
- [22] Wahyudiati D. Biokimia. Mataram:LEPPIM MATARAM; 2017.
- [23] Kamble C, Chavan R, Kamble V. A Review on Amino Acids. *Research & Reviews. A Journ of Drug Des & Discov.* 2021;8(3):19-27. <https://doi.org/10.37591/RRJoDDD>.