

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)**

##### **1. MRSA (Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*)**

*Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* atau MRSA adalah jenis *S. aureus* yang resisten terhadap antibiotik metisilin. Sedangkan bakteri yang masih sensitif terhadap metislin disebut *Methicillin Sensitive Staphylococcus aureus* (MSSA). MRSA juga resisten terhadap antibiotik betalaktam, makrolida, tetrasiklin, kloramfenikol, dan kuinolon. Infeksi MRSA merupakan infeksi oportunistik, sama halnya dengan infeksi *S. aureus*. Bakteri tersebut adalah kuman gram positif berbentuk bulat dan tersusun bergerombol seperti anggur. Bakteri tersebut tidak memiliki spora dan tidak motil. *S. aureus* merupakan jenis kuman *Staphylococcus* yang menghasilkan katalase dan memberikan hasil positif bila dilakukan tes koagulase (Nandhini *et al.*, 2022).

Struktur bakteri terdiri atas komponen esensial dan komponen non esensial. Komponen esensial bakteri *S. aureus* di antaranya yang pertama adalah dinding yang merupakan tempat bekerjanya antibiotik seperti penisilin dan sefalosporin. Dinding sel tersusun oleh peptidoglikan yang berperan sebagai pembentuk kerangka bakteri dan asam teikoat yang berperan sebagai antigen permukaan. Peptidoglikan juga mempunyai fungsi dalam stimulasi pengeluaran sitokin oleh makrofag, aktivasi komplemen dan agregasi trombosit. Lisozim dapat mendegradasi peptidoglikan, yang kedua adalah membran sitoplasma (lipoprotein berlapis ganda yang berperan pada transport enzim), yang kedua adalah plasmid yang mengandung berbagai macam gen yang mengkode toksin dan resistensi terhadap antibiotik yang ketiga adalah granula terdiri atas glikogen, lipid dan polifosfat. Granula adalah tempat penyimpanan nutrisi yang berada di sitoplasma dan yang terakhir adalah glikokaliks juga tersusun oleh polisakarida dan membantu penempelan bakteri ke permukaan sel (Mlynarczyk-Bonikowska *et al.*, 2022).

##### **2. Patogenesis MRSA**

*S. aureus* merupakan flora normal di tubuh manusia, sekitar 30% – 50% orang dewasa terkolonisasi bakteri ini. Nares anterior, aksila dan saluran pencernaan adalah bagian tubuh yang sering menjadi tempat kolonisasi kuman *S. aureus*. Infeksi dapat terjadi apabila terjadi intervensi dan mengganggu pertahanan tubuh, misalnya mencukur,

pemasangan kateter, aspirasi dan pembedahan (Jensen *et al.*, 2019). Infeksi lokal *S. aureus* tampak sebagai furunkel atau abses, disertai radang yang terlokalisasi dan nyeri. Infeksi *S. aureus* dapat terjadi akibat kontaminasi langsung pada luka, misalnya infeksi stafilocokus pasca operasi atau pasca trauma. *S. aureus* dapat menyebabkan bakterimia dan menyebar ke berbagai organ, sehingga menimbulkan endokarditis, osteomielitis hematogen akut, meningitis, atau infeksi paru. Keracunan makanan akibat enterotoksin stafilocokus ditandai dengan waktu inkubasi yang pendek, disertai dengan mual hebat, muntah, diare, dan tidak ada demam (Liu *et al.*, 2016).

*S. aureus* memiliki banyak faktor virulensi yang potensial. Faktor – faktor tersebut dapat memiliki banyak fungsi dalam patogenesis dan beberapa faktor juga dapat memiliki fungsi yang sama. *S. aureus* mempunyai banyak protein permukaan yang disebut dengan *Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules* (MSCRAMM). MSCRAMM memulai infeksi dengan menempel pada jaringan. MSCRAMM mengikat beberapa molekul seperti kolagen, fibronektin dan fibrinogen. Beberapa penelitian membuktikan bahwa MSCRAMM memegang peranan penting dalam pertumbuhan koloni di jaringan sehingga dapat menimbulkan infeksi endovaskular, tulang, sendi dan alat prostetik (Liu *et al.*, 2016).

*S. aureus* memiliki banyak komponen yang membantu bakteri tersebut menghindari dari sistem imun saat infeksi. Pertahanan utamanya adalah produksi mikrokapsul antifagosit yang tersusun atas polisakarida. Protein A berikatan dengan reseptor *Fragmen Crystallizable* (Fc) pada imunoglobulin yang menghambat proses opsonisasi. *S. aureus* juga memicu sekresi protein yang menghambat penarikan neutrofil dan faktor kemotaktik ke tempat infeksi (Liu *et al.*, 2016). Karotenoid dan katalase dapat membuat bakteri bertahan pada proses fagositosis. Aktivitas koagulasi menghasilkan penggumpalan yang menghambat akses neutrofil polimorfonuklear (PMN) dan komponen imun lain. Leukosidin juga dihasilkan oleh *S. aureus* untuk menghancurkan leukosit dan membentuk lubang di membran sel. *S. aureus* menghasilkan berbagai macam enzim, seperti protease, lipase, dan hyaluronidase yang memudahkan bakteri tersebut untuk masuk dan menghancurkan jaringan serta menyebar ke jaringan sekitarnya selama proses infeksi (Jensen *et al.*, 2019).

Enzim betalaktamase adalah enzim yang menginaktivasi penisilin sedangkan Penicillin Binding Protein (PBP) adalah enzim yang berada di membran sitoplasma dan ikut berperan dalam pembentukan dinding sel. PBP inilah yang menjadi salah satu faktor utama terjadinya resistensi. *S. aureus* memproduksi berbagai macam toksin yang dikelompokkan sesuai dengan mekanisme kerjanya. Sitotoksin seperti toksin  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  dan  $\delta$  menyerang membran sel mamalia termasuk salah satunya adalah sel darah merah sehingga sering disebut juga dengan hemolisin. Toksin tersebut dapat merusak membran kemudian menyebabkan hilangnya komponen – komponen sel hingga terjadi lisis. *Panton Valentine Leukocidin* (PVL) adalah toksin yang dapat melisis PMN. Toksin ini banyak diproduksi oleh kuman MRSA khususnya CA – MRSA. Produksi toksin PVL dapat menyebabkan kuman menjadi lebih resisten (Lade & Kim, 2021).

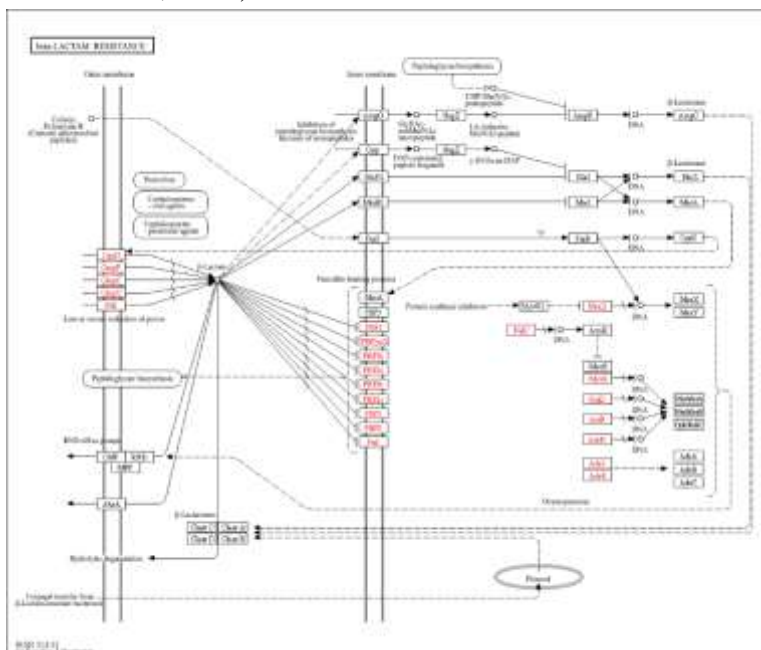
Eksotoksin superantigen adalah toksin yang memiliki afinitas terhadap kompleks reseptor sel T dengan MHC kelas II. Kompleks tersebut memacu proliferasi sel T dan pelepasan sitokin. Eksotoksin superantigen dapat dibedakan menjadi enterotoksin, toksin eksfoliatif, dan *Toxic Shock Syndrome Toxin* (TSST-1). Enterotoksin diproduksi oleh 65% bakteri *S. aureus*. Bakteri tersebut memicu sekresi enterotoksin saat bakteri mengkontaminasi dan tumbuh di makanan. Proses ini yang menyebabkan terjadinya keracunan makanan. Toksin eksfoliatif, termasuk toksin epidermolitik A dan B menyebabkan *Staphylococcal Scalded Skin Syndrome* (SSSS) dengan gejala yaitu eritema dan pengelupasan kulit. TSST-1 adalah penyebab *Toxic Shock Syndrome* (TSS). Toksin tersebut memiliki kemiripan struktur molekuler dengan enterotoksin (Lakhundi & Zhang, 2018).

### **3. Mekanisme Resistensi MRSA**

*S. aureus* berubah menjadi resisten terhadap metisilin karena mendapat sisipan suatu elemen DNA berukuran besar antara 20-100 kb yang disebut SCCmec. SCCmec selalu mengandung *mecA* yaitu gen yang menyandi PBP2a yang mendasari terjadinya resistensi MRSA. Resistensi MRSA terhadap metisilin dan terhadap semua antimikroba golongan betalaktam disebabkan perubahan pada PBP yang normal yaitu PBP2 menjadi PBP2a. PBP2a memiliki afinitas yang sangat rendah terhadap betalaktam sehingga sekalipun bakteri ini dibiakkan pada media mengandung konsentrasi tinggi betalaktam, MRSA tetap dapat hidup dan mensintesa dinding sel (Hartman & Tomasz, 1984).

Pengamatan pada struktur PBP2a menunjukkan adanya perubahan pada tempat pengikatan yang mengakibatkan rendahnya afinitas. Faktor genetik lain seperti gen betalaktamase dan faktor eksternal seperti temperatur, tekanan oksigen, kandungan ion, osmolaritas dan cahaya juga mempengaruhi ekspresi resistensi (García-Álvarez *et al.*, 2011).

Protein binding penicillin ikut berperan dalam biosintesa peptidoglikan yaitu mengkatalisa reaksi transpeptidasi. Peptidoglikan tersebut merupakan tempat di mana antibiotik betalaktam bekerja. PBP 1, 2 dan 3 memiliki aktivitas transpeptidase primer sedangkan PBP4 memiliki aktivitas transpeptidase sekunder (Pereira *et al.*, 2010) (Tomasz, 2000). Resistensi terhadap antibiotik dapat terjadi karena diproduksi enzim betalaktamase seperti pada galur *S. aureus* penghasil betalaktamase dan perubahan struktur PBP seperti yang terjadi pada MRSA. Selain berperan dalam reaksi transpeptidasi, PBP2 juga memiliki aktivitas transglikolasi. Reaksi transglikolasi tersebut tidak berhubungan dengan aktivitas reseptor penisilin. Afinitas PBP2a yang rendah terhadap betalaktam menyebabkan antibiotik betalaktam tidak dapat mempengaruhi reaksi transpeptidasi sehingga sintesis dinding sel tidak terganggu. Reaksi transglikolasi tidak terpengaruh oleh aktivitas betalaktam sehingga reaksi transglikolasi dari PBP2a ini tetap utuh, hal tersebut juga menentukan adanya resistensi MRSA (Mlynarczyk-Bonikowska *et al.*, 2022).



Gambar 1. Beta Lactams Resistance (<https://www.kegg.jp/pathway/map01501>)

Berdasarkan gambar 1. gen *mecA* memiliki struktur dan mekanisme yang serupa dengan gen *blaZ* pada plasmid *S. aureus* penghasil betalaktamase. Regulator pada gen *blaZ* adalah *blaI* dan *blaR1*. Gen regulator *blaI* menyandi DNA binding protein yang berfungsi menekan transkripsi gen betalaktamase sedangkan *blaR1* merupakan PBP yang akan menginduksi transkripsi jika ada betalaktam. Mekanisme ini analog dengan yang terjadi pada gen *mecA* yang dikendalikan oleh *mecI* dan *mecR1*. Gen *mecI* akan menekan transkripsi *mecA* dan *mec* complex (kompleks *mecR1* – *mecI*) pada keadaan tidak terinduksi, sedangkan pada saat terinduksi akan terjadi transkripsi *mecA* dan *mec* kompleks (Hao *et al.*, 2012). Antibiotik yang dapat menginduksi transkripsi tersebut di antaranya adalah metisilin dan antibiotik betalaktam lainnya. Induksi *mecI* juga dapat terjadi karena proses autolitik yang disebabkan oleh enzim protease pada membran sel. Enzim tersebut juga mengkatalisis pembentukan septum yang diperlukan untuk pertumbuhan dan pembelahan *S. aureus*. Antibiotik betalaktam bekerja dengan menghambat enzim plantslitik tersebut. MRSA dengan derajat resistensi tinggi mengalami aktivasi gen *lytH* yang mengkode enzim autolitik, oleh karena itu derajat resistensi dapat meningkat apabila aktivitas autolitik meningkat (Mlynarczyk-Bonikowska *et al.*, 2022).

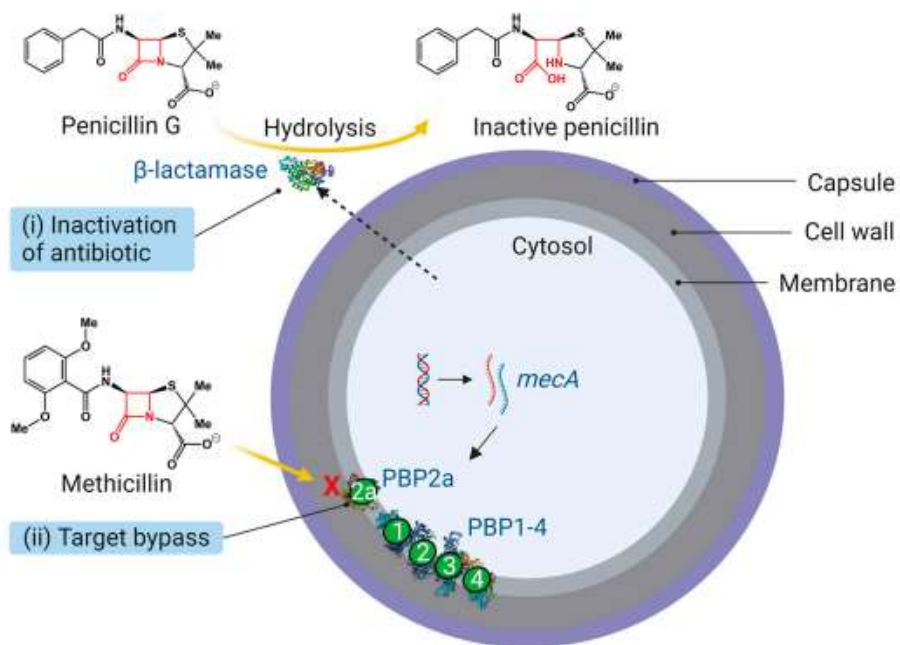
## B. Target Molekuler

### 1. PBP2a

*Penicillin-binding protein 2a* (PBP2a) merupakan enzim yang berperan pada resistensi terhadap antibiotik  $\beta$ -laktam termasuk methicillin strain MRSA pada bakteri *S. aureus*. PBP2a bertanggung jawab dalam katalisis produksi peptidoglikan di dalam dinding sel bakteri. Karena PBP2a mempunyai afinitas pengikatan lebih rendah terhadap antibiotik yang mengandung  $\beta$ -laktam dibandingkan dengan PBP lainnya. MRSA secara kontinu dalam mengkatalisis sintesis dinding sel bakteri dengan adanya antibiotik yang diturunkan dari penisilin seperti methicillin, oxacillin, nafcillin, dan cephalosporin. PBP2a secara alami berperan dalam sintesis peptidoglikan dengan mengkatalisis pembentukan ikatan silang antara rantai peptida, yang menyumbang energi struktural dan stabilitas pada dinding sel bakteri.

Terdapat sifat unik pada PBP2a yang dapat memodifikasi dirinya sendiri sehingga memungkinkan tidak dapat terikat oleh antibiotik  $\beta$ -laktam. Mekanisme kerja seperti mengalihkan substrat dari PBPs yang

sensitive terhadap antibiotik menjadikan ciri unik yang dipertimbangkan, karena ketika antibiotik  $\beta$ -laktam diperkenalkan dalam lingkungan bakteri, PBP2a akan lebih dominan berinteraksi dengan antibiotik dan PBPs sensitif terbatas dalam berinteraksi dengan antibiotik tersebut. Gambar 2 menerangkan rangkaian cara kerja tersebut berpengaruh pada kegagalan antibiotik dalam menghambat sintesis peptidoglikan dan mendukung pada pertumbuhan dan keberlangsungan hidup MRSA (H. L. and J.-S. Kim, 2023) (Masumi *et al.*, 2022).



**Gambar 2. Mekanisme molecular resistensi  $\beta$ -laktam terhadap *S. aureus* (H. L. and J.-S. Kim, 2023)**

Berdasarkan gambar 2. produksi  $\beta$ -laktamase menunjukkan mekanisme resistensi pertama yang dijumpai pada *S. aureus* ke beta lactam. Enzim ekstraseluler dapat diinduksi dan dilepaskan sebagai respon hidrolisis cincin beta laktam dan menghasilkan turunan tidak aktif. PBP akan mengkatalisis polimerisasi rantai glikan dan menghubungkan silangnya mennadi hydrogel seperti jejaring melalui aktivitas transglukosilase (TGase) dan transpeptidase (Tpase) (Schneider & Sahl, 2010). Penisilin dan antibiotik  $\beta$ -laktam lainnya akan berikatan dengan PBP utamanya melalui domai Tpase dan mencegahnya menghubungkan silang rantai peptidoglikan yang menyebabkan dinding sel melemah kemudian terjadi lisis bakteri.

*S. aureus* biasanya memiliki empat PBP endogen, PBP1, PBP2, PBP3, dan PBP4 (Pereira *et al.*, 2010), dengan penambahan PBP2a yang diperoleh pada MRSA. Keempat endogen diketahui terlokalisasi di membrane sitoplasma, tempat sintesis peptidoglikan (Atilano *et al.*, 2010). Setiap PBP endogen mempunyai aktivitas TPase sedangkan PBP2 sendiri memiliki domain katalitik tambahan yang berbeda untuk aktivasi TGase (Burns *et al.*, 2020) (Ghuysen *et al.*, 2007). Aktivitas TGase PBP2a mempromosikan polimerisasi lipid II-Gly5 dan selanjutnya aktivitas TPase dan PBP menghubungkan silang untai glikan melalui peptide fleksibel. Glikosiltransferase monofungsional SgtA dan SgtB juga memiliki aktivitas TGase, namun hanya SgtB yang dapat mendukung pertumbuhan *S. aureus* tanpa adanya aktivitas TGase utamanya PBP2 (H. L. and J.-S. Kim, 2023).

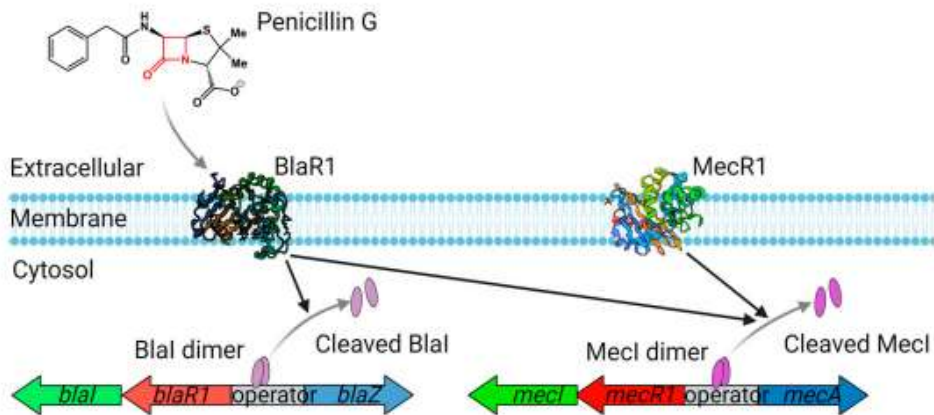
## 2. MecR1

PBP2a bertanggung jawab sebagai pengikat penisilin dalam resistensi methicillin pada MRSA. Afinitas pengikatan rendah untuk  $\beta$ -laktam berdampak pada penghambatan transpeptidase PBP2a sehingga mencegah asiliasi PBP2a. Kompleks gen *mecA* dan gen pengaturnya *mecR1*, mengkode protein transduser sinyal *mecR1* dan *mecI*, pengkodean protein reseptor *MecI*. *MecR1* dan *MecI* mengontrol ekspresi dari *mecA*. Pengaktifan protein tersebut tanpa adanya  $\beta$ -laktam, mempromosikan inaktivasi *MecR1* dari antibiotik  $\beta$ -laktam dan menginduksi ekspresi *mecA*.

Dua sistem dua komponen yang serupa secara fungsional, *BlaR1/BlaI* dan *MecR1/MecI*, mengontrol transkripsi *mecA* sebagai respons terhadap beta-laktam, dan karena mutasi genetik umum terjadi pada elemen pengatur yang mengontrol ekspresi *mecA*, tingkat PBP2a sangat bervariasi antara strain MRSA (lihat 48 untuk tinjauan terbaru tentang regulasi *mecA* (Peacock & Paterson, 2015). Reseptor *MecI* diaktifkan tanpa melibatkan  $\beta$ -laktam mempromosikan inaktivasi *MecR1* di hadapan antibiotik  $\beta$ -laktam dan menginduksi ekspresi *mecA*. Gambar 3 menjelaskan bagaimana regulasi sensor *MecR1* bekerja menginduksi pembelahan represor transkripsi sitoplasma *BlaI/MecI*. Ini menghasilkan ekspresi gen *blaZ* dan *mecA*, yang masing-masing mengkodekan *BlaZ* dan PBP2a (Alexander *et al.*, 2023).

Hao *et al.*, (2012) menemukan DNAzyme yang ditargetkan *mecR1* (phosphorothioate deoxyribozim, bernama PS-DRz147) dapat memblokir jalur sinyal sistem *mec* dan mengurangi resistensi beta-

laktam MRSA (Hou *et al.*, 2011). Empat tahun kemudian, mereka merancang deoksiribozim baru dan menemukan bahwa pemberian gabungan dua DNAzyme (PS-DRZ1366 dan PS-DRZ1694) dapat sepenuhnya mengembalikan sensitivitas MRSA dengan blokade jalur sinyal *mecA* (Petek *et al.*, 2010). Regulasi sensorik pada *BlaR1* dan *MecR1* pada membran menginduksi pengkodean *blaZ* dan *mecA* saat merasakan  $\beta$ -laktam dapat dilihat pada gambar 3.

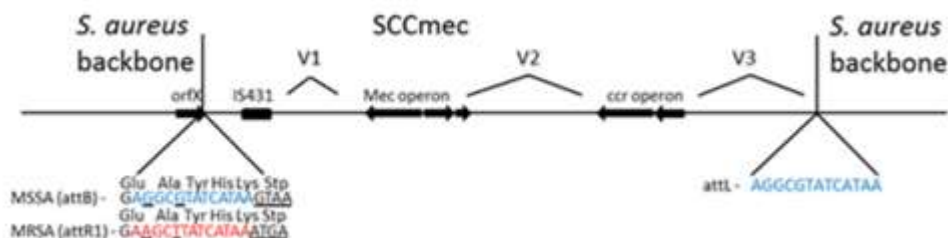


**Gambar 3. Regulasi sensorik pada *BlaR1* dan *MecR1* pada membran menginduksi pengkodean *blaZ* dan *mecA* saat merasakan  $\beta$ -laktam (H. L. and J.-S. Kim, 2023)**

### 3. SCCmec

SCCmec (*Staphylococcal Cassette Chromosome mec*) merupakan komponen genetic mobile yang terdapat pada MRSA. Protein ini merupakan salah satu faktor penting dalam resistensi MRSA. SCCmec terdiri dari *mecA* (pengkode PBP2a) dan gen pengaturnya *mecR1* (pengkodean protein transduser sinyal *MecR1*) dan *mecI* (pengkode protein reseptor *MecI*) (Itou *et al.*, 2000) (Hiramatsu *et al.*, 1992). Elemen SCCmec ditandai dengan adanya replikasi langsung yang mengandung urutan situs integrasi yang dikenali oleh rekombinasi kromosom. Ukuran elemen SCCmec berkisar antara 20-60 kb atau lebih, elemen-elemen ini diintegrasikan oleh rekombinasi kromosom di situs *attB* dan *orfX* yang dilokalisasi dekat dengan asal replikasi (Itou *et al.*, 2000) (Boundy *et al.*, 2013). Selain itu SCCmec memiliki struktur yang kompleks dan variasi dalam ukuran dan komposisi genetiknya, yang mempengaruhi tingkat resistensi dan profil epidemiologi MRSA (Hao *et al.*, 2012). Aktivasi protein SCC terhadap enzim beta-laktamase dapat dilihat pada gambar 4.





**Gambar 4. Aktivasi protein SCC terhadap enzim beta-laktamase**

Skema pengaturan umum SCCmec adalah pemasangan SCCmec ke terminal C dari *orfX* di situs lampiran *attB* mengubahnya menjadi *attR1*. Meskipun urutan DNA diubah, lima asam amino terminal dan kodon stop tidak berubah serta ditampilkan adalah wilayah yang menentukan SCCmec. Wilayah terdiri dari itu *mec* yang mengandung operon *mecA*, gen yang bertanggung jawab untuk resistensi lactam, rekombinase kromosom kaset (*ccr*) operon yang memfasilitasi penyisipan dan eksisi SCCmec dan tiga wilayah hipervariabel di antaranya. Urutan dari *mec* dan *ccr* operon mendefinisikan SCCmec (Boundy *et al.*, 2013). Mekanisme SCCmec pada MRSA dengan memproduksi PBP2a yang akan mensintesis peptidoglikan dinding sel sebagai resistensi antibiotik khususnya kelas beta-laktam. Selain itu dapat berperan sebagai regulasi ekspresi gen *mecA* yang dalam kondisi normal, *mecI* berfungsi sebagai reseptor penekan ekspresi *mecA*. Jika dalam kondisi antibiotik beta-laktam menghambat *mecR1* dan menginaktivasi *mecI*, maka *mecA* dapat diekspresikan dan menghasilkan PBP2a (Lakhundi & Zhang, 2018).

Berdasarkan kelas kompleks *mec* terdiri dari tipe kompleks *ccr* (*ccrA*, *ccrB*, *ccrC*) dan ada atau tidaknya gen pengatur urutan penyisipan (*IS*), empat belas varian struktural tipe SCCmec (I-XIV) telah dilaporkan pada *S. aureus* hingga saat ini [43]. SCCmec tipe II dan III adalah unsur terbesar dan menyimpan gen dalam memberikan resistensi terhadap kelas-kelas antibiotik lain dan paling sering ditemui pada kasus MRSA (Lakhundi & Zhang, 2018) (Ito *et al.*, 2009). Umumnya kaset SCCmec tipe IV dan V terdeteksi pada strain MRSA komunitas namun juga ada di antara beberapa klon MRSA yang tersebar luas tipe urutannya. Transposon Tn554 yang membawa gen pemberi resistensi terhadap makrolida, lincosamide, streptogramin B, dan spectinomycin, hadir pada SCCmec tipe II namun tidak pada tipe IV. Demikian strain SCCmec tipe II resisten terhadap beberapa antibiotik, sedangkan strain tipe IV resisten

terhadap beta laktam namun rentan terhadap kelas antibiotik lainnya (Uehara, 2022).

#### 4. FtsZ

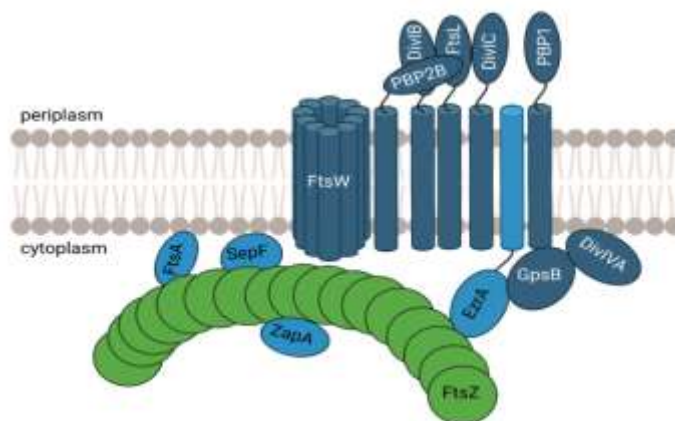
*Filamenting temperature-sensitive protein Z* (FtsZ) merupakan protein yang memainkan peran penting pada pembelahan sel dengan bertindak sebagai perancah untuk perekrutan komponen lain untuk membelah sel (Goehring & Beckwith, 2005) (den Blaauwen *et al.*, 2017). Protein yang berbentuk filamen ini sering dijumpai pada bakteri dan merupakan homolog dari tubulin yang berperan pada pembentukan mikrotubulus. FtsZ salah satu komponen utama dari fts (*filamentous temperature-sensitive*) yang dibutuhkan pada pembelahan sel bakteri, seringkali FtsZ disebut menjadi titik awal dalam pembentukan divisome, yaitu kompleks protein yang mengontrol pembelahan sel. FtsZ membentuk perancah dengan mempolimerisasi di sel tengah dan mengadopsi struktur cincin dinamis yang disebut cincin-Z (Carla & Xiao, 2017) (McQuillen & Xiao, 2020). Setelah pembentukan cincin-Z, pergerakan masif dari divisome berkumpul dengan protein pengikat penisilin (PBP) menjadi salah satu protein utama yang digabung dan terlibat dalam sintesis dinding sel baru di septum (McQuillen & Xiao, 2020).

Mekanisme yang mendasari potensiasi aktivitas beta laktam terhadap MRSA oleh inhibitor FtsZ belum jelas, namun peran tersebut masih berasosiasi langsung dengan kelima PBP dalam MRSA. Setelah replikasi yang berhasil dalam inang, setelah replikasi dan pemisahan kromosom, langkah pertama pembelahan sel (septasi) adalah polimerisasi FtsZ untuk membentuk cincin-Z di sel tengah. Peran setiap protein pembelahan sel termasuk FtsZ. FtsZ ini juga protein sel yang paling dicirikan dengan baik dengan struktur kristal pertama kali dipecahkan dan diidentifikasi sebagai homolog struktural tubulin sitoskeletal eukariotik (Kusuma *et al.*, 2019). FtsZ mengandung celah antardomain di sepanjang heliks inti H7 yang memisahkan domain terminal N dan C di tubulin dan bergantung pada GTP (Adams & Errington, 2009). Cincin-Z memiliki peran perancah dalam perekrutan protein lain yang penting dalam pembelahan sel termasuk PBP.

Setelah bakteri siap untuk membelah diri, FtsZ monomer terlibat dengan membran sel dan berpolimerasi membentuk struktur berbentuk cincin Z-ring yang berada di tengah sel. Proses ini ditimbulkan oleh peningkatan GTP (guanosine triphosphate) pada FtsZ. Ketika GTP

terhidrolisis menjadi GDP (guanosine diphosphate), FtsZ akan terpolimerisasi dan terbentuk filamen di lokasi pembelahan. Bentuk struktur statis dan dinamis yang memungkinkan pergerakan reorganisasi untuk menyiapkan proses pembelahan sel. Struktur Z-ring akan membantu memfokuskan protein lain yang terlibat termasuk FtsA, FtsI, dan lainnya. Z-ring juga berfungsi sebagai acuan atau pusat bagi protein lain untuk sintesis kompleks pembelahan. Proses ini memungkinkan pemisahan membran sel dan pembentukan dinding sel baru yang memisahkan kedua sel anak setelah pembelahan (Silber *et al.*, 2020).

FtsZ bekerja dengan berbagai protein lain dalam proses divisome, misalnya FtsA yang membantu menghubungkan Z-ring dengan membran sel sedangkan FtsI berperan dalam sintesis peptidoglikan yang akan membentuk dinding sel. FtsZ dan tubulin melibatkan tujuh segmen untuk pengikatan nukleotida, sedangkan hanya lima segmen yang terlibat dalam GTPase klasik. Meskipun topologi domain pengikat GTP FtsZ dan tubulin analog dengan yang ditemukan pada GTPase klasik, data struktural menunjukkan bahwa mekanisme pengikatan nukleotida berbeda (Eva *et al.*, 1998). Dalam tubulin dan FtsZ, pengikatan fosfat ditopang oleh loop T1–T4, di mana loop T4 membawa motif tanda tangan tubulin kaya glisin yang sangat terpelihara dengan pola urutan GGGTG(S/T)G, sedangkan loop T5 terlibat dalam pengikatan ribosa dan loop T6 serta heliks H7 bersentuhan dengan basa guanin. Faktanya, pengikatan nukleotida oleh FtsZ dan tubulin lebih mirip dengan protein GAPDH, meskipun GAPDH nukleotida yang berbeda, yaitu NAD<sup>+</sup>.



**Gambar 5.** Representasi skematik komponen inti divisome termasuk protein pembelahan sel yang diinisiasi oleh FtsZ dengan mempolimerisasi menjadi struktur seperti cincin yang menandai bidang pembelahan masa depan dan berfungsi sebagai perancah untuk diikuti oleh p (Gamba *et al.*, 2009).

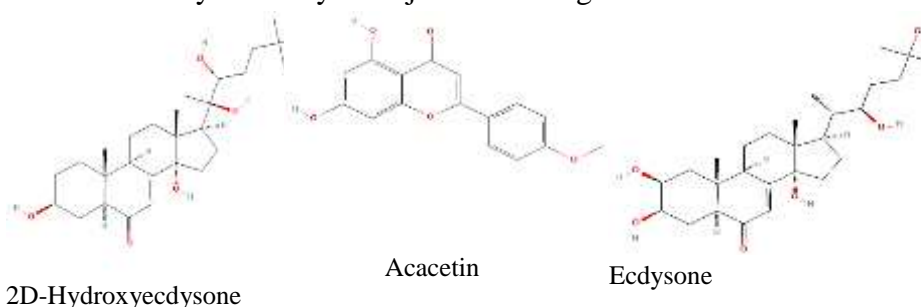
Pada prinsipnya, FtsZ dapat dibagi lagi menjadi lima wilayah fungsional yang berbeda seperti peptida N-terminal (NTP) yang tidak terpelihara dengan baik, wilayah inti globular yang sangat terpelihara termasuk bagian utama domain terminal N dan C serta kantong pengikat GTP. Konsentrasi protein FtsZ memainkan peran penting selama perakitan protofilamen dan cincin-Z. Secara *in vitro*, polimerisasi FtsZ yang bergantung pada nukleotida hanya terjadi di atas konsentrasi kritis (1–2  $\mu\text{M}$  tergantung pada kondisi buffer) yang menghasilkan berbagai jenis struktur protofilament serta penambahan GTP mengarah pada protofilamen lurus beruntai tunggal (Huecas *et al.*, 2008).

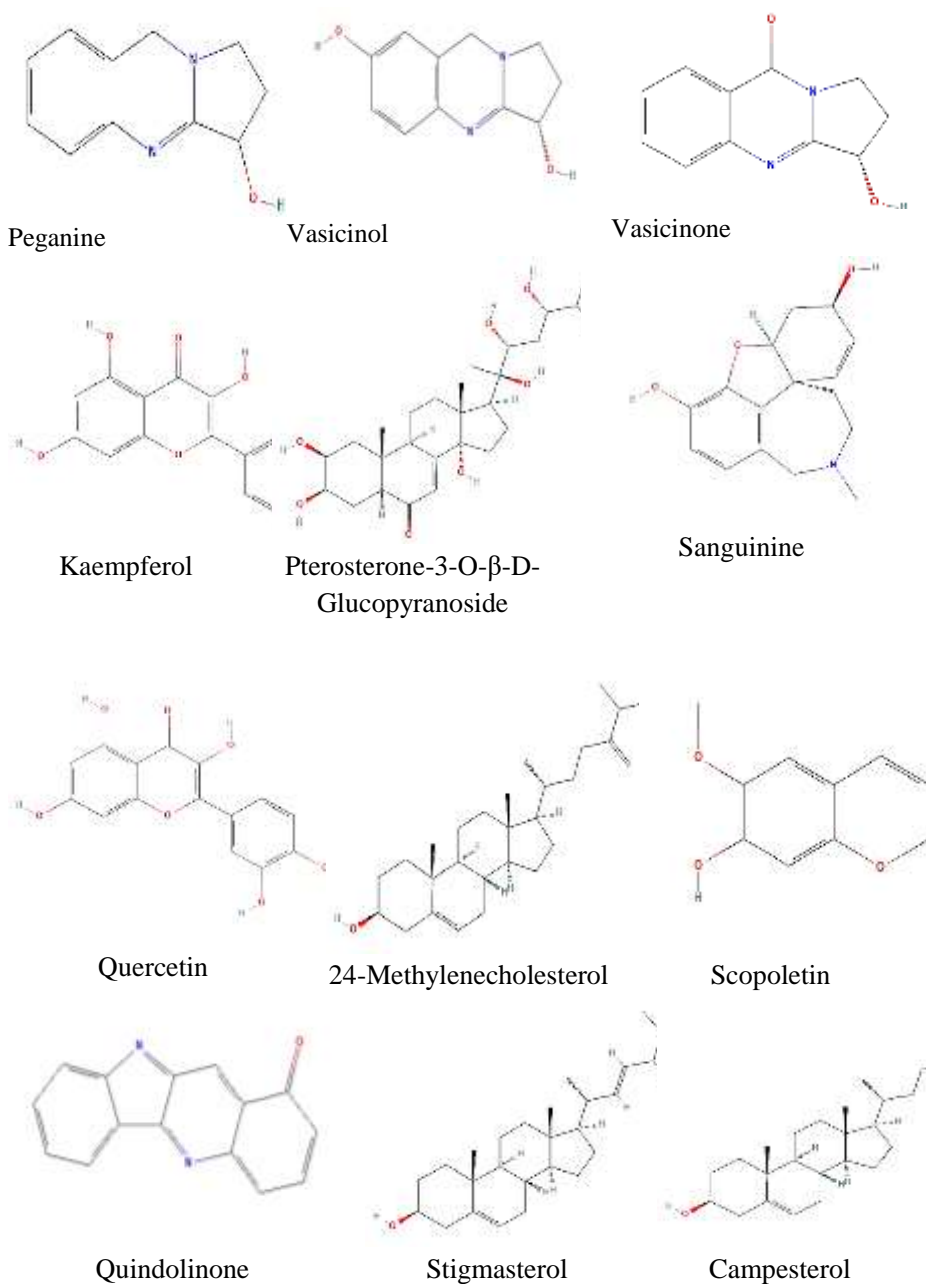
Penelitian pernah dilakukan yang berfokus pada penghambat divisi sel mengikat ke wilayah inti dari FtsZ dengan *blue copy* aktivitas GTPase, yang sangat penting untuk perakitan dan penyempitan cincin-Z. Misalnya, analisis *in silico* pesaing potensial GTP pada penemuan galat dan turunannya sebanyak 28 senyawa dengan aktivitas antimikroba terhadap *S. aureus* (MRSA) yang resisten terhadap methicillin dan *Listeria monocytogenes* dalam kisaran  $\mu\text{M}$  rendah. Untuk melakukannya, senyawa mengikat FtsZ dengan konstanta disosiasi ( $K_d$ ) 0,5 $\mu\text{M}$  tanpa tubulin eukariotik penargetan silang ( $K_d > 100 \mu\text{M}$ ). Akibatnya, galat menginduksi filamen sel *B. subtilis*, yang ditandai dengan gangguan dinamika cincin-Z (Artola *et al.*, 2014). Demikian pula, alkil galat menghambat pembelahan sel melalui penargetan langsung FtsZ dan juga meresap membran bakteri, sehingga menunjukkan mode kerja ganda yang menjanjikan terhadap MRSA (Król *et al.*, 2015).

### C. Senyawa Tanaman Sidaguri

#### 1. Sidaguri

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Viridiplantae
Superdivisi	: Embryophyta
Divisi	: Tracheophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Dilleniidae
Ordo	: Malvales
Famili	: Malvaceae
Genus	: Sida
Spesies	: <i>Sida rhombifolia</i>





**Gambar 6.** Senyawa uji dalam Sidaguri

#### **D. Computer Aided Drug Design (CADD)**

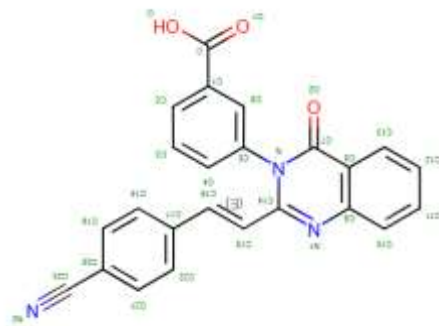
Penambatan molekuler merupakan salah satu metode berbasis *Computer Aided Drug Design* (CADD) yang telah dimanfaatkan dalam dunia penelitian sebagai alternatif dalam penemuan kandidat obat menjanjikan dalam waktu relatif lebih singkat. CADD mampu

memberikan gambaran interaksi molekul senyawa dengan protein target mendekati nyata dengan memprediksi konformasi dan ikatan energi bebasnya. Pengembangan ini mampu memberikan sumbangsih terobosan di mana bagi perancang obat dapat memprediksi apakah suatu molekul yang dirancang berpotensi terhadap terapi yang diinginkan atau tidak bahkan sampai ke eksitasi elektron dengan *molecular dynamic* (Joy *et al.*, 2015).

### 1. Protein Data Bank (PDB)

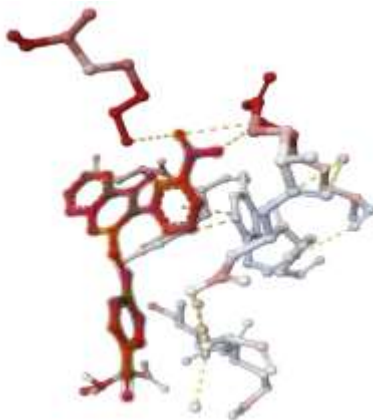
Protein Data Bank (PDB) merupakan repositori global tunggal dari struktur 3D yang ditentukan secara eksperimental dari makromolekul biologis dan kompleksnya. PDB didirikan pada tahun 1971 dengan kurang dari 10 struktur kristalografi sinar-X dari protein, menjadi sumber daya digital akses terbuka pertama dalam ilmu biologi. PDB dikelola oleh organisasi Worldwide Protein Data Bank (wwPDB; <https://www.wwpdb.org/>), yang meliputi RCSB Protein Data Bank (RCSB PDB; <https://www.rcsb.org/>), Bank Data Protein Jepang (PDBj; <https://pdbj.org/>), Bank Data Protein di Eropa (PDBe; <https://www.ebi.ac.uk/pdbe/>), dan Biological Magnetic Resonance Data Bank (BMRB; <https://bmr.io/>). Keempat mitra wwPDB mengoperasikan sistem perangkat lunak global terpadu yang menegakkan standar data yang disepakati komunitas dan mendukung Penyimpanan data, Biokurasi, dan Validasi sekitar 11.000 entri PDB baru setiap tahun (<https://deposit-2.wwpdb.org/>). RCSB PDB saat ini bertindak sebagai penjaga arsip, memastikan pemulihan data PDB dari kerusakan dan mengoordinasikan pembaruan mingguan (Burley *et al.*, 2021).

Kode PDB ID makromolekul protein PBP2a yang digunakan adalah yaitu 4CJN yang terkompleks dengan (E)-3-(2-(4-cyanostyryl)-4-oxoquinazolin-3(4H)-yl) benzoic acid C24 H15 N3 O3 (Lade & Kim, 2021). Genetik ini membawa gen *mecA* yang mengkode protein pengikat penisilin pengganti (PBP2a) serta pengaturan *mecR1* dan *mecI*. Paparan  $\beta$ -laktam antibiotik mengakibatkan *MecR1* memotong *MecI* sehingga mengakibatkan terganggunya pengikatannya terhadap *mecA* promotor dan menstimulus produksi PBP2a.



**Gambar 7. (E)-3-(2-(4-cyanostyryl)-4-oxoquinazolin-3(4H)-yl) benzoic acid**

PDB ID 4CJN memiliki struktur 3D dari hasil X-ray kristalografi resolusi (1.95 Å). Pola interaksi 4CJN dan (E)-3-(2-(4-cyanostyryl)-4-oxoquinazolin-3(4H)-yl) benzoic acid disajikan pada gambar 4 yang mengungkapkan dinamika tiga loop mengelilingi kantong situs aktif, loop  $\alpha$ 9- $\beta$ 3,  $\beta$ 3- $\beta$ 4, dan  $\beta$ 5- $\alpha$ 10, dan perubahan dalam posisi spasial residu tertentu di dalam situs aktif kompleks Interaksi utama antibiotik di situs alosterik.



**Gambar 8. Model interaksi 4CJN dan natif ligan**

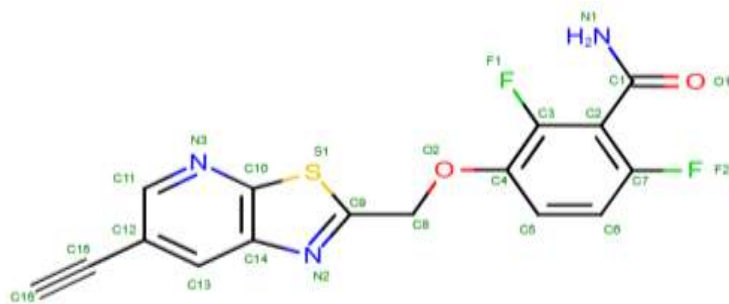
Kode PDB ID makromolekul protein MecR1 pada penelitian ini adalah 6O9S yang terkompleks dengan senyawa avibactam  $C_7H_{13}N_3O_6S$ . struktur tiga dimensi diperoleh dari X-ray kristalografi dengan ciri klasifikasi signaling protein dan resolusi 1.59 Å. Model interaksi antara 6O9S dan avibactam ditampilkan pada gambar 6 pada situs pusat aktif MecR1-PDB merupakan residu. Kostruktur kristalografi sinar-X avibactam MecR1SD diselesaikan dengan resolusi 1,6 Å, dengan statistik yang sangat baik dan tidak ada outlier Ramachandran pengumpulan data lengkap dan statistik penyempurnaan. Kristal



MecR1SD terbentuk dalam amonium sulfat pada pH 7,5. Avibactam dimodelkan dengan total hunian 1 di kedua struktur dengan kerapatan elektron yang jelas mendukung posisi pemodelan. Dalam kedua struktur, avibactam terikat secara kovalen pada serin katalitik BlaR1 (Ser-389) atau MecR1 (Ser-391) motif SXXK dengan gugus karbonil C7 yang terkoordinasi dalam lubang oksianion oleh atom nitrogen tulang punggung Ser-389 dan Thr-529 di BlaR1 (Ser-391 dan Thr-531 di MecR1) (Chatterjee & Strynadka, 2020).

Thr-529 membentuk ikatan hidrogen dengan kedua konformasi tetapi pada ujung yang berlawanan dari avibactam, berinteraksi dengan sulfat konformasi A dan C2 karboksamida konformasi B. Avibactam sulfat dalam konformasi A, sesuai dengan karboksilat elektronegatif dari substrat b-laktam yang khas, memproyeksikan ke arah kantong elektropositif yang dibentuk oleh Lys-526 dan Thr-527 dari motif KTG serta Thr-529. Sulfat dalam konformasi B di sisi lain, dikoordinasikan oleh ikatan hidrogen ke dn Asn-388, nitrogen tulang punggung Ile-531, dan melalui air yang dikoordinasikan oleh karbonil tulang punggung Ile-531 (Gbr. 5, B–C). Avibactam terikat pada MecR1 dalam orientasi yang sama dengan konformasi A dalam struktur dengan residu terpelihara analog Ser-439, Thr-529, Thr-531, dan Lys-528 membentuk ikatan hidrogen dengan bagian sulfat avibactam, sedangkan C2 karboksamida pada ikatan hidrogen termini yang berlawanan dengan air, Asn-441, Asn-478, dan Thr-531.

Kode PDB ID makromolekul FtsZ yang digunakan adalah 8HTB yang terkompleks dengan senyawa *guanosine-5'-diphosphate* (C<sub>10</sub> H<sub>15</sub> N<sub>5</sub> O<sub>11</sub> P<sub>2</sub>) dan 3-[(6-ethynyl-[1,3]thiazolo[5,4-b]pyridin-2-yl)methoxy]-2,6-bis(fluoranyl)-benzamide (C<sub>16</sub> H<sub>9</sub> F<sub>2</sub> N<sub>3</sub> O<sub>2</sub> S) yang memiliki resolusi 1.3 Å. Agen berbasis benzamida adalah kelas inhibitor yang sangat menjanjikan yang menargetkan celah antardomain tertentu pada FtsZ *S. aureus*. (Bryan *et al.*, 2024) telah mengidentifikasi benzamide generasi kedua yang mengandung gugus 6-setilena yang menargetkan FtsZ (TXH9179).



**Gambar 9.** 3-[(6-ethynyl-[1,3]thiazolo[5,4-b]pyridin-2-yl)methoxy]-2,6-bis(fluoranyl)-benzamide

Dalam penelitian asli 8HTB telah menunjukkan bahwa TXH9179 dikaitkan dengan potensi bakterisida yang unggul dibandingkan dengan TXA707 terhadap berbagai isolat klinis *S. aureus* (MSSA) dan MRSA yang sensitif terhadap methicillin, termasuk isolat yang resisten terhadap vancomycin dan linezolid. TXH9179 berinteraksi dengan residu di sekitarnya Gln192, Gly196, Leu200, Val203, Met226, Gly227, Val297, Thr309, dan Ile311 melalui interaksi hidrofobik. Gugus asetilena pada bagian thiazolopyridine membentuk kontak dengan Gln192, Met226, dan Gly227. Bagian benzamida TXH9179 membentuk dua ikatan hidrogen dengan rantai utama Leu209 dan rantai samping Asn263, dan bagian thiazolopyridine berinteraksi dengan Asp199 melalui ikatan hidrogen yang dimediasi air (Bryan *et al.*, 2024).

Kode PDB makromolekul protein SCCmec yang digunakan adalah 4FAK yang terkompleks dengan senyawa s-adenosylmethionine, dengan rumus senyawa s-adenosylmethionine  $C_{15}H_{22}N_6O_5$ . Struktur tiga dimensinya diperoleh dari hasil X-ray kristalografi dengan resolusi 1.70 Å. Model interaksi antara 4FAK dan s-adenosylmethionine dapat dilihat pada situs aktif dibentuk oleh dua sub-unit, dengan bagian adenin terkubur 22 dalam dan gugus metil bermuatan positif dan gugus karboksilat sebagian terbuka. Hanya bagian adenin dan ribosa dari AdoMet yang berinteraksi langsung dengan protein, ini termasuk interaksi ikatan hidrogen secara eksklusif dengan residu tulang punggung protein Met-130, Ser-128, Phe-127, Phe-132, Leu-76, dan Gly-108.

Rantai samping Met-137 dan Ile-78 membentuk interaksi hidrofobik dengan AdoMet dengan menjepit di setiap sisi cincin adenin. Bagian amina dan karboksilat dari bagian metionin hanya membuat interaksi ikatan hidrogen yang dimediasi air dengan tulang punggung atau rantai samping Leu-113, Ile-78, dan Gln-79 (Boundy *et al.*, 2013).



PubChem adalah sebuah repositori publik untuk informasi tentang zat kimia dan aktivitas biologisnya, diluncurkan pada tahun 2004 sebagai sebuah komponen dari *Molecular Libraries Roadmap Initiatives of the US National Institutes of Health* (NIH). PubChem terdiri dari tiga database yang saling terkait, yaitu Zat, Senyawa, dan BioAssay. Basis data Zat berisi informasi bahan kimia yang disimpan oleh kontributor data individual ke PubChem, dan basis data Senyawa menyimpan

struktur kimia unik yang diekstraksi dari basis data Zat. PubChem banyak digunakan untuk inventaris data senyawa kimia serta eksplorasi informasi guna keperluan verifikasi kebenaran informasi pada fitur-fitur yang diinginkan. Data aktivitas biologis zat kimia yang diuji dalam percobaan pengujian terdapat dalam database BioAssay (S. Kim *et al.*, 2016).

### **3. SwissADME**

SwissADME adalah salah satu metode *in silico* yang digunakan untuk prediksi parameter sifat fisikakimia, lipofilisitas, kelarutan, farmakokinetik (absorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi), drug-likeness dan medicinal chemistry dengan beberapa metode yang valid seperti BOILED-egg, iLOGP dan bioavailability radar (Daina *et al.*, 2017). Drug-likeness menilai secara kualitatif peluang suatu molekul untuk menjadi obat oral sehubungan dengan bioavailabilitas.

Drug-likeness dibentuk dari pemeriksaan struktural atau fisikakimiawi senyawa-senyawa pengembangan yang cukup maju untuk dipertimbangkan sebagai kandidat obat oral. Bagian SwissADME ini memberikan akses ke 5 filter berbasis aturan yang berbeda, yaitu Lipinski, Ghose, Veber, Egan dan Muegge. Pada bagian ini juga terdapat skor bioavailabilitas yang memprediksi kemungkinan suatu senyawa memiliki setidaknya 10% bioavailabilitas obat oral pada tikus atau permeabilitas Caco-2 yang dapat diukur (Daina *et al.*, 2017).

### **4. VEGA ZZ**

VEGA ZZ merupakan perangkat lunak pemodelan molekul yang mudah digunakan dengan antarmuka grafis 3D yang lengkap. VEGA ZZ diciptakan untuk dijalankan pada PC berbasis Windows untuk melakukan operasi pemodelan molekul yang paling umum dengan cara yang cepat dan mudah. VEGA ZZ memiliki rangkaian pemodelan molekul yang lengkap untuk peneliti seperti digunakan untuk memecahkan banyak masalah kimia komputasi tentang desain obat, optimisasi ligan, pemodelan homologi protein, dan perhitungan deskriptor molekuler QSAR (Goodarzi *et al.*, 2012).

### **5. Molecular Docking atau Penambatan Molekuler**

Penambatan molekuler adalah metode *in silico* yang memprediksi penempatan molekul kecil atau ligan di dalam situs aktif protein targetnya (reseptor). Hal ini terutama digunakan untuk estimasi akurat dari mode pengikatan yang paling disukai dan bio-afinitas ligan dengan reseptornya. Metodologi penambatan molekul terutama terdiri

dari tiga tujuan yang saling berhubungan satu sama lain seperti: prediksi pose pengikatan, bio-afinitas, dan virtual skrining. Dalam metode penambatan molekuler, alat dasarnya adalah algoritma pencarian dan fungsi penilaian untuk membuat dan menganalisis konformasi ligan (Surabhi & Singh, 2018).

Penambatan molekuler telah banyak digunakan dalam skrining virtual untuk membantu merampingkan pencarian terutama dimana struktur 3D protein tersedia. Pada dasarnya ada tiga kategori docking yaitu, ansambel, kerja terinduksi, serta lock dan key docking. Tujuan penambatan molekuler adalah untuk memprediksi konformasi terkait ligan di dalam tempat pengikatan reseptor. Teknik penambatan memiliki beberapa kekurangan, diketahui bahwa sebagian besar program perangkat lunak docking menggunakan perhitungan medan gaya yang membuat estimasi energi ikat, dipandu oleh mekanika quantum (QM) dan data eksperimen. Namun energi ikat yang akurat hanya dapat ditentukan dari metode yang melibatkan perhitungan *ab initio*, termasuk Density Functional Theory (DFT) serta simulasi dinamika molekul (MD). Untuk menyederhanakan perhitungan, sebagian besar program perangkat lunak docking cenderung menghilangkan hidrogen (proton) dari molekul yang diteliti (enzim dan inhibitor), sehingga formasi penting dikecualikan yang menyebabkan sedikit berkurangnya keakuratan (Sabe *et al.*, 2021).

Metode utama untuk pencarian konformasi adalah algoritma genetika Lamarckian. Sebuah populasi konformasi percobaan dibuat, dan kemudian dalam generasi berikutnya, individu-individu ini bermutasi, bertukar parameter konformasi, dan bersaing dengan cara analog dengan evolusi biologis, akhirnya memilih individu dengan energi pengikat terendah. Energi ikatan docking yang negatif menunjukkan bahwa interaksi antara dua molekul menghasilkan keadaan yang lebih stabil daripada ketika molekul tersebut terpisah. Ada beberapa alasan mengapa energi ikatan docking bisa menjadi negatif yaitu interaksi yang kuat. Saat molekul-molekul tersebut berinteraksi, interaksi antara atom-atom mereka, seperti ikatan hidrogen, interaksi ionik, atau interaksi van der Waals, dapat menghasilkan bentuk ikatan yang stabil. Ini menyebabkan pelepasan energi dan kontribusi pada energi ikatan negatif.

Kemudian, optimisasi konformasi. Program komputer dalam proses docking berusaha untuk menemukan orientasi dan konformasi yang optimal di antara molekul yang berinteraksi. Ketika konformasi ini

ditemukan, energi sistem secara keseluruhan berkurang, yang tercermin dalam nilai negatif untuk energi ikatan. Pembentukan Ikatan: Pembentukan ikatan antara molekul-molekul tersebut dapat menyebabkan pelepasan energi. Misalnya, pembentukan ikatan hidrogen atau ikatan kovalen antara senyawa obat dan residu protein tertentu dapat menghasilkan energi ikatan negatif. Interaksi Hidrofobik di mana daerah nonpolar dari molekul saling berinteraksi, dapat menyebabkan peningkatan kestabilan kompleks dan menghasilkan energi ikatan negatif. Interaksi Elektrostatis: Jika ada interaksi elektrostatis yang kuat antara molekul yang berdokumentasi, ini juga dapat menyebabkan energi ikatan menjadi negatif.

Energi ikatan docking yang negatif menunjukkan bahwa molekul-molekul tersebut cenderung membentuk kompleks yang stabil, yang dapat menjadi indikasi kandidat obat yang potensial atau interaksi protein-ligand yang efektif dalam konteks penelitian obat. Lamarckian adalah fitur tambahan yang memungkinkan konformasi individual untuk mencari ruang konformasi lokal, menemukan minima lokal, dan kemudian meneruskan informasi ke generasi berikutnya. Banyaknya senyawa dalam prediksi interaksi dengan MRSA memerlukan efisiensi waktu serta tepat dalam interpretasi. Metode ini tersedia pada Autodock4 yang dapat melakukan penambatan lebih dari satu proses penambatan (Purnomo, 2019).

Autodock4 menggunakan medan gaya energi bebas semiempiris untuk memprediksi energi bebas ikatan molekul kecil ke makromolekul target. Autodock4 memungkinkan pemodelan bagian protein tertentu yang sepenuhnya fleksibel, dengan cara yang sama seperti ligan. Pengguna memilih rantai samping tertentu yang dipisahkan dari protein. Selama simulasi, ini diperlakukan secara eksplisit. Bagian protein yang tersisa direpresentasikan menggunakan Grid afinitasnya (Morris *et al.*, 2009). Autodock4 adalah salah satu aplikasi yang banyak digunakan untuk penelitian docking molekuler, dengan hasil docking yang memiliki akurasi dan validitas yang tinggi jika dibandingkan dengan aplikasi docking tidak berbayar lainnya (Pagadala *et al.*, 2017).

Dengan adanya Autodock4, menjadi jelas bahwa tugas persiapan koordinat, desain eksperimen, dan analisis memerlukan Graphical User Interface yang efektif untuk menjadikan AutoDock sebagai alat yang dapat diakses secara luas. AutoDock Tool dibuat untuk memenuhi kebutuhan ini. AutoDock Tool memfasilitasi pemformatan file molekul

input, dengan serangkaian metode yang memandu pengguna melalui protonasi, menghitung muatan, dan menentukan ikatan yang dapat diputar pada ligan dan protein. AutoDock Tool menyertakan berbagai metode baru untuk mengelompokkan, menampilkan, dan menganalisis hasil percobaan (Morris *et al.*, 2009).

## **6. BIOVIA Discovery Studio**

Desain berbasis ligan, termasuk pembuatan model farmakofor dan skrining virtual, merupakan strategi dalam pengembangan rasional obat molekul kecil. BIOVIA Discovery Studio memungkinkan pengguna untuk memvisualisasikan, membuat profil, dan menganalisis beragam sumber pustaka kimia untuk merancang dan mengoptimalkan pemilihan senyawa. Alat tambahan yang komprehensif dan dapat diskalakan untuk hit and lead identification, lead optimization, dan virtual screening juga tersedia di BIOVIA Discovery Studio (Shaweta *et al.*, 2021).

## **7. Molecular Dynamic (MD) atau Dinamika Molekuler**

Simulasi dinamika molekuler (MD) memprediksi bagaimana setiap atom dalam protein atau sistem molekuler lainnya akan bergerak dari waktu ke waktu, berdasarkan model umum fisika yang mengatur interaksi antar atom. Simulasi dinamika molekuler digunakan untuk mempelajari gerakan sistem makromolekul dengan kompleksitas tinggi, di antaranya biomolekul sangat menarik (Karplus & Petsko, 1990). MD merupakan sebuah teknik komputasi dalam melakukan simulasi pada rentang waktu tertentu untuk mengamati fungsi biologis dari suatu protein atau asam nukleat yang tidak mampu diamati secara eksperimen. Simulasi MD memberikan informasi statik dan dinamik pada skala atomik, seperti posisi dan kecepatan. Informasi ini kemudian diolah menjadi informasi pada skala mikroskopis seperti tekanan, suhu dan lain-lain. MD mengandung pengujian kelakuan kebergantungan waktu pada molekul. Hal ini sering dikerjakan dengan penjelasan mekanika klasik yang hampir sama dengan perhitungan mekanika molekuler (Bakal *et al.*, 2022).

Dinamika molekuler adalah teknik komputasi yang digunakan untuk mempelajari biomolekul secara *in silico*. Energi potensial atom dijelaskan dengan ekspresi matematis yang terdiri dari gaya dan parameter ruang yang berbeda. Ada berbagai perangkat lunak dan medan gaya yang telah dikembangkan untuk studi MD 26 dari biomolekul. Analisis MD telah mengungkap berbagai mekanisme biologis

(pelipatan/pembukaan protein, interaksi protein-ligand, interaksi protein-protein, interaksi DNA/RNA-protein, protein yang tertanam dalam membran, interaksi lipid-lipid, transportasi obat, dll.) yang beroperasi di tingkat atom dan molekul (Bakal *et al.*, 2022).

Dua ukuran fluktuasi struktural yang paling umum adalah Root-Mean Square-Deviation (RMSD) dan Root-Mean-Square-Fluctuations (RMSF). RMSD digunakan dalam mengukur ketepatan suatu model molekul dengan model molekul yang setimbang. Nilai RMSD yang semakin kecil menunjukkan kestabilan antar atom. RMSF digunakan untuk menghitung pergerakan residu selama berlangsung. RMSF berfungsi untuk mengevaluasi fluktuasi nomor urutan residu asam amino penyusun protein selama simulasi (Elengoe *et al.*, 2014). Nilai RMSF menjelaskan pergeseran konformasi setiap residu yang memberikan fleksibilitas terhadap protein. RMSF ditentukan oleh waktu saat energi potensial memiliki fluktuasi minimal yakni dimulai dari 1 ns hingga berakhirnya simulasi (Bakal *et al.*, 2022).

Nilai RMSD adalah nilai penyimpangan antara satu konformasi ligan yang menyatakan kesalahan pada prediksi interaksi antara ligan-reseptor. Artinya, jika nilai RMSD kecil maka konformasi yang diperoleh baik dan sebaliknya (Beny *et al.*, 2020). Nilai RMSD yang stabil menandakan bahwa konformasi maksimal protein terikat dengan ligan mulai tercapai sehingga protein mampu mempertahankan posisinya. RMSF adalah ukuran deviasi antara posisi partikel dan beberapa posisi referensinya. Berbeda dengan RMSD, RMSF dihitung terhadap masing-masing residu protein, yakni melihat sejauh mana fluktuasi pergerakan masing-masing residu selama simulasi berlangsung. Nilai RMSF secara garis besar akan menggambarkan pergeseran konformasi setiap residu asam amino yang memberikan fleksibilitas protein. RMSF ditentukan dari waktu ketika energi potensial mengalami fluktuasi minimal, yakni dimulai dari 1 nanodetik hingga akhir simulasi. RMSF berfungsi untuk mengevaluasi fluktuasi nomor urutan residu asam amino penyusun protein selama simulasi (Beny *et al.*, 2020) (Karplus & Petsko, 1990).

Simulasi MD dapat dilakukan oleh perangkat lunak YASARA Dynamics (YASARA Biosciences, Vienna, Austria). YASARA mampu mengatur simulasi MD secara otomatis dari struktur PDB, sehingga menambahkan hidrogen dan atom berat yang hilang, memperbaiki masalah sterik, dan mengoreksi ketidaksempurnaan yang sering terjadi pada file PDB (Burley *et al.*, 2021). Kelebihan Yasara adalah jika ada



kendala teknis di tengah simulasi dan bisa diketahui penyebabnya serta diatasi, maka simulasi tidak perlu dari awal lagi, tetapi dari proses terakhir atau dari snapshot terakhir (Lu *et al.*, 2014).

## 8. Prediksi Profil Farmakokinetika

SwissAdme merupakan web server yang digunakan secara gratis untuk memprediksi profil farmakokinetik, drug-likeness rule of five Lipinski's dan sifat fisikokimia (Daina *et al.*, 2017). ADMETLab merupakan web server yang digunakan secara gratis untuk mengevaluasi prediksi profil farmakokinetik dan toksisitas dari senyawa uji. Hal ini memiliki kesamaan fungsi dengan Swiss Adme (Dong *et al.*, 2018). Parameter prediksi profil farmakokinetika meliputi absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan toksisitas. Absorpsi memiliki beberapa parameter yaitu nilai P-Caco-2, P-gp substrate, human intestinal absorption (HIA), bioavailabilitas 20% (F20%), dan bioavailabilitas 30% (F30%).

Distribusi mempunyai beberapa parameter yaitu Plasma Protein Binding (PPB), volume distribution (VD), dan blood brain-binding (BBB). Metabolisme mempunyai beberapa parameter yang berpengaruh yaitu CYP1A2-S, CYP2C19-S, CYP2C9-S, CYP2D6-S, dan CYP3A4-S. Ekskresi mempunyai beberapa parameter yaitu  $T_{1/2}$  dan clearance (CL).

## E. Landasan Teori

Penerapan bioinformatika sangat efektif dalam pengembangan obat baru atau senyawa baru. Metode penambatan molekuler berbasis CADD menjadikan alternatif dalam penemuan kandidat obat yang menjanjikan. Pengembangan ini memberi sebuah terobosan di mana bagi perancang obat penambatan molekuler atau uji *in silico* dapat memprediksi apakah suatu molekul yang dirancang memiliki potensi terhadap terapi yang diinginkan atau tidak yang akan mempersingkat tahap sintesis selanjutnya dengan akurat (Joy *et al.*, 2015).

Dinamika penelitian mengikuti perkembangan zaman dan beriringan dengan pemanfaatan biodiversitas alam yang sudah menjadi pilihan alternatif dalam dunia pengobatan. Sidaguri (*Sida rhombifolia*) diketahui mempunyai senyawa aktif seperti kuersetin, acacetin, hydroxyecdysone, serta senyawa fenol lainnya seperti tanin dan flavonoid yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri. Hasil penelitian dari Sastika & Mulyani (2010) terkait sidaguri sebagai antibakteri

dengan menghambat pertumbuhan *Klebsiella pneumonia* dan *Staphylococcus aureus*, mengungkapkan Sidaguri mampu menghasilkan zona hambat masing-masing sebesar 31,61 mm dan 31,08 mm. Metabolit sekunder seperti flavonoid dan saponin yang terkandung bertanggung jawab dalam memberikan zona hambat uji bacterial karena senyawa tersebut dapat mendenaturasi dan mengkoagulasi protein serta merusak membran dinding sel bakteri. Saponin mempunyai zat aktif permukaan yang mirip detergen, sehingga saponin dapat menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran (Jadhav *et al.*, 2007).

Penambatan molekuler adalah metode *in silico* yang memprediksi penempatan molekul kecil atau ligan di dalam situs aktif protein targetnya (reseptor). Terutama digunakan untuk estimasi akurat dari mode pengikatan yang paling disukai dan bio-afinitas ligan dengan reseptornya. Tujuan penambatan molekuler adalah untuk memprediksi konformasi terkait ligan di dalam tempat pengikatan reseptor (Sabe *et al.*, 2021). AutodockTools terbukti sebagai alat efektif yang mampu dengan cepat dan akurat memprediksi konformasi terikat dan energi ikat ligan dengan makromolekul target dengan bantuan CMD (Purnomo, 2019).

Simulasi dinamika molekuler (Molecular Dynamics/MD) digunakan untuk mengevaluasi kestabilan interaksi ligan-protein dalam rentang waktu tertentu. Teknik ini dapat memprediksi pergerakan atom dalam sistem molekuler serta mengukur kestabilan melalui parameter seperti Root Mean Square Deviation (RMSD) dan Root Mean Square Fluctuation (RMSF). RMSD yang rendah menunjukkan konformasi kompleks yang stabil, sementara nilai RMSF menggambarkan fleksibilitas residu asam amino selama simulasi. Dengan demikian, kombinasi docking dan MD memberikan pemahaman yang lebih mendalam mengenai mekanisme interaksi molekul pada tingkat atomik.

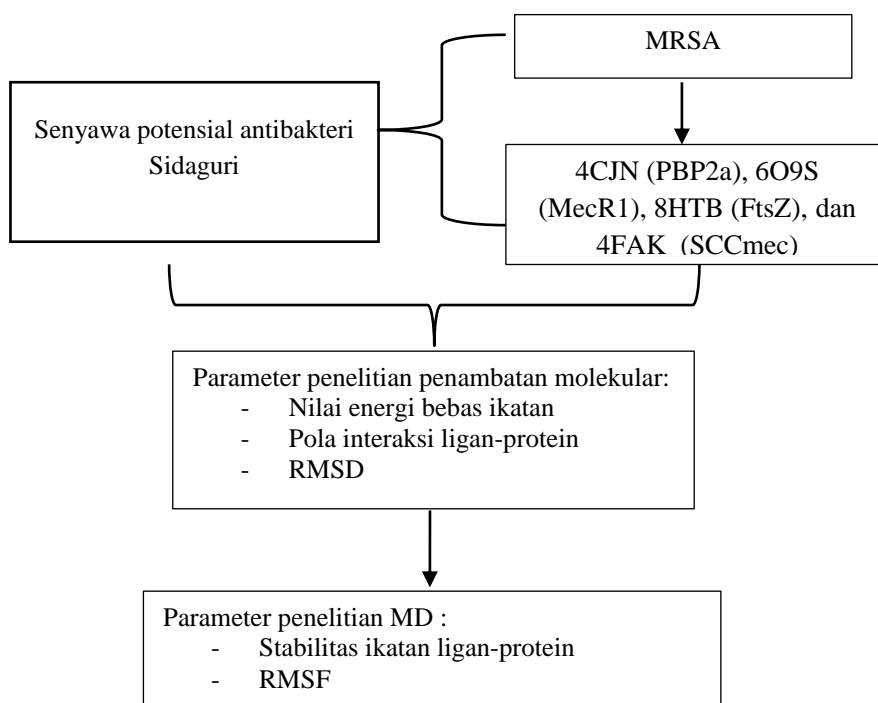
Untuk melengkapi analisis, prediksi profil farmakokinetik senyawa dilakukan menggunakan web server seperti SwissADME dan ADMETLab. Prediksi ini meliputi parameter absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, serta toksisitas (ADMET) yang sangat penting dalam menilai kelayakan suatu senyawa sebagai obat. Misalnya, prediksi human intestinal absorption (HIA), plasma protein binding (PPB), hingga interaksi dengan enzim CYP450 membantu memperkirakan bioavailabilitas dan keamanan senyawa. Dengan menggabungkan hasil

docking, simulasi MD, dan prediksi ADMET, peneliti dapat memperoleh gambaran komprehensif mengenai potensi senyawa sebagai kandidat obat baru secara efisien sebelum dilanjutkan ke tahap uji eksperimental.

### F. Keterangan Empiris

Berdasarkan uraian di atas dapat disusun keterangan empiris sebagai berikut:

1. Senyawa kandungan tanaman sidaguri diprediksi menunjukkan interaksi yang baik terhadap protein target MRSA.
2. Senyawa kandungan tanaman sidaguri diprediksi menunjukkan pola interaksi asam amino yang sama dengan ligan asli terhadap protein target MRSA.
3. Senyawa kandungan tanaman sidaguri diprediksi memiliki stabilitas ikatan yang baik terhadap protein target molekuler MRSA.
4. Senyawa kandungan tanaman sidaguri diprediksi memiliki profil farmakokinetika yang baik sebagai kandidat obat.



**Gambar 12. Kerangka konsep penelitian**