

Interaksi Beberapa Senyawa Kalkon Berbasis Parasetamol terhadap Protein Enzim yang Berperan dalam Mekanisme Antibakteri

Anasda Amal Fathullah¹, Wisnu Cahyo Prabowo², Rolan Rusli^{1,2,*}

¹Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Kefarmasian "Farmaka Tropis",
Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia

²Kelompok Bidang Ilmu Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia

*E-mail: rolan@farmasi.unmul.ac.id

Abstrak

Kalkon merupakan metabolit sekunder dari golongan flavonoid yang banyak ditemukan di alam terutama pada tumbuh-tumbuhan. Kalkon memiliki berbagai aktivitas seperti sitotoksik, antivirus, anestesi, antimikroba, antiinflamasi, dan lain sebagainya. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri senyawa turunan kalkon berbasis parasetamol dengan menggunakan metode docking terhadap protein bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa 3-(4-Metoksifenil)-N-(4-Klorofenil) Akrilamida, 3-(4-Hidroksifenil)-N-(4-Klorofenil) Akrilamida, dan 3-(4-Hidroksi-3-Metoksifenil)-N-(4-Klorofenil) Akrilamida menunjukkan aktivitas yang baik dengan rata-rata skor *rmsd-refine* <2. Turunan kalkon tersebut berikatan kompleks dengan asam amino bakteri seperti Ile 173, Asn 267, Lys A449, Thr 265, dan Arg A389.

Kata Kunci: *Bacillus subtilis*, Docking, *Escherichia coli*, Turunan Kalkon

Abstract

Kalkon is a secondary metabolite of the flavonoid group that is found in nature, especially in plants. Kalkon has various activities such as cytotoxic, antiviral, anesthetic, antimicrobial, antiinflammatory, and so forth. The aim of this research is to know the antibacterial activity of kacco-based derived paracetamol compound by using docking method against bacterial protein Escherichia coli and Bacillus subtilis. The results showed that the compound 3- (4-Metoxyphenyl) -N- (4-Chlorophenyl) Acrylamide, 3- (4-Hydroxyphenyl) -N- (4-Chlorophenyl) Acrylamide, and 3- (4-Hydroxy-3-Methoxyphenyl) -N- (4-Chlorophenyl) Acrylamide showed good activity with an average rmsd-refine score <2. The kalkon derivative binds complex with amino acid bacteria such as Ile 173, Asn 267, Lys A449, Thr 265, and Arg A389.

Keywords: *Bacillus subtilis*, Calcon derivated, Docking, *Escherichia coli*

1. Pendahuluan

Kalkon merupakan metabolit sekunder dari golongan flavonoid yang banyak ditemukan di alam terutama pada tumbuh-tumbuhan. Kalkon dikenal sebagai perantara sintesis berbagai macam senyawa heterosiklik. Berdasarkan beberapa penelitian yang telah dilakukan, kalkon telah dilaporkan memiliki berbagai macam aktivitas biologis antara lain sebagai antimikroba, antimalaria, antiinflamasi, analgesik, antiplatelet, antivirus, antileismania, antioksidan, penghambatan pelepasan mediator kimia, penghambat leukotrien B₄, penghambatan tirosinase, dan penghambatan aktivitas *aldose reduktase* [1].

Berdasarkan laporan penelitian penyakit yang disebabkan oleh bakteri masih memiliki tingkat prevalensi tinggi bagi sebagian besar masyarakat di Indonesia. Pada kenyataannya obat-obatan antibakteri sekarang banyak yang menimbulkan resistensi pada sebagian orang, sebagian kasus timbul reaksi hipersensitivitas dan efek samping obat lainnya yang tidak diinginkan. Semakin banyak suatu antibiotik digunakan semakin banyak timbul resistensi kuman, dan meningkatnya efek samping yang merugikan [2].

Penelitian inhibisi antibakteri terus meningkat. Salah satunya adalah penelitian tentang turunan kalkon. Gambaran unik pada antibakteri adalah selektivitas dalam penghambatannya baik pada bakteri gram positif maupun gram negatif. Hal ini

dapat menjadi target rancangan obat rasional dan efektif untuk obat-obatan antibakteri. Saat ini, pendekatan molekul doking telah banyak digunakan dalam rancangan obat modern untuk membantu memahami interaksi obat dengan reseptor. Telah banyak ditunjukkan dalam literatur bahwa teknik komputasi dapat mendukung dan membantu desain turunan senyawa untuk mendapatkan inhibitor yang lebih ampuh melalui mekanisme interaksi obat-reseptor [3].

Molekular *docking* adalah alat utama dalam biologi molekular struktural dengan bantuan komputer untuk desain suatu obat. Tujuan dari *docking* protein dan ligan yaitu untuk memprediksi model yang mengikat ligan pada daerah yang dominan yang dikenal dengan protein pada struktur tiga-dimensi. Dalam penelitian ini digunakan *docking* secara cepat dan fleksibel untuk mempelajari dan memprediksi orientasi dan afinitas ikatan dari turunan kalcon berbasis parasetamol dengan menggunakan *MOE Molecular Docking Computing*. Penelitian ini dilakukan untuk memahami bentuk-bentuk interaksi dari 3 senyawa turunan kalcon berbasis parasetamol terhadap *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* [3].

2. Metode Penelitian

2.1. Struktur Molekul dan Optimasi

Optimasi geometri struktur dilakukan dengan program HyperChem 8.0 for Windows *Molecular Modeling System*. Pembuatan struktur meliputi pembuatan kerangka dasar, dan penambahan atom hidrogen. Optimasi dilakukan dengan menyesuaikan sudut-sudut ikatannya. Struktur dioptimasi dengan metode *ab-initio* hingga diperoleh struktur stabil. Struktur protein pada *Bacillus subtilis* (PDB kode 2J9P) dan *Escherichia coli* (PDB kode 3BEC) diperoleh dari Bank Data Protein.

2.2. Protein

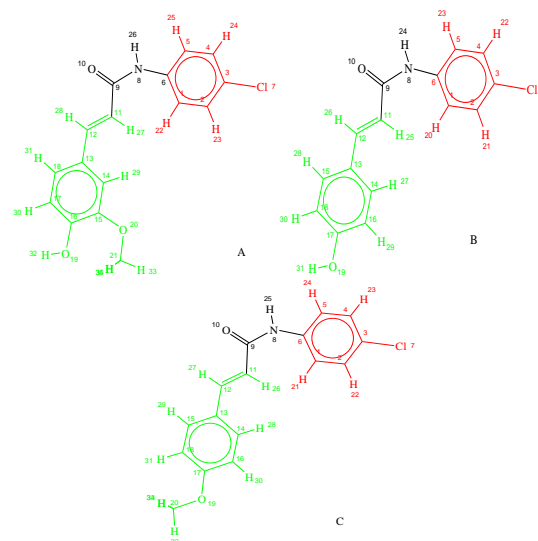
Struktur *Bacillus subtilis* (PDB kode 2J9P) dan *Escherichia coli* (PDB kode 3BEC) kompleks yang beresolusi-tinggi (2,50 Å). Simulasi ikatan dilakukan dengan substrat *peptidoglycan mimetic peptide* tanpa molekul air untuk menjelaskan peran hambatan terhadap bakteri.

2.3. Validasi Metode Docking

Program *MOE Molecular Docking Computing* divalidasi untuk mendapatkan metode yang *reliable*. Struktur protein didapatkan dari *Protein Data Bank* (situs www.rcsb.org/pdb/). Analisa data perbandingan *scoring* dinyatakan dengan RMSD (*Rate Mean Square Deviation*). Metode *docking* dikatakan baik jika nilai RMSD-nya lebih kecil sama dengan dua (≤ 2). Jika nilai RMSD yang diperoleh lebih besar dari 2 (> 2), metode yang digunakan tidak reliabel.

3. Hasil dan Pembahasan

Perancangan struktur senyawa kalcon berbasis parasetamol dilakukan dengan menggunakan program *hyperchem 8.0*[®]. Struktur dibuat dan dioptimasi, optimasi struktur yang digunakan menggunakan metode *ab-initio*. Metode ini digunakan karena memiliki tingkat keakuratan yang lebih tinggi dibandingkan dengan metode lainnya. Metode *ab-initio* bergantung dari kemampuan komputer yang digunakan, karena metode ini menggunakan waktu yang cukup lama untuk melakukan optimasi struktur, media simpan dan memori komputer. Setelah memilih metode yang digunakan pemilihan basis juga merupakan bagian yang penting dari keberhasilan doking. Setelah basis sudah diset proses optimasi akan berlangsung. Lamanya waktu optimasi tergantung dari struktur yang dirancang. Struktur senyawa hasil optimasi dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1 Struktur senyawa hasil optimasi (A) Senyawa 3-(4-Hidroksi-3-Metoksifenil)-N-(4-Klorofenil) Akrilamida, (B) Senyawa 3-(4-Hidroksifenil)-N-(4-Klorofenil) Akrilamid, dan (C) Senyawa 3-(4-Metoksifenil)-N-(4-Klorofenil) Akrilamida



Hasil optimasi struktur menunjukkan nilai panjang ikatan, nilai sudut ikatan dan nilai sudut dihedral senyawa turunan kalkon berbasis parasetamol. Sudut ikatan adalah sudut yang dibentuk antara sepasang atom yang terikat dengan satu atom lain. Panjang ikatan yaitu jarak antara dua buah inti atom yang saling terikat. Sudut dihedral yaitu sudut antara suatu atom dengan bidang yang dibentuk oleh tiga atom lain. Berdasarkan hasil optimasi struktur senyawa 1 yang memiliki nilai ikatan C₁-C₁₈ memiliki nilai persen kedekatan dengan teori sebesar 97,7-120,2 %, untuk nilai sudut ikatan C-C-C memiliki nilai sebesar 98,2-105,5% dan nilai sudut dihedral sebesar 99,9-100%. Pada senyawa 2 memiliki nilai ikatan C₁-C₁₈ memiliki nilai persen kedekatan dengan teori sebesar 97,6-112,8 %, untuk nilai sudut ikatan C-C-C memiliki nilai sebesar 98,2-120,2% dan nilai sudut dihedral sebesar 99,9-100%. Pada senyawa 3 memiliki ikatan C₁-C₁₈ memiliki nilai persen kedekatan dengan teori sebesar 97,6-112,9%, untuk nilai sudut ikatan C-C-C memiliki nilai sebesar 98,1-105,6% dan nilai sudut dihedral sebesar 99,9-100% [4].

Tabel 1. Parameter doking ligan sisi aktif bakteri *Bacillus subtilis*

Senyawa	S(kcal/mol)	Rmsd_refine
1	-11,1036	0,9333
2	-10,0520	0,7816
3	-7,9017	1,2612

Tabel 2. Interaksi ligan (obat) dan reseptor *Bacillus subtilis*

Senyawa	Lys 449	Arg 389	Ser 399	Thr 294
1	-	-	-	-
2	-	+	-	-
3	+	-	-	-

Keterangan : (+) = Terjadi interaksi
(-) = Tidak ada interaksi

Berdasarkan Tabel 1 menunjukkan bahwa senyawa turunan kalkon berbasis parasetamol yang tersubstitusi OH, dan OCH₃ memiliki aktivitas yang cukup baik terhadap bakteri *Bacillus subtilis*. Nilai *rmsd_refine* merupakan nilai acuan senyawa uji dengan senyawa pembanding. Senyawa pembanding yang dimaksud adalah senyawa yang sudah ada di dalam protein dari bakteri tersebut dan senyawa pembanding tersebut adalah penisilin. Sedangkan nilai S merupakan energi bebas ikatan protein.

Berdasarkan hasil doking parameter ligan sisi aktif bakteri *Bacillus subtilis* diperoleh nilai *rmsd_refine* senyawa rata-rata kurang dari 2 (<2). Senyawa uji dengan tersubstitusi kloro memiliki nilai yang paling dekat dengan senyawa acuan yaitu 0,7399 kcal/mol dan memiliki nilai energi bebas ikatan protein sebesar -7.9909. Nilai negatif yang didapatkan dari energi ikatan bebas protein adalah menunjukkan bahwa reaksi yang terjadi secara spontan, jika hasil yang didapatkan bernilai positif maka reaksi tidak spontan atau tidak dapat terjadi. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Susmi [5] nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) yang umumnya digunakan sebagai nilai standar penambatan molekul adalah sebesar <2. Semakin mendekati nol maka nilai kedekatan senyawa uji semakin dekat dengan pembanding. Pada bakteri *Bacillus subtilis* senyawa kalkon berinteraksi dengan protein Arg 389 dan Lys 411 (Tabel 2).

Pada interaksi senyawa uji dengan protein enzim Arg 389 terjadi interaksi *arene-cation* yang melibatkan cincin aromatik pada senyawa uji. Interaksi lainnya yang terjadi adalah interaksi *sidechain acceptors* antara senyawa turunan kalkon yang tersubstitusi gugus hidroksi (OH) dengan Protein enzim Lys 411. Fungsi arginin dan lisin pada bakteri adalah memfasilitasi produksi enzim, hormon dan antibodi. Lisin juga membantu dalam sintesis kolagen dan jaringan ikat. Peptidoglikan merupakan komponen utama dinding sel bakteri yang bersifat kaku dan bertanggungjawab untuk menjaga integritas sel serta menentukan bentuknya. Pembentukan struktur peptidoglikan dibantu oleh enzim transpeptidase yang berfungsi untuk menyambung antara satu unit peptidoglikan dengan yang lainnya. Apabila arginin dan lisin dihambat maka produksi enzim transpeptidase akan terhambat sehingga struktur peptidoglikan tidak dapat dibentuk hal ini menyebabkan dinding sel bakteri menjadi tidak kokoh dan apabila sel bakteri tumbuh dengan dinding sel yang kurang sempurna maka bertambahnya plasma atau air yang terserap dengan jalan osmosis akan menyebabkan dinding sel bakteri menjadi lisis. Pada senyawa turunan kalkon cincin aromatis bersifat aktif sehingga turunan kalkon dapat mengikat ke sisi aktif bakteri *Bacillus subtilis*, hal ini sesuai dengan interaksi yang ada pada senyawa turunan kalkon berbasis parasetamol yang menggunakan cincin aromatis untuk berinteraksi. Menurut Harjono [6] semakin besar energi ikatan bebas protein yang ditunjukkan dengan nilai (S) berarti ikatan tersebut semakin stabil. Semakin stabil ikatan

antara ligan dengan reseptor maka dapat diprediksikan bahwa aktivitasnya juga semakin besar.

Tabel 3. Parameter doking ligan sisi aktif bakteri *Escherichia coli*

Senyawa	S(kcal/mol)	Rmsd_refine
1	-8,7600	0,9060
2	-5,9769	1,0820
3	-9,1756	0,7861

Tabel 4. Interaksi ligan (obat) dan reseptor *Escherichia coli*

Senyawa	Thr 265	Tyr 297	Asn 267	Arg 174
1	-	-	-	-
2	+	-	-	-
3	-	-	-	-

Keterangan : (+) = Terjadi interaksi
(-) = Tidak ada interaksi

Hasil parameter doking senyawa turunan kalkon berbasis parasetamol terhadap bakteri *escherichia coli* juga menggunakan protokol yang sama dengan *bacillus subtilis*. Berdasarkan tabel 3 nilai skoring kedekatan senyawa uji dengan senyawa acuan yang ada pada protein bakteri memiliki nilai rata-rata kurang dari 2 (<2). Senyawa uji yang tersubstitusi metoksi memiliki nilai yang paling dekat dengan senyawa acuan yang ada pada protein bakteri yaitu 0,7861. Senyawa acuan yang ada pada bakteri *Escherichia* adalah Cephalosporin.

Golongan gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan yang tipis (5-10 nm) dengan komposisi utama lipoprotein dan lipopolisakarida. Membran luarnya merupakan struktur *bilayer*.

Pada bakteri *escherichia coli* terjadi interaksi antara senyawa turunan kalkon berbasis parasetamol terhadap protein enzim Thr 265 (Tabel 4). Interaksi yang terjadi adalah interaksi *backbond acceptor* yang melibatkan atom hidrogen yang ada pada gugus Hidroksi berinteraksi dengan protein enzim Treonin. Fungsi asam amino treonin adalah meningkatkan sistem kekebalan dan membantu dalam produksi antibodi. Apabila treonin dihambat maka akan menyebabkan ketahanan dari bakteri mudah ditembus dan menyebabkan terganggunya sintesis peptidoglikan lapisan dinding sel bakteri, sehingga bakteri akan musnah. Pengujian secara in-vitro terhadap senyawa turunan kalkon hasil yang didapatkan baik pada bakteri *escherichia coli* dan *bacillus subtilis* lebih kecil dibandingkan dengan kloramfenikol dan didapatkan bahwa

senyawa turunan kalkon berinteraksi dengan protein Lys 411, Thr 412 dan Ser 52 [7].

4. Kesimpulan

Berdasarkan data hasil parameter doking sisi aktif ligan bakteri *escherichia coli* dan *bacillus subtilis*, menunjukkan BAHWA senyawa kalkon berbasis parasetamol memiliki aktivitas yang baik terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* dengan nilai kedekatan terhadap senyawa acuan <2 dan berinteraksi dengan protein enzim Lys 411, Thr 265 dan Arg 389.

Daftar Pustaka

- [1] Prasad, Y. R., Rao, A. L., Rambabu, R., 2008. Synthesis and Antimicrobial Activity of Some Chalcone Derivatives. *E-Journal of Chemistry*. 5 (3): 461-466.
- [2] Hart, T & Shears, P. Atlas Berwarna Mikrobiologi Kedokteran. Jakarta: Penerbit Hipokrates, 1996: 71-226
- [3] Wattimena, J. R., Sugiarto, N. C., Widiyanto, M. B., Sukandar, E. Y., Soemardji, A. A., dan Setiadi, A. R. Farmakodinamik dan Terapi Antibiotik. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press, 1991: 3-50
- [4] Mc Murry, J., 2016. *Organic Chemistry, Ninth Edition*. Cengage Learning. Boston. USA.
- [5] Susmi, dkk, 2017. Studi Docking Molekular Senyawa Asam Sinamat dan Derivatnya Sebagai Inhibitor Protein IJ4X Pada Sel Kanker Serviks. *Jurnal Kimia Mulawarman*. Vol 14(12)
- [6] Harjono, S., 2013. Quantitative Structure-Cytotoxic Activity Relationship 1-(Benzoyloxy)urea and Its Derivates. *Current Drug Discovery Technology*. Vol.13(2): 101-108
- [7] Rosita, Ayik. 2012. Molekular Docking dengan Metode Molegro Virtual Docker Turunan Kalkon Antimikroba. *Jurnal Unej*. Vol 9 (1): 39-47

