

BAB I**PENDAHULUAN****1.1 Latar Belakang**

Semakin banyaknya resistensi terhadap antibiotika menjadi ancaman yang serius bagi kesehatan di dunia (CDC, 2019). Di Indonesia, telah ditemukan bakteri resisten seperti *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dan bakteri penghasil *Extended-Spectrum β -Lactamases* (ESBL) (Depkes RI, 2015). Oleh karena itu, menemukan antibiotika baru yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri MRSA dan bakteri penghasil ESBL sangat penting dalam bidang pengembangan obat baru. Antibiotika β -laktam merupakan kelompok antibiotika yang banyak digunakan untuk pengobatan penyakit infeksi yang diakibatkan oleh bakteri patogen Gram-positif dan Gram-negatif, tetapi bakteri tersebut telah resisten terhadap sebagian besar antibiotika β -laktam. Resistensi terhadap β -laktam terutama disebabkan oleh munculnya strain bakteri penghasil enzim β -laktamase yang dapat menghidrolisis cincin β -laktam pada struktur antibiotika penisilin sehingga obat menjadi tidak aktif (Bush dan Bradford, 2016).

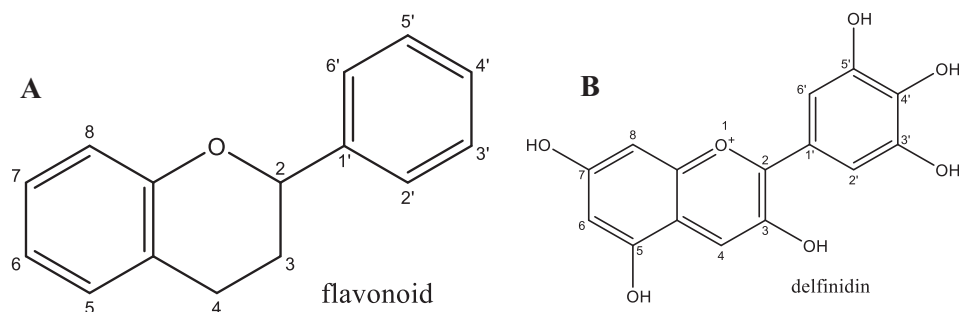
Antibiotika β -laktam sefalosporin tahan terhadap hidrolisis cincin β -laktam, tetapi bakteri *K. pneumoniae* dengan cepat menghasilkan enzim β -laktamase CTX-M-15 yang menyebabkan bakteri resisten terhadap antibiotika tersebut (Gallique *et al.*, 2021; Munita dan Arias, 2016). Meropenem adalah antibiotika yang tahan terhadap hidrolisis oleh ESBL sehingga digunakan untuk infeksi yang disebabkan oleh *K. pneumoniae* penghasil ESBL dengan cara menghambat pertumbuhan dan mengakibatkan kematian sel bakteri (Baldwin *et al.*, 2008; Clark *et al.*, 2003).

Metisilin merupakan antibiotika kelompok β -laktam turunan penisilin yang tahan terhadap hidrolisis β -laktamase, tetapi terdapat strain *S. aureus* yang resisten terhadap metisilin (Purnomo dan Intan, 2018). Resistensi terhadap metisilin disebabkan oleh perubahan struktur *Penicillin-Binding Protein* (PBP) menjadi PBP2a yang tidak dapat diikat oleh metisilin sehingga mengambil alih fungsi normal PBP *Staphylococcus* dalam sintesis dinding sel (Carretto *et al.*, 2018; Pinho *et al.*, 2001). Seftobiprol adalah antibiotika β -laktam yang terbukti efektif untuk pengobatan infeksi yang disebabkan bakteri MRSA dengan cara menghambat beberapa kerja enzim transpeptidase dari PBP, termasuk PBP2a pada MRSA (Anderson dan Gums, 2008; Giacobbe *et al.*, 2019). Oleh karena itu, dalam penelitian ini digunakan senyawa pembanding seftobiprol dan meropenem.

Sejak β -laktamase CTX-M-15 mampu menghidrolisis cincin β -laktam dan adanya mutasi PBP menjadi PBP2a yang menjadi penyebab terjadinya resistensi antibiotika β -laktam sehingga perlu dilakukan pencarian senyawa yang tidak memiliki cincin β -laktam, seperti flavonoid (Sariyer dan Saral, 2021). Oleh karena itu, dilakukan pencarian senyawa yang berasal dari tanaman dan berpotensi sebagai antibakteri, salah satu diantaranya adalah *Hibiscus sabdariffa* L. atau disebut rosela (Alhadrami *et al.*, 2020). Aktivitas farmakologi dari berbagai bagian tanaman rosela telah dilaporkan, salah satu diantaranya kuntum bunga rosela sebagai antibakteri (Hassan *et al.*, 2016). Ekstrak air kuntum bunga rosela mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *K. pneumoniae* dengan nilai konsentrasi hambatan minimum (KHM) $0,30 \pm 0,2$ mg/mL (Tolulope, 2007) serta menunjukkan nilai konsentrasi hambatan 50% (IC₅₀) sebesar $178,62 \pm 3,63$ μ g/mL (Jung *et al.*, 2013). Penelitian yang dilakukan Chao dan Yin (2009) menunjukkan bahwa ekstrak air kuntum bunga rosela menghambat pertumbuhan MRSA dengan KHM sebesar 112-144 μ g/mL.

Ekstrak air kuntum bunga rosela mengandung beberapa senyawa flavonoid dan asam fenolat (Da-Costa-Rocha *et al.*, 2014) yang telah diketahui dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*, yaitu: kuersetin-3-glikosida dan kaempferol-3-glikosida dengan KHM 0,065 mg/mL (Akroum *et al.*, 2009), mirisetin dengan KHM 0,005 mg/mL (Rashed *et al.*, 2014) dan asam klorogenat dengan KHM 40 μ g/mL (Lou *et al.*, 2011). Selain itu, kuersetin dan asam protokatekuat (5 mg/mL) dapat menghambat pertumbuhan strain MRSA dengan KHM sebesar 62,5 mg/mL dan 24-44 μ g/mL (Chao dan Yin, 2009; Woźnicka *et al.*, 2013).

Senyawa flavonoid mengandung dua cincin benzena yang dihubungkan oleh cincin piran heterosiklik tertutup yang mengandung oksigen. Gugus hidroksi fenolat dalam senyawa flavonoid dapat berinteraksi dengan molekul target dalam sel bakteri (Kumar dan Pandey, 2013). Struktur inti flavonoid dan salah satu flavonoid, yakni delphinidin ditunjukkan pada gambar 1.1.



Gambar 1.1 Struktur Inti Flavonoid (A) dan Delphinidin (B) yang Menunjukkan Adanya Gugus Hidroksi Fenolat

Gugus hidroksi pada posisi 2',4'-dihidroksil dan pada posisi 5,7-dihidroksil dalam struktur flavonoid berperan dalam aktivitas anti-MRSA (Tsuchiya et al., 1996). Dalam penelitian Orhan dan Ergun (2008) diamati bahwa flavonoid yang menunjukkan aktivitas terhadap *K. pneumoniae* penghasil ESBL adalah flavonoid yang memiliki gugus keto pada posisi 4 dan gugus hidroksi pada posisi 5 dan 7 yang ditunjukkan pada senyawa flavonoid yang diisolasi dari tanaman *Gallium fissurens*.

Ekstrak air kuntum bunga rosela mengandung senyawa flavonoid, antara lain: delfinidin, delfinidin-3-glukosida, sianidin, sianidin-3-glukosida, kuersetin, kuersetin-3-glukosida, kuersetin-3-rutinosida, mirisetin, mirisetin-3-arabinosida, kaempferol-3-glukosida, dan kaempferol-3-rutinosida serta senyawa asam fenolat yaitu asam protokatekuat, asam klorogenat dan asam galat. Senyawa-senyawa tersebut mempunyai perbedaan jumlah dan posisi gugus hidroksi pada struktur inti flavonoid serta jenis gula yang terikat pada posisi 3 struktur flavonoid (Da-Costa-Rocha et al., 2014). Selain itu, senyawa flavonoid dan asam fenolat tidak memiliki cincin β -laktam sehingga tidak akan terpengaruh adanya mutasi PBP menjadi PBP2a dan hidrolisis oleh β -laktamase CTX-M-15. Hal tersebut yang menjadi keuntungan dari senyawa flavonoid dan asam fenolat dibanding senyawa pembanding seftobiprol dan meropenem (Sariyer dan Saral, 2021).

Meskipun ekstrak air kuntum bunga rosela menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap MRSA (Chao dan Yin, 2009), tetapi belum ada yang melaporkan senyawa tertentu dalam ekstrak air kuntum bunga rosela yang menghasilkan efek antibakteri tersebut. Namun, beberapa flavonoid antara lain mirisetin, glikosida kaempferol serta kuersetin dan glikosidanya menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri MRSA dan penghasil ESBL. Oleh karena itu, untuk membuktikan senyawa dalam ekstrak air kuntum bunga rosela memiliki aktivitas antibakteri terhadap MRSA dan bakteri penghasil ESBL maka perlu dilakukan uji *in silico* sebelum dilakukan uji *in vitro* dan *in vivo*. Uji *in silico* dilakukan untuk memprediksi aktivitas suatu senyawa sehingga jumlah senyawa yang akan diuji lebih lanjut lebih sedikit serta penggunaan hewan dan reagen menjadi berkurang (Ekins et al., 2007). Pada penelitian ini, uji *in silico* dilakukan dengan menggunakan program *AutoDock*.

Dalam penelitian ini, studi *in silico* yang dilakukan meliputi penentuan sifat fisikokimia, *docking*, dan hubungan kuantitatif struktur – sifat fisikokimia. Uji aktivitas antibakteri senyawa uji terhadap MRSA dilakukan dengan *docking* molekul pada enzim PBP2a dari *S. aureus* (kode PDB: 1MWT) dengan senyawa pembanding seftobiprol. 1MWT

adalah struktur kristal PBP2a yang mengikat ligan Penisilin G *open form* (kode PDB: PNM) (www.rcsb.org). Uji aktivitas senyawa uji terhadap bakteri penghasil ESBL dilakukan dengan *docking* molekul pada β -laktamase CTX-M-15 dari bakteri *K. pneumoniae* (kode PDB: 4S2I) dengan senyawa pembanding meropenem. 4S2I adalah struktur kristal β -laktamase CTX-M-15 yang mengikat ligan (2S,5R)-1-formil-5-[(sulfooksi)amino]piperidin-2-karboksamida (kode PDB: NXL) (www.rcsb.org). Parameter yang digunakan untuk menentukan aktivitas senyawa terhadap molekul target adalah energi bebas pengikatan (ΔG^0) sebagai ukuran afinitas ligan-reseptor. Semakin rendah energi bebas pengikatan maka senyawa memiliki afinitas yang semakin tinggi.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah 14 senyawa yang berasal dari ekstrak air kuntum bunga rosela (*H. sabdariffa*) mempunyai afinitas secara *in silico* melalui hambatan terhadap PBP2a yang lebih tinggi dibanding seftobiprol berdasarkan nilai energi bebas pengikatan (ΔG^0)?
2. Apakah 14 senyawa yang berasal dari ekstrak air kuntum bunga rosela (*H. sabdariffa*) mempunyai afinitas secara *in silico* melalui hambatan terhadap β -laktamase CTX-M-15 yang lebih tinggi dibanding meropenem berdasarkan nilai energi bebas pengikatan (ΔG^0)?
3. Apakah ada hubungan linier antara sifat fisikokimia 14 senyawa yang berasal dari ekstrak air kuntum bunga rosela (*H. sabdariffa*) dan afinitasnya terhadap PBP2a dan β -laktamase CTX-M-15 secara *in silico*?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Membuktikan bahwa afinitas 14 senyawa yang berasal dari ekstrak air kuntum bunga rosela (*H. sabdariffa*) secara *in silico* melalui hambatan terhadap PBP2a lebih tinggi dibanding seftobiprol berdasarkan nilai energi bebas pengikatan (ΔG^0).
2. Membuktikan bahwa afinitas 14 senyawa yang berasal dari ekstrak air kuntum bunga rosela (*H. sabdariffa*) secara *in silico* melalui hambatan terhadap β -laktamase CTX-M-15 lebih tinggi dibanding meropenem berdasarkan nilai energi bebas pengikatan (ΔG^0).
3. Membuktikan bahwa ada hubungan linier antara sifat fisikokimia 14 senyawa yang berasal dari ekstrak air kuntum bunga rosela (*H. sabdariffa*) dan afinitasnya terhadap PBP2a dan β -laktamase CTX-M-15 secara *in silico*.

1.4 Manfaat Penelitian

Dapat memberikan informasi bahwa senyawa aktif flavonoid dan asam fenolat dalam ekstrak air kuntum bunga rosela (*H.sabdariffa*) dapat dikembangkan sebagai antibakteri terhadap bakteri resisten MRSA dan bakteri penghasil ESBL sebelum dilakukan uji *in vitro* dan *in vivo* serta dijadikan dasar dalam menyusun metode sintesis dari senyawa tersebut.