

SKRIPSI

**STUDI *IN SILICO* SENYAWA TURUNAN APIGENIN
SEBAGAI ANTIBAKTERI DENGAN TARGET DNA GIRASE
Escherichia coli DAN β -LAKTAMASE SPEKTRUM LUAS
(*ESBL*) SERTA PREDIKSI SIFAT FARMAKOKINETIK DAN
TOKSISITASNYA**



MAULID TIANORA KURNIA TSAMARA

**FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS AIRLANGGA
DEPARTEMEN ILMU KEFARMASIAN
SURABAYA
2022**

LEMBAR PENGESAHAN

**STUDI *IN SILICO* SENYAWA TURUNAN APIGENIN
SEBAGAI ANTIBAKTERI DENGAN TARGET DNA GIRASE
Escherichia coli DAN β -LAKTAMASE SPEKTRUM LUAS
(ESBL) SERTA PREDIKSI SIFAT FARMAKOKINETIK DAN
TOKSISITASNYA**

SKRIPSI

**Dibuat untuk Memenuhi Syarat
Mencapai Gelar Sarjana Farmasi Pada
Fakultas Farmasi Universitas Airlangga**

2022

Oleh:

**Maulid Tianora Kurnia Tsamara
NIM: 051811133239**

**Skripsi ini telah disetujui
Tanggal 18 Agustus 2022 oleh:**

Pembimbing Utama



Dr. apt. Nuzul Wahyuning Diyah, M.Si.
NIP. 196612281992032002

Pembimbing Serta



Prof. Dr. apt. Juni Ekowati, M.Si
NIP. 196706021992032002

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Maulid Tianora Kurnia Tsamara

NIM : 051811133239

adalah mahasiswa Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga, menyatakan dengan sesungguhnya bahwa Naskah Skripsi yang saya tulis dengan judul:

Studi *In Silico* Senyawa Turunan Apigenin sebagai Antibakteri dengan Target DNA Girase *Escherichia coli* dan β -Laktamase Spektrum Luas (ESBL) serta Prediksi Sifat Farmakokinetik dan Toksisitasnya

adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri. Apabila di kemudian hari diketahui bahwa isi Naskah Skripsi ini merupakan hasil plagiasi, maka saya bersedia menerima sanksi berupa pembatalan kelulusan dan atau pencabutan gelar yang saya peroleh.

Demikian surat pernyataan ini saya buat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Surabaya, 28 Juli 2022

Yang membuat pernyataan



Maulid Tianora Kurnia Tsamara
NIM. 051811133239

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Maulid Tianora Kurnia Tsamara

NIM : 051811133239

menyatakan bahwa demi kepentingan perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui abstrak Skripsi yang saya tulis dengan judul:

Studi *In Silico* Senyawa Turunan Apigenin sebagai Antibakteri dengan Target DNA Girase *Escherichia coli* dan β -Laktamase Spektrum Luas (ESBL) serta Prediksi Sifat Farmakokinetik dan Toksisitasnya

untuk dipublikasikan atau ditampilkan di internet atau media lain yaitu Digital Library Perpustakaan Universitas Airlangga untuk kepentingan akademik, sebatas sesuai dengan Undang-Undang Hak Cipta.

Demikian surat pernyataan ini saya buat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Surabaya, 28 Juli 2022
Yang membuat pernyataan



Maulid Tianora Kurnia Tsamara
NIM. 051811133239

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT. atas segala ilmu, rahmat, kesempatan, karunia, dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Studi *In Silico* Senyawa Turunan Apigenin sebagai Antibakteri dengan Target DNA Girase *Escherichia coli* dan β -Laktamase Spektrum Luas (ESBL) serta Prediksi Sifat Farmakokinetik dan Toksisitasnya.” dengan sebaik-baiknya untuk memenuhi syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi pada Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.

Skripsi ini dapat terselesaikan atas bantuan, bimbingan, saran, dan dukungan dari berbagai pihak, baik secara moral maupun material. Maka dengan segala kerendahan hati penulis menyampaikan ucapan terimakasih, serta penghargaan yang tak terhingga kepada:

1. Dr. apt. Nuzul Wahyuning Diyah, M.Si., selaku dosen pembimbing utama dan Prof. Dr. apt. Juni Ekowati, M.Si. selaku dosen pembimbing serta yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dengan segala keikhlasan dan penuh kesabaran dalam memberikan petunjuk, pengarahan, serta dorongan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
2. Prof. Dr. Mohammad Nasih, SE., M.T., Ak., CMA., selaku Rektor Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan untuk menyelesaikan program pendidikan S1 Pendidikan Apoteker.
3. Prof. apt. Junaidi Khotib, S.Si., M.Kes., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan untuk menyelesaikan program pendidikan S1 Pendidikan Apoteker.
4. Prof. Dr. apt. Juni Ekowati, M.Si. selaku Ketua Departemen dan apt. Rr. Retno Widyowati, S.Si., M.Pharm., Ph.D. selaku Sekretaris Departemen Ilmu Kefarmasian Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan dan membantu dalam penyusunan skripsi.
5. Prof. Dr. apt. Sudjarwo, MS. dan Dr. apt. Suzana, M.Si. selaku dosen penguji dengan kritik dan saran yang sangat membangun demi kesempurnaan skripsi ini.
6. apt. Abhimata Pramanandana, MSc., S. Farm. selaku dosen wali atas segala bimbingan dan perhatian yang diberikan kepada penulis selama menduduki program pendidikan S1 Pendidikan Apoteker di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.

7. Prof. Dr. Siswandono, M.S., Apt. yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk memberikan petunjuk dan pengarahan dalam penggunaan program docking sehingga penulis dapat melakukan penelitian ini dengan baik.
8. Seluruh dosen yang telah mendidik, membimbing, dan membagi ilmu serta pengetahuan selama menjalani perkuliahan di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.
9. Kedua orang tua tercinta yang senantiasa memberikan doa dan restunya dalam mendukung penulis untuk menuntut ilmu dan menyelesaikan skripsi ini serta atas segala bantuan, bimbingan, dorongan, kasih sayang yang diberikan kepada penulis selama ini.
10. Adik penulis serta seluruh keluarga yang selalu memberikan doa dan dukungan kepada penulis selama ini.
11. Fitriana, Anggita, dan Fakhira yang senantiasa memberikan motivasi, dukungan, dan bersedia menjadi tempat berbagi cerita.
12. Teman-teman seperjuangan skripsi yang telah bersedia untuk saling bertukar pikiran dan informasi serta memberikan dukungan kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini.
13. Teman-teman satu angkatan 2018 Fakultas Farmasi Universitas Airlangga dan teman-teman Kelas C yang senantiasa berbagi suka duka selama menempuh pendidikan.
14. Serta seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu yang telah membantu hingga penulisan skripsi ini dapat terselesaikan.

Semoga Allah SWT membalas segala kebaikan yang telah diberikan dengan pahala yang berlipat ganda. Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun dari semua pihak. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan memberikan tambahan informasi bagi ilmu pengetahuan di masa kini dan masa yang akan datang.

Penulis

RINGKASAN

Studi *In Silico* Senyawa Turunan Apigenin sebagai Antibakteri dengan Target DNA Girase *Escherichia coli* dan β -Laktamase Spektrum Luas (ESBL) serta Prediksi Sifat Farmakokinetik dan Toksisitasnya

Maulid Tianora Kurnia Tsamara

Escherichia coli (*E. coli*) merupakan bakteri yang paling banyak menghasilkan ESBL dengan varian enzim yang paling umum ditemukan adalah CTX-M (Shaikh *et al.* 2014). Filtrat fermentasi dari daging buah markisa (*Passiflora edulis*) menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* penghasil ESBL dengan nilai KHM sebesar 25% dan nilai KBM sebesar 50% (Nurrosyidah *et al.*, 2020). Kandungan yang paling banyak ditemukan dalam tumbuhan markisa adalah senyawa flavonoid, seperti pada senyawa apigenin yang dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* melalui hambatan terhadap DNA girase (Wu *et al.*, 2008). Pada buah markisa juga ditemukan senyawa turunan apigenin dalam bentuk glikosidanya yaitu skhaftosida, isoskhaftosida, vitexin, dan isovitexin. (He *et al.*, 2020). Turunan apigenin dapat dikelompokkan berdasarkan perbedaan substituenya, antara lain adanya gugus glukosa pada atom oksigen atau karbon (kelompok glukosida) dan gugus metil yang mensubstitusi hidroksi pada kerangka dasar flavonoid menjadi metoksi (kelompok apigenin metil eter).

Permasalahannya adalah apakah senyawa turunan apigenin memiliki aktivitas antibakteri berdasarkan afinitasnya terhadap DNA girase dan ESBL CTX-M-15 secara *in silico* dan apakah senyawa yang afinitasnya lebih tinggi dibanding ligan standar mempunyai profil ADMET yang memenuhi persyaratan. Tujuan penelitian ini adalah menentukan afinitas senyawa turunan apigenin terhadap target DNA girase dan ESBL CTX-M-15 serta menentukan profil ADMET senyawa turunan apigenin yang dapat menghambat DNA girase dan/atau ESBL.

Pada penelitian ini dipilih 10 senyawa dari turunan apigenin glukosida dan metil eter. Sebagai pembanding untuk interaksi dengan DNA girase digunakan levofloksasin dan sebagai pembanding untuk interaksi dengan ESBL CTX-M-15 digunakan asam klavulanat yang merupakan obat penghambat β -laktamase.

Senyawa uji dan senyawa pembanding ditentukan sifat fisikokimianya menggunakan aplikasi ChemOffice 20.1. Interaksi ligan dengan reseptor dilakukan dengan *docking* molekul terhadap DNA girase (PDB ID: 1KZN) dan ESBL CTX-M-15 (PDB ID: 4HBU) menggunakan aplikasi *Autodock Vina*. Senyawa yang lebih tinggi afinitasnya terhadap DNA girase dan ESBL CTX-M-15 adalah ligan yang memiliki nilai energi kompleks ligan-reseptor yang lebih rendah daripada levofloksasin dan asam klavulanat. Prediksi profil farmakokinetika dan toksisitasnya (ADMET) menggunakan pkCSM *online*.

Hasil penentuan sifat fisikokimia yang dievaluasi dengan hukum lima Lipinski menunjukkan bahwa semua turunan apigenin glukosida tidak memenuhi persyaratan hukum lima Lipinski karena BM > 500, HBA > 10, dan HBD > 5, sedangkan semua turunan apigenin metil eter memenuhi persyaratan hukum lima Lipinski.

Hasil *docking* molekul terhadap DNA girase menunjukkan bahwa hanya 4 senyawa yang memiliki nilai energi afinitas lebih rendah daripada ligan pembanding levofloksasin terhadap DNA girase (-7,8 Kkal/mol), yaitu apigenin 4'-glukosida (-8.0 Kkal/mol), hispidulin (-8.4 Kkal/mol), genkwanin (-8.2 Kkal/mol), dan acacentin (-8.0 Kkal/mol) yang termasuk turunan apigenin metil eter. Senyawa-senyawa ini sebagian besar membentuk ikatan hidrogen dengan Arg136 dan ikatan sterik dengan Ala47. Hasil *docking* molekul terhadap ESBL CTX-M-15 menunjukkan bahwa semua senyawa turunan apigenin memiliki nilai energi afinitas yang lebih

rendah daripada ligan pembanding asam klavulanat (-6.3 Kkal/mol) baik turunan dengan substitusi glukosida maupun metil eter. Senyawa-senyawa ini sebagian besar membentuk ikatan hidrogen dengan Asn 104, Asn132, Lys234, Ser70, dan Ser130.

Hasil prediksi ADMET 10 senyawa turunan apigenin menunjukkan bahwa hanya senyawa turunan apigenin metil eter yang memenuhi persyaratan Caco-2 (nilai > 0,90) begitupun dengan nilai absorpsinya pada usus manusia, >80%. Hampir semua senyawa terdistribusi ke dalam jaringan secara moderat hingga rendah, kecuali vitexin yang memiliki nilai log VDss > 0,45 dan distribusinya pada sawar otak rendah (log BB < -1). Beberapa senyawa berperan sebagai inhibitor maupun substrat enzim metabolisme yaitu apigenin 7,4'-dimetil, apigenin trimetil eter, acacentin, genkwanin, dan hispidulin. Sebagian besar senyawa bukan substrat OCT2 ginjal kecuali apigenin 7,4'-dimetil dan apigenin trimetil eter serta memiliki rentang nilai klirens total sebesar -0,002 – 0,776. Semua senyawa turunan apigenin relatif tidak toksik namun senyawa apigenin trimetil eter menunjukkan toksisitas AMES sehingga berpotensi sebagai karsinogenik.

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa dari 10 senyawa uji turunan apigenin, hanya terdapat 4 senyawa yang memiliki potensi sebagai antibakteri berdasarkan interaksinya dengan DNA girase dan ESBL CTX-M-15 secara *in silico*. Keempat senyawa tersebut memiliki ADMET yang baik berdasarkan pkCSM *online* hanya saja terdapat senyawa yang termasuk substrat dan inhibitor enzim metabolik. Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar dalam proses pengembangan antibakteri baru yang berasal dari tumbuhan.

ABSTRACT

In Silico Study of Apigenin Derivatives as Antibacterial with *Escherichia coli* DNA Gyrase Targets and Broad Spectrum β -Lactamase (ESBL) and Prediction of Pharmacokinetic Properties and Toxicity

Maulid Tianora Kurnia Tsamara

The filtrate from the fermented passion fruit flesh (*Passiflora edulis*) showed antibacterial activity against ESBL-producing *E. coli* which has been proven through in vitro studies. The most abundant content in passion fruit is flavonoid compounds, such as apigenin which is reported to have antibacterial activity against *E. coli* bacteria through inhibition of DNA gyrase. This study aims to determine apigenin derived compounds that have antibacterial activity based on their affinity for DNA gyrase and ESBL CTX-M-15 in silico and determine whether the apigenin derivatives tested in silico have ADMET profiles that meet the requirements of pkCSM online. The interaction was carried out using the test ligand molecule docking method against DNA gyrase (PDB ID: 1KZN) and ESBL CTX-M-15 (PDB ID: 4HBU) using the Autodock Vina program. The docking results showed that 4 compounds, namely apigenin 4'-glucoside, hispidulin, genkwanin, and acacentin, had lower affinity energy values than the comparison ligands of levofloxacin to DNA gyrase and clavulanic acid to ESBL CTX-M-15. These four compounds have good absorption profiles, but acacentin, genkwanin, and hispidulin compounds are substrates and inhibitors of metabolic enzymes. It can be concluded that the four compounds have the potential as ESBL-producing antibacterials. All apigenin derivatives are relatively nontoxic.

Keywords: Apigenin derivatives, Antibacterial, DNA gyrase, ESBL CTX-M-15, ADMET

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS	iii
SURAT KESEDIAAN PUBLIKASI.....	iv
KATA PENGANTAR	v
RINGKASAN	vii
ABSTRACT.....	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
DAFTAR SINGKATAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1.Latar Belakang	1
1.2.Rumusan Masalah.....	5
1.3.Tujuan Penelitian	5
1.4.Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1.Tinjauan tentang Antibiotik	6
2.1.1. Definisi Antibiotik	6
2.1.2. Mekanisme Kerja Antibiotik.....	6
2.2.Tinjauan tentang Resistensi Antibiotik.....	9
2.2.1. Definisi Resistensi	9
2.2.2. Mekanisme Resistensi.....	9
2.2.3. Penyebaran Resistensi.....	10
2.3.Tinjauan tentang ESBL.....	10
2.3.1. Mekanisme Resistensi pada bakteri penghasil ESBL.....	11
2.4.Tinjauan tentang Markisa (<i>Passiflora edulis</i>).....	12
2.4.1. Deskripsi Tumbuhan.....	12
2.4.2. Penggunaan Tradisional Buah Markisa	13
2.4.3. Senyawa Kimia yang Terkandung dalam Markisa	14
2.5.Tinjauan tentang Senyawa Uji Turunan Apigenin.....	15

2.6. Tinjauan tentang Sifat Fisikokimia dan Hukum Lima Lipinski	17
2.7. Tinjauan tentang <i>in Silico</i>	17
2.7.1. Doking Molekul	18
2.7.2. Prediksi Profil ADMET	18
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL	21
3.1. Kerangka Konseptual	21
3.2. Skema Kerangka Konseptual	24
3.3. Hipotesis	25
BAB IV METODE PENELITIAN	26
4.1. Jenis Penelitian	26
4.2. Bahan dan Alat Penelitian	26
4.2.1. Bahan Penelitian	26
4.2.2. Alat Penelitian	26
4.3. Variabel Penelitian	27
4.3.1. Doking Molekul	27
4.3.2. Prediksi ADMET	27
4.4. Definisi Operasional	27
4.5. Kerangka Operasional	28
4.6. Prosedur Kerja	29
4.6.1. Pembuatan Struktur Senyawa	29
4.6.2. Penyiapan Reseptor	29
4.6.3. Penyiapan Ligan Asal	29
4.6.4. Penyiapan Ligan Uji	30
4.6.5. Validasi Metode <i>Docking</i> Molekul	30
4.6.6. Doking Molekul	31
4.6.7. Visualisasi Hasil Doking	31
4.6.8. Prediksi Sifat ADMET	31
4.7. Analisis Data	32
4.7.1. Analisis Hasil Doking	32
4.7.2. Analisis Hasil Prediksi Sifat ADMET	32
BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	33
5.1. Penentuan Sifat Fisikokimia	33
5.2. Docking Molekul	37
5.2.1. Validasi Metode Docking	37

5.2.2. Docking pada DNA Girase	39
5.2.3. Docking paa ESBL CTX-M-15	41
5.3.Prediksi Sifat ADMET.....	44
5.3.1. Parameter Absorpsi.....	44
5.3.2. Parameter Distribusi.....	46
5.3.3. Parameter Metabolisme	49
5.3.4. Parameter Ekskresi.....	50
5.3.5. Parameter Toksikologi	52
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	54
6.1 Kesimpulan	54
6.2 Saran	54
DAFTAR PUSTAKA	55
LAMPIRAN.....	61

DAFTAR TABEL

Tabel V.1 Hasil Kesesuaian Sifat Fisikokimia Senyawa Uji dan Pembanding	33
Tabel V.2 Hasil <i>docking</i> ligan terhadap reseptor DNA Girase.....	40
Tabel V.3 Hasil <i>docking</i> ligan terhadap reseptor ESBL CTX-M-15.....	43
Tabel V.4 Hasil Prediksi Sifat Absorpsi	44
Tabel V.5 Hasil Prediksi Sifat Distribusi.....	47
Tabel V.6 Hasil Prediksi Sifat Metabolisme.....	50
Tabel V.7 Hasil Prediksi Sifat Ekskresi.....	51
Tabel V.7 Hasil Prediksi Sifat Toksisitas	52

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.1 Struktur senyawa apigenin	3
Gambar 2.1 Struktur dinding sel bakteri.....	9
Gambar 2.2 Tempat kerja antibiotik pada bakteri	9
Gambar 2.3 Tumbuhan Markisa	13
Gambar 2.4 Struktur senyawa <i>schafftisida</i> , <i>isoschaftosida</i> , <i>vitexin</i> , dan <i>isovitexin</i>)	15
Gambar 2.5 Struktur senyawa turunan apigenin.....	16
Gambar 5.1 Diagram Berat Molekul (BM) senyawa apigenin dan turunannya	22
Gambar 5.2 Diagram LogP senyawa apigenin dan turunannya.....	22
Gambar 5.3 Diagram HBA dan HBD senyawa pembanding, apigenin dan turunannya.....	22
Gambar 5.4 Struktur apigenin dan apigenin trimetil eter dengan HBA dan HBD	22
Gambar 5.5 Posisi konformasi ligan asal klorobiosin pada DNA girase.....	22
Gambar 5.6 Posisi konformasi ligan asal klorobiosin pada ESBL CTX-M-15.....	22
Gambar 5.7 Konformasi ligan di tempat aktif pengikatan levofloksasin - DNA girase.....	22
Gambar 5.8 Konformasi ligan di tempat aktif pengikatan klavulanat - ESBL CTX-M-15...	22
Gambar 5.9 Interaksi apigenin 4-glukosida dengan residu asam amino ESBL CTX-M-15 .	22
Gambar 5.10 Diagram permeabilitas Caco-2 senyawa apigenin dan turunannya	22
Gambar 5.11 Diagram absorpsi usus manusia senyawa apigenin dan turunannya.....	22
Gambar 5.12 Diagram VDss senyawa apigenin dan turunannya	22
Gambar 5.13 Diagram permeabilitas BBB senyawa apigenin dan turunannya.....	22
Gambar 5.14 Diagram total klirens senyawa apigenin dan turunannya	22
Gambar 5.15 Diagram LD50 oral (tikus) senyawa apigenin dan turunannya	22

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
1	Bentuk struktur dua dimensi senyawa uji dan pembanding	61
2	Penyiapan reseptor	64
3	Nilai RMSD dari hasil validasi metode <i>docking</i>	65
4	Bentuk 3 D dan 2 D interaksi dari hasil <i>docking</i> ligan dengan DNA girase (PDB ID: 1KZN)	66
5	Bentuk interaksi dari hasil <i>docking</i> ligan dengan ESBL CTX-M-15 (PDB ID: 4HBU)	68

DAFTAR SINGKATAN

ADMET	= Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Ekskresi, dan Toksisitas
BBB	= <i>Blood Brain Barrier</i>
DPF	= <i>Docking</i> Parameter File
ESBL	= <i>Extended Spectrum Beta Lactamase</i>
GPF	= Grid Parameter File
LD ₅₀	= <i>Lethal Dose 50%</i>
OCT2	= <i>Organic Cation Transporter 2</i>
PDB	= Protein Data Bank
SMILES	= Simplified Molecular-Input Line-Entry System
VDss	= Volume Distribusi <i>steady state</i>