

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penemuan dan penggunaan antibiotik dalam bidang kesehatan berhasil menurunkan angka kesakitan dan kematian akibat infeksi bakteri yang merupakan salah satu masalah kesehatan terbesar di dunia terutama pada negara yang beriklim tropis seperti Indonesia. Keadaan ini mendorong penggunaan antibiotik yang tidak tepat dan berlebihan yang kemudian menimbulkan masalah baru yaitu terjadinya resistensi (Hilda dan Berliana, 2015).

Resistensi adalah kemampuan bakteri untuk menetralkan dan menurunkan daya kerja dari antibiotika, sehingga terjadi penurunan kemampuan obat antibiotika terhadap suatu bakteri. Hal ini dapat menyebabkan terjadinya kegagalan terapi infeksi oleh suatu antibiotika. Perkembangan resistensi bakteri terhadap suatu antibiotika dipengaruhi oleh beberapa hal, terutama intensitas penggunaan antibiotika di suatu wilayah. Tidak terkendalinya penggunaan antibiotika dapat meningkatkan terjadinya resistensi bakteri (Hilda dan Berliana, 2015). Terjadinya resistensi bakteri dapat dipengaruhi oleh aspek biokimia dan aspek genetik dari suatu bakteri. Aspek biokimia meliputi proses hidrolisis dan proses oksidasi-reduksi yang dilakukan oleh suatu enzim pada bakteri terhadap antibiotika yang menyebabkan destruksi obat sehingga terjadi inaktivasi antibiotika. Sedangkan resistensi bakteri yang dipengaruhi oleh aspek genetik disebabkan adanya mutasi, seperti mutasi pada gen yang mengkode molekul target dari antibiotika tertentu. Selain itu, resistensi bakteri juga dapat disebabkan oleh adanya transfer horizontal materi genetik. Gen resistensi antibiotika dapat ditransfer antar bakteri melalui mekanisme yang berbeda seperti konjugasi, transformasi, atau transduksi (Shaikh *et al.* 2014).

Resistensi bakteri terhadap antibiotika telah banyak dilaporkan, salah satu di antaranya adalah bakteri ESBL (*Extended Spectrum Beta Lactamase*). Bakteri ESBL adalah bakteri yang menghasilkan enzim β -laktamase, yaitu enzim yang dapat menghidrolisis golongan antibiotik β -laktam sehingga dapat menyebabkan terjadinya resistensi terhadap antibiotika tersebut. ESBL dapat menghidrolisis golongan sefalosporin generasi ketiga seperti seftriakson dan dapat menghidrolisis golongan monobaktam seperti aztreonam (Normaliska *et al.*, 2019).

Salah satu bakteri yang menghasilkan ESBL adalah bakteri Gram negatif dari famili *Enterobacteriaceae*. Ada tiga spesies bakteri utama penghasil ESBL yang telah diidentifikasi yaitu *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, dan *Enterobacter cloacae* (Barrios *et al.*, 2017).

Escherichia coli (*E. coli*) merupakan bakteri yang paling banyak menghasilkan ESBL diantara bakteri famili *Enterobacteriaceae*. Terdapat tiga kelompok enzim ESBL, yakni: kelompok sulfhidril (SHV), temoneira (TEM), dan *cefotaximase-munich* (CTX-M) (Naelasari D. N. *et al.*, 2018). Varian enzim yang paling umum ditemukan adalah CTX-M (Shaikh *et al.* 2014).

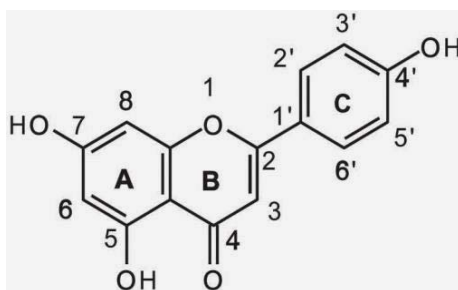
Enzim ESBL yang paling sering terdeteksi pada bakteri *E. coli* adalah enzim CTX-M-14 dan CTX-M-15 (Allocati *et al.*, 2013). Untuk mengatasi infeksi akibat bakteri *E. coli* penghasil ESBL selain dibutuhkan antibiotika yang dapat menekan pertumbuhan dan membasmi bakteri juga diperlukan senyawa yang mampu menghambat enzim β -laktamase. Antibakteri golongan kuinolon seperti levofloksasin dan siprofloksasin seringkali menjadi pilihan utama untuk infeksi yang disebabkan oleh bakteri *E. coli* (Terahara dan Nishiura, 2019). Antibakteri kuinolon dapat menghambat DNA girase bakteri. DNA girase dikenal sebagai target antibakteri karena dapat menekan pertumbuhan bakteri dengan cara menginduksi kematian bakteri (Lafitte, 2002). Sedangkan antibiotik yang dapat menghambat enzim β -laktamase adalah asam klavulanat. Asam klavulanat mengandung cincin β -laktam yang berbeda dari penisilin G dan penisilin V yang merupakan cincin oksazolin. Asam klavulanat dapat mengikat kuat β -laktamase di dekat situs aktifnya, sehingga dapat menghalangi aktivitas enzimatik dan meningkatkan efek antibakteri. Asam klavulanat saat ini dikombinasikan dengan amoksisilin (Carcione, 2021).

Banyaknya bakteri yang resisten terhadap antibiotika memerlukan usaha untuk mengatasinya. Salah satu cara untuk mengatasi masalah kurangnya antibiotika yang aktif terhadap bakteri yang telah resisten adalah dengan menemukan senyawa antibakteri baru. Sumber yang berpotensi menghasilkan antibakteri baru adalah bahan alam, terutama tumbuh-tumbuhan. Banyak senyawa bioaktif yang berasal dari tumbuhan terbukti memiliki aktivitas biologis, salah satunya aktivitas antibakteri. Salah satu tumbuhan yang menunjukkan aktivitas antibakteri adalah tumbuhan markisa (*Passiflora edulis*) (He *et al.*, 2020). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Nurrosyidah *et al.* (2020), filtrat fermentasi dari daging buah markisa menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* penghasil ESBL. Filtrat fermentasi dari buah markisa mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* dengan nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) sebesar 25% dan nilai konsentrasi bunuh minimum (KBM) sebesar 50%.

Passiflora edulis yang termasuk kedalam famili *Passifloraceae* merupakan salah satu tumbuhan yang memiliki banyak kandungan kimia yang sangat bermanfaat. Kandungan utama dalam *Passiflora edulis* antara lain: polifenol, triterpenoid, alkaloid, karotenoid, dan minyak

atsiri. Di antara senyawa tersebut, yang paling banyak ditemukan dalam tumbuhan markisa adalah senyawa luteolin, apigenin, kuersetin, dan turunannya yang merupakan senyawa flavonoid (He *et al.*, 2020). Golongan flavonoid yang terkandung di dalam tumbuhan markisa menunjukkan aktivitas antimikroba, seperti senyawa kuersetin (3,3',4',5,7-pentahidroksiflavon) dan apigenin (4',5,7-trihidroksiflavon) yang keduanya telah dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri dengan cara bekerja pada beberapa molekul target dalam sel (Wu *et al.*, 2008). Dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Adamczack *et al.* (2019), bakteri *E. coli* sensitif terhadap apigenin dengan nilai KHM sebesar 500 µg/mL yang termasuk ke dalam aktivitas antibakteri moderat (sedang). Aktivitas antibakteri apigenin terhadap bakteri *E. coli* dihasilkan melalui hambatan terhadap enzim DNA girase dan menghambat pembentukan biofilm.

Selain senyawa apigenin, pada buah markisa juga ditemukan bentuk glikosidanya, antara lain skhaftosida (apigenin 6-C-glukosida-8-C-arabinosida); isoskhaftosida (apigenin 8-C-glukosida-6-C-arabinosida); vitexin (apigenin 8-C-glukosida); dan isovitexin (apigenin 6-C-glukosida) (Taïwe dan Kuete, 2017; Tremmel *et al.*, 2021). Berdasarkan penelitian Quílez *et al.* (2010), senyawa isovitexin dan vitexin memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Helicobacter pylori*. Selain itu, hasil penelitian Basile *et al.* (1999) menunjukkan senyawa vitexin juga memiliki aktivitas terhadap bakteri *Proteus mirabilis* dengan nilai KHM sebesar 128 µg/ml. Sedangkan senyawa skhaftosida dan isoskhaftosida belum diketahui efek farmakologinya (Tremmel *et al.*, 2021).



Gambar 1.1 Struktur senyawa apigenin

Oleh karena itu, untuk mengetahui apakah apigenin dan turunannya mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* penghasil ESBL dilakukan uji aktivitas secara *in silico* melalui *docking* molekul terhadap reseptor DNA girase dari bakteri *E. coli* (PDB ID: 1KZN) dan ESBL CTX-M-15 pada bakteri *E. coli* (PDB ID: 4HBU) (www.rcsb.org) yang merupakan target kerja

dari bakteri *E. coli* penghasil ESBL. Protein dengan kode 1KZN adalah struktur kristal DNA girase sub unit B dari bakteri *E. coli* yang mengikat ligan klorobiosin. *Docking* molekul pada reseptor 1KZN menggunakan ligan pembanding levofloksasin yang menunjukkan adanya aktivitas antibakteri melalui interaksinya dengan DNA girase (Lafitte *et al.*, 2002). Protein dengan kode 4HBU adalah struktur kristal ESBL CTX-M-15 dari bakteri *E. coli* yang membentuk kompleks dengan avibaktam (Lahiri *et al.*, 2013). *Docking* molekul pada ESBL CTX-M-15 menggunakan ligan pembanding asam klavulanat yang telah diketahui dapat menghambat enzim β -laktamase (Carcione, 2021).

Senyawa turunan apigenin yang diuji adalah bentuk glukosida apigenin pada buah markisa yaitu skhaftosida (apigenin 6-C-glukosida-8-C-arabinosida); isoskhaftosida (apigenin 8-C-glukosida-6-C-arabinosida); vitexin (apigenin 8-C-glukosida); dan isovitexin (apigenin 6-C-glukosida). Selain senyawa turunan tersebut juga akan dilakukan pengujian terhadap 6 senyawa turunan apigenin yang dipilih berdasarkan perbedaan substituenya, antara lain adanya gugus glukosa pada atom oksigen (kelompok glukosida) dan gugus metil yang mensubstitusi hidroksi pada atom oksigen dan kerangka dasar flavonoid menjadi metoksi (kelompok apigenin metil eter). Keenam senyawa tersebut antara lain apigenin 4-glukosida; apigenin 7,4'-dimetil eter; apigenin trimetil eter; apigenin 4'-metil eter (Acacentin); apigenin-7-metil eter (genkwanin); dan 6-O-metilapigenin (hispidulin).

Docking molekul digunakan untuk mengetahui gambaran interaksi senyawa dengan reseptornya. *Docking* molekul merupakan salah satu cara simulasi secara komputasi untuk memprediksi ikatan antara obat (ligan) dan protein target (reseptor). Proses komputasi bertujuan untuk memahami dan memprediksi pengenalan molekul, baik secara struktural dengan melihat jenis interaksi ligan-reseptor maupun secara energetik dengan memprediksi nilai afinitasnya atau *binding affinity*. Untuk memprediksi energi afinitas interaksi ligan-reseptor dilakukan perhitungan energi interaksi yang dinyatakan dengan nilai *docking* (*docking score*) yang merupakan nilai energi bebas interaksi ligan-reseptor. Dengan meminimalkan fungsi energi akan diperoleh bentuk geometri yang optimal dan paling stabil yang mempresentasikan aktivitas biologis obat yang paling besar (Morris dan Wilby, 2008; Siswandono, 2016). Pada penelitian ini senyawa turunan apigenin yang terpilih sebagai senyawa antibakteri adalah senyawa uji yang memiliki afinitas yang lebih rendah dari afinitas ikatan antara obat pembanding dengan reseptor.

Senyawa yang mempunyai potensi sebagai antibakteri berdasarkan interaksinya terhadap DNA girase dan ESBL CTX-M-15, perlu dilakukan proses prediksi profil farmakokinetika dan

toksistasnya untuk mengetahui nilai prediksi absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan toksistas (ADMET) dengan benar yang nantinya memungkinkan pengembangan lebih lanjut dari senyawa tersebut sebagai antibakteri baru. Profil ADMET calon obat merupakan komponen penting dalam menentukan potensi keberhasilan senyawa baru dan ketika diintegrasikan ke dalam proses pengembangan obat diharapkan dapat mengurangi risiko terjadinya kegagalan. Pada percobaan ini digunakan pkCSM yang merupakan salah satu metode untuk memprediksi profil ADMET molekul kecil yang bergantung pada tanda tangan berbasis grafik (*graph-based signatures*) (Pires *et al.*, 2015).

1.2 Rumusan Masalah

- 1) Apakah 10 senyawa turunan apigenin memiliki aktivitas lebih tinggi dibanding levofloksasin berdasarkan afinitasnya secara *in silico* terhadap DNA girase bakteri *E. coli*?
- 2) Apakah 10 senyawa turunan apigenin memiliki aktivitas lebih tinggi dibanding asam klavulanat berdasarkan afinitasnya secara *in silico* terhadap ESBL CTX-M-15?
- 3) Apakah 10 senyawa turunan apigenin yang diuji secara *in silico* terhadap DNA girase dan ESBL CTX-M-15 mempunyai profil ADMET yang memenuhi syarat pkCSM *online*?

1.3 Tujuan Penelitian

- 1) Mengetahui bahwa 10 senyawa turunan apigenin memiliki aktivitas lebih tinggi dibanding levofloksasin berdasarkan afinitasnya secara *in silico* terhadap DNA girase bakteri *E. coli*.
- 2) Mengetahui bahwa 10 senyawa turunan apigenin memiliki aktivitas lebih tinggi dibanding asam klavulanat berdasarkan afinitasnya secara *in silico* terhadap ESBL CTX-M-15.
- 3) Memprediksi profil ADMET dari 10 senyawa turunan apigenin yang diuji secara *in silico* terhadap DNA girase dan ESBL CTX-M-15 memenuhi syarat pkCSM *online*.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini bermanfaat untuk dapat memberikan informasi terkait aktivitas senyawa turunan apigenin sebagai antibakteri terhadap *E. coli* penghasil ESBL melalui interaksinya dengan DNA girase sub unit B dan ESBL CTX-M-15 serta memberikan informasi terkait prediksi profil ADMETnya, dengan harapan dapat menjadi dasar dalam proses pengembangan antibakteri baru yang berasal dari tumbuhan.