

**STUDY *MOLECULAR DOCKING* SENYAWA GOLONGAN FLAVONOID
SEBAGAI INHIBITOR *RNA Polymerase Tuberculosis***

Laporan Tugas Akhir

N W TINO KARNO PUTRO

12171012



Universitas Bhakti Kencana

Fakultas Farmasi

Program Strata I Farmasi

Bandung

2021

LEMBAR PENGESAHAN

**STUDY MOLECULAR DOCKING SENYAWA GOLONGAN FLAVONOID
SEBAGAI INHIBITOR *RNA Polymerase Tuberculosis***

Laporan Tugas Akhir

Diajukan untuk memenuhi persyaratan kelulusan Sarjana Farmasi

N W TINO KARNO PUTRO

12171012

Bandung, 16 Juni 2021

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Serta,



(Apt. Deden Indra Dinata, M.Si)

NIDN. 0417097602

(Apt. Purwaniati, M.Si)

NIDN. 0403018206

ABSTRAK**STUDY MOLECULAR DOCKING SENYAWA GOLONGAN FLAVONOID
SEBAGAI INHIBITOR *RNA Polymerase Tuberculosis***

Oleh :
N. W TINO KARNO PUTRO
12171012

Tuberkulosis (TB) merupakan penyakit menular yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Bakteri ini mampu menyerang berbagai organ namun pada umumnya menyerang paru-paru. Flavonoid merupakan metabolit sekunder golongan polifenol, yang banyak ditemukan pada tanaman dan memiliki berbagai efek bioaktif seperti antivirus, anti-inflamasi, antioksidan, antidiabetes, antikanker, antibakteri, dan lain-lain. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah senyawa bioaktif flavonoid subgolongan flavonon dan flavonol berpotensi sebagai inhibitor *RNA Polymerase Tuberculosis*. Penelitian ini dilakukan menggunakan metode *in silico* dengan melakukan penambatan molekul atau *molecular docking* menggunakan aplikasi *Autodock* versi 4.2.3. Penambatan molekul dilakukan untuk menguji nilai energi bebas ikatan (ΔG), konstanta inhibisi (K_i), dan ikatan hidrogen. Hasil simulasi penambatan menunjukkan dari 12 senyawa uji, senyawa dengan kode L2, L3, dan L4 memiliki interaksi terhadap target reseptor *RNA Polymerase Tuberculosis* namun interaksi yang dihasilkan sangat lemah. Kesimpulan penelitian ini adalah bahwa senyawa bioaktif flavonoid dari golongan flavonon dan flavonol memiliki interaksi pada protein target namun dengan keadaan yang sangat lemah terhadap *RNA Polymerase Tuberculosis*.

Kata Kunci : *Docking*, Flavonoid, *RNA Polymerase*, Tuberculosis

ABSTRACT***STUDY OF MOLECULAR DOCKING OF FLAVONOID COMPOUNDS AS INHIBITORS OF RNA Polymerase Tuberculosis***

By:

*N. WTINO KARNO PUTRO**12171012*

Tuberculosis (TB) is an infectious disease caused by the bacterium Mycobacterium tuberculosis. These bacteria are able to attack various organs but generally attack the lungs. Flavonoids are secondary metabolites of polyphenols, which are widely found in plants and have various bioactive effects such as antiviral, anti-inflammatory, antioxidant, antidiabetic, anticancer, antibacterial, and others. This study aims to determine whether the flavonoid bioactive compounds of the flavonone and flavonol groups have the potential as inhibitors of RNA Polymerase Tuberculosis. This research was conducted using the in silico method by performing molecular docking or docking using the Autodock application version 4.2.3. Molecular cleavage was carried out to test the value of bond free energy (ΔG), inhibition constant (K_i), hydrogen bonding, and amino acid residues. The results of the tethering simulation showed that of the 12 test compounds, the compounds coded L2, L3, and L4 had interactions with the RNA Polymerase Tuberculosis receptor target, but the interactions produced were very weak. The conclusion of this study is that flavonoid bioactive compounds from the flavonone and flavonol groups have interactions with target proteins but in very weak conditions against RNA Polymerase Tuberculosis.

Keywords: Docking, Flavonoid, RNA Polymerase, Tuberculosis

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr.Wb.

Segala puji bagi Allah SWT yang telah memberikan berkah, rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Studi *Molecular Docking* dan *Molecular Dinamic* Senyawa Golongan Flavonoid Sebagai Inhibitor *RNA Polymerase Tuberculosis*” dengan baik dan tepat waktu. Shalawat serta salam senantiasa tercurah kepada junjungan Nabi kita semua Nabi Muhammad SAW.

Penyusunan skripsi ini bertujuan untuk memenuhi salah satu persyaratan kelulusan Program Strata 1 Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Bhakti Kencana Bandung. Penulis sadari dalam penyusunan skripsi ini terselesaikan atas bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Untuk itu, penulis sampaikan terimakasih yang tidak terhingga kepada :

1. Bapak H. Mulyana, SH., M.Pd., MH.Kes selaku ketua Yayasan Adhi Guna Kencana
2. Rektor Universitas Bhakti Kencana Bapak Dr. apt. Entris Sutrisno, S.Farm., MH.Kes.
3. Ibu Dr. apt. Patonah, M.Si selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Bhakti Kencana
4. Bapak Apt. Aris Suhadirman, M.Si selaku Kepala Program Studi S1 Farmasi Universitas Bhakti Kencana
5. Bapak Apt. Deden Indra Dinata, M.Si selaku pembimbing utama yang telah memerikan arahan serta bimbingan dengan sangat baik.
6. Ibu Apt. Purwaniati, M.Si. selaku pembimbing serta yang telah memberikan arahan serta bimbingan dengan sangat baik.
7. Dosen – dosen yang telah memberikan ilmu pengetahuan selama masa perkuliahan yang sangat bermanfaat
8. Orang tua dan keluarga yang selalu memberikan dukungan moral, materil serta motivasi dan doanya
9. Teman – teman satu angkatan yang telah memberikan dukungan dan semangat untuk menyelesaikan Tugas Akhir ini.

Rasa hormat dan ucapan terimakasih kepada semua pihak atas segala doa dan dukungannya semoga Allah SWT membalas semua kebaikan yang sudah diberikan kepada penulis. Aamiin.

Penulis menyadari skripsi ini masih jauh dari sempurna baik penyajian materi maupun penulisannya. Oleh karena itu, penulis mengharapkan adanya kritik dan saran yang

membangun demi perbaikan dan penyempurnaan penelitian ini dikemudian hari. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat untuk pembaca dan untuk penelitian selanjutnya.

Wassalamu'alaikum Wr.Wb

Bandung, Juni 2021

DAFTAR ISI

ABSTRACT	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
DAFTAR ISI.....	ii
DAFTAR GAMBAR DAN ILUSTRASI.....	iv
DAFTAR TABEL.....	v
DAFTAR LAMPIRAN	vi
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG.....	vii
BAB I. PENDAHULUAN	1
I.1. Latar Belakang	1
I.2. Rumusan Masalah.....	3
I.3. Tujuan Penelitian.....	3
I.4. Manfaat Penelitain	4
I.5. Hipotesis Penelitian	4
I.6. Tempat dan Waktu Penelitian	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
II.1. Tuberculosis (TB).....	5
II.1.1. Pengertian Tuberculosis	5
II.1.2. Etiologi Tuberculosis.....	5
II.1.3. Epidemiologi Tuberculosis	6
II.1.4. Prevalensi Tuberculosis	6
II.1.5. Faktor Resiko.....	7
II.1.6. Jenis-Jenis Tuberculosis	7
II.2. Flavonoid.....	8
II.2.1. Klasifikasi Flavonoid.....	9
II.2.2. Golongan Flavonoid	10
II.3. RNA Polymerase	13
II.4. Perancangan Obat Baru Secara <i>In Silico</i>.....	14
II.5. Optimasi Geometri.....	15
II.6. HOMO - LUMO	17
II.7. Penambatan Molekul	17
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN.....	19
BAB IV. ALAT DAN BAHAN	20
IV.1. Alat	20
IV.2. Bahan.....	20

BAB V. PROSEDUR PENELITIAN	22
V.1. Persiapan Protein Target	22
V.2. Persiapan Ligan	22
V.3. Optimasi Geometri	22
V.4. Validasi Metode <i>Docking</i>	22
V.5. <i>Docking</i> Senyawa Uji	22
V.6. Analisis Hasil Docking	22
BAB VI. HASIL DAN PEMBAHASAN	23
VI.1. Persiapan Protein Target	23
VI.2. Persiapan Ligan	24
VI.3. Penentuan Parameter Sifat Fisikokimia	24
DAFTAR PUSTAKA	34
LAMPIRAN	40

DAFTAR GAMBAR DAN ILUSTRASI

Gambar 2. 1 Struktur kimia dan klasifikasi flavonoid (Wang <i>et al.</i> , 2018)	9
Gambar 4. 1Protein BCL-2 (RCSB, 2017).....	20
Gambar 6. 1 (A) Komplek Protein RNAP-TB dan (B) Ligan Alami	23
Gambar 6. 2 Ligan Alami Sebelum dan Sesudah Validasi Docking.....	29
Gambar 6. 3 Visualisasi interaksi ligan alami – protein 5UH6.....	31

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Struktur Flavonoid Golongan Flavonon.....	10
Tabel 2. 2 Struktur Flavonoid Golongan Flavonol.....	12
Tabel 6. 1 Sifat Fisikokimia Ligan Uji.....	25
Tabel 6. 2 Total Energi Senyawa Uji Hasil Optimasi	27
Tabel 6. 3 HOMO-LUMO dan Gap Energi Senywa Uji.....	27
Tabel 6. 4 Parameter Docking yang digunakan saat Validasi	29
Tabel 6. 5 Interaksi Ikatan Ligan Alami dengan Reseptor	30
Tabel 6. 6 Hasil Docking Ligan Alami dan Senyawa Uji dari Flavonoid.....	32

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Pemodelan Struktur Ligan Uji Secara 2D dan 3D	40
Lampiran 2 Data visualisasi dan dan analisis interaksi antara ligan uji dengan reseptor RNA Poymerase dari TB	43

DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

SINGKATAN	NAMA
TB	<i>Tuberculosis</i>
HBC	<i>High Burden Countries</i>
HIV	<i>Human Immunodeficiency Virus</i>
MDR-TB	<i>Multi Drug Resistant Tuberculosis</i>
ARTI	<i>Annual Risk Tuberculosis Infection</i>
BCG	<i>Bacillus Calmette-Guérin</i>
INH	<i>Isonikotinihidrazida</i>
RNA	<i>Ribonucleotida Acid</i>
RNAP	<i>RNA Polimerase</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
APAS	<i>Asam Para Amino Salisila</i>
ADMET	<i>Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion dan Toxicology</i>
CDC	<i>Centers for Disease Control</i>
BTA	<i>Bakteri Tahan Asam</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>
ITBL	<i>Infeksi Tuberculosis Laten</i>
AIDS	<i>Acquired Immunodeficiency Syndrome</i>
TNF- α	<i>Tumor Necrosis Factor alpha</i>
FNAB	<i>Fine needle aspiration biopsy</i>
ARDS	<i>Acute Respiratory Distress Syndrome</i>
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
SSP	<i>Sistem Saraf Pusat</i>
CSS	<i>Cairan Cerebrospinal</i>
ZN	<i>Ziehl-Neelsen</i>
LK	<i>Lesi Kulit</i>
OAT	<i>Obat Anti Tuberculosis</i>
Mtb	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
Rif	<i>Rifampisin</i>
PDB	<i>Protein Data Bank</i>

RAM	<i>Random Access Memory</i>
HOMO	<i>Highest Occupied Molecular Orbital</i>
LUMO	<i>Highest Unoccupied Molecular Orbital</i>
RMSD	<i>Root Mean Square Deviation</i>
CADD	<i>Computer Aided Drug Design</i>
SBDD	<i>Structure-Based Drug Design</i>
LBDD	<i>Ligand-Based Drug Design</i>
HKSA	<i>Hubungan Kuantitatif Struktur dan Aktivitas</i>

BAB I. PENDAHULUAN

I.1. Latar Belakang

Tuberkulosis adalah penyakit menular berbahaya, yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium Tuberculosis* (Supartini & Hindarto, 2016). Infeksi yang disebabkan oleh bakteri tersebut merupakan penyakit infeksi yang sulit disembuhkan. Hal ini dikarenakan dinding sel dari *Mycobacterium tuberculosis* kaya akan lipid/ lemak, yang menyebabkan senyawa antibiotik tidak mudah menembusnya. Sel-sel dari *Mycobacterium tuberculosis* juga tergolong lambat berkembang dan menjadi *dormant* (tidak aktif). Pertumbuhan sel-sel *Mycobacterium tuberculosis* tergantung pada seberapa cepat pembelahan selnya (Rinanda, 2015).

Pada tahun 2017 Global Tuberculosis Report mengungkapkan perkiraan kasus TB didunia pada tahun 2016 mencapai 120 kasus per 100.000 penduduk. Indonesia merupakan salah satu dari lima Negara dengan jumlah kasus TB tertinggi, Selain Indonesia ada India, china, philipina, dan Pakistan. Kawasan asia tenggara pada tahun 2016 menjadi kawasan dengan presentase kasus TB terbesar mencapai 45%, Dimana Indonesia menjadi salah satu didalamnya. Sedangkan kawasan Afrika mencapai 25% nya. Menurut badan kesehatan dunia ada 3 indikator untuk mendefinisikan negara dengan beban tinggi atau *High Burden Countries* (HBC) yaitu TB, TB/HIV, dan MDR-TB. Ada 48 negara yang termasuk ke dalam daftar tersebut. Indonesia juga masuk ke dalam daftar HBC pada indikator ke-3 bersamaan dengan 13 negara lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa Indonesia memiliki permasalahan besar dalam menghadapi penyakit ini (Kementerian Kesehatan RI, 2018).

Di Indonesia pada tahun 2017 terkonfirmasi sebanyak 420.994 kasus baru penyakit TB. Survei Prevalensi tuberculosis menyatakan bahwa prevalensi pada laki-laki 3 kali lebih tinggi dibandingkan pada perempuan. Partisipan pada survei ini diketahui bahwa dari seluruh partisipan laki-laki sebanyak 68,5% adalah perokok dan hanya 3,7% partisipan perempuan yang merokok (Kementerian Kesehatan RI, 2018).

Indonesia termasuk Negara yang memiliki resiko infeksi tahunan yang cukup tinggi (*Annual Risk Tuberculosis Infection = ARTI*). Pada Penelitian A. Bachtiar (2008) tentang resiko infeksi tahunan di Provinsi Sumatera Barat dengan melakukan survey terhadap siswa Sekolah Dasar kelas 1 hingga kelas 3, dari 72 Sekolah Dasar. Mengungkapkan bahwa diantara siswa Sekolah Dasar (baik yang memiliki atau tidak bekas imunisasi BCG) didapatkan persentase ARTI dengan ~~range~~ rentang 0,8–1,3% dan 0,9–1,4% (Bachtiar *et al.*, 2008).

Infeksi oleh *Mycobacterium Tuberculosis* juga sangat mudah menimbulkan resistensi terhadap suatu obat, itu sebabnya penggunaan obat TB biasanya lebih dari satu macam untuk mencegah terjadinya resistensi pada obat (Katzung,, *et al.*, 2013). Obat yang biasanya menjadi kombinasi pengobatan tuberculosis yaitu, etambutol, rifampisin, Isoniazid (INH), pirazinamid dan streptomisin (Oliviera, 2016).

Isoniazid dan rifampisin merupakan kombinasi paling sering diberikan karena yang paling efektif, dan dapat menyembuhkan 95-98 % kasus TB yang diberikan rutin kepada pasien selama 9 bulan. Oleh karena itu kombinasi tersebut menjadi obat lini pertama pengobatan TB / *first line drug* (Katzung, *et al.*, 2013). Rifampisin memiliki karakteristik lipofilik yang dapat memudahkan difusi obat masuk dalam membran sel. Aktivitas bakterisid obat ini bergantung pada kemampuannya untuk menghambat transkripsi *Ribonucleotida Acid* (RNA). Bekerja dengan cara berikatan pada beta subunit dari RNA *Polimerase* (RNAP) yang bergantung pada DNA sehingga menghambat transkripsi RNA. Obat ini juga dapat menghambat inisiasi pembentukan rantai RNA dan juga elongasinya (Oliviera, 2016).

Pada pengobatan TB lini kedua (*second line drug*) obat yang digunakan seperti ethionamida, kanamisin, amikasin, asam para-amino salisilat (PAS), ciprofloxacin, clofazimin, levofloxacin, capreomisin, rifabutin, rifampisin dan floroquinoline. Masalah yang biasa terjadi pada pengobatan ini yaitu timbulnya resistensi terhadap obat yang sering digunakan oleh pasien dan dengan penggunaan dengan tempo yang lama (Katzung,, *et al.*, 2013).

Berbagai upaya telah dilakukan untuk menemukan obat baru dalam diagnosis, pengobatan dan vaksin TB. Tujuan akhir dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kemungkinan obat TB yang efektif untuk mengakhiri epidemi TB global. Salah satu upaya penemuan obat baru untuk mengobati infeksi yang disebabkan mikroorganisme adalah dengan penapisan senyawa bioaktif yang berasal dari bahan alam. Flavonoid merupakan salah satu senyawa aktif biologis alami yang memiliki sifat antibakteri, antijamur, anti virus, anti oksidan, anti inflamasi, anti alergi dan anti tumor. Sejumlah penelitian telah dilakukan, dan dilaporkan bahwa flavonoid tersebut di atas dapat digunakan secara efektif sebagai agen antibakteri terhadap bakteri yang resistan terhadap obat (Wardaniati & Azhari Herli, 2018).

Dari hal di atas maka penelitian ini ditujukan untuk mempelajari interaksi senyawa bioaktif dari golongan flavonoid dengan target RNA *polymerase* dari *Mycobacterium tuberculosis* yang dilakukan dengan bantuan aplikasi perangkat lunak dari komputer (*in silico*). Metode *in silico* ini biasa digunakan dalam proses penapisan awal senyawa bioaktif untuk kandidat obat yang

akan digunakan untuk pembuatan obat baru nantinya. Untuk mengetahui besarnya interaksi senyawa bioaktif dengan target dilakukan dengan pendekatan penambatan molekul (*molecular docking*). Penambatan molekul (*molecular docking*) sebagai proses penapisan awal antara molekul senyawa bioaktif yang berikatan dengan sisi aktif RNA *polymerase Mycobacterium tuberculosis* (Wardaniati & Azhari Herli, 2018).

Molecular docking atau penambatan molekul adalah prosedur komputasional yang memprediksi ikatan non kovalen dari mikromolekul (protein target) dengan molekul kecil (ligan) secara efisien. Tujuan utama dari penambatan molekul adalah memprediksi komformasi ikatan berupa posisi dan jenis ikatan serta afinitas ikatan berdasarkan energi ikatan. Prediksi ini dinilai penting bagi pengembangan dari senyawa-senyawa yang diduga memiliki aktivitas biologis untuk digunakan sebagai senyawa penuntun bagi perkembangan obat selanjutnya (Dari *et al.*, 2010).

I.2. Rumusan Masalah

Dalam latar belakang di atas yang menjadi rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Bagaimana hasil penambatan molekul senyawa bioaktif flavonoid terhadap protein target *RNA polymerase* dari *Mycobacterium tuberculosis*?
2. Bagaimana stabilitas interaksi ikatan senyawa flavonoid dengan protein 5UH6 pada keadaan yang mendekati fisiologis tubuh?

I.3. Tujuan Penelitian

Tujuan yang diinginkan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Menentukan interaksi penambatan molekul dengan *molecular docking* antara senyawa bioaktif turunan flavonoid terhadap target *RNA polymerase* dari *Mycobacterium tuberculosis* dengan pembandingan rifampisin.
2. Menentukan stabilitas interaksi ikatan antara senyawa flavonoid dengan protein 5UH6 pada keadaan yang mendekati fisiologis tubuh.

I.4. Manfaat Penelitian

Memberikan pengetahuan dan data tambahan dalam penemuan obat baru dari bahan alam untuk pengobatan TB.

I.5. Hipotesis Penelitian

Menurut data yang diambil dari berbagai penelitian, beberapa senyawa bioaktif flavonoid diketahui memiliki aktifitas sebagai antibakteri, berdasarkan hal tersebut diharapkan senyawa ini dapat digunakan sebagai kandidat obat antibakteri baru pada bakteri yang telah resisten terutama TB.

I.6. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Medisinal Universitas Bhakti Kencana Bandung pada bulan Februari sampai dengan selesai.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

II.1. Tuberculosis (TB)

II.1.1. Pengertian Tuberculosis

Tuberculosis (TB) adalah suatu penyakit menular yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium Tuberculosis*, yang dapat menjangkit berbagai organ, terutama paru-paru. Penyakit ini bila tidak diobati atau pengobatan yang tidak tuntas dapat menimbulkan komplikasi berbahaya hingga menyebabkan kematian. TB umumnya menyerang paru-paru, namun pada beberapa kasus dapat menyerang bagian tubuh lain. Bergantung pada organ yang terinfeksi, itu pula yang membedakan jenis-jenis TB. Contoh jenis TB yang tidak menyerang paru-paru disebut dengan *Extrapulmonary TB*. Selain kategorisasi jenis TB berdasarkan organ yang terinfeksi, ada juga kategorisasi TB aktif dan TB *laten*. TB aktif menular dan menunjukkan gejala yang cukup signifikan. Namun di sisi lain, TB *laten* tidak menunjukkan gejala dan tidak menular (Trifiana, 2020).

II.1.2. Etiologi Tuberculosis

Mycobacterium tuberculosis termasuk jenis bakteri berbentuk batang dengan panjang 1-4 μm dan tebal 0,3-0,6 μm . Sebagian besar komponen *Mycobacterium tuberculosis* berupa *lipid* atau lemak yang menyebabkan bakteri dapat bertahan terhadap zat asam dan zat kimia. Bakteri TB bersifat *aerob* yang membutuhkan oksigen untuk kelangsungan hidupnya. *Mycobacterium tuberculosis* banyak ditemukan di daerah yang memiliki kandungan oksigen tinggi. Daerah tersebut menjadi tempat yang kondusif untuk penyakit TB. Bakteri ini memiliki kemampuan tumbuh yang lambat, koloni akan tampak setelah kurang dari dua minggu atau bahkan setelah 6-8 minggu. Lingkungan yang optimal untuk kelangsungan hidup bakteri ini pada suhu 37°C dengan kelembaban 70%. Bakteri tersebut tidak dapat tumbuh pada suhu 25°C atau lebih dari 40°C (CDC, 2015).

Mycobacterium tuberculosis termasuk kedalam keluarga *Mycobacteriaceae* yang mempunyai berbagai genus, satu diantaranya adalah *Mycobacterium*, yang salah satu spesiesnya adalah *Mycobacterium tuberculosis*. Basil TB mempunyai dinding sel *lipoid* sehingga tahan asam, oleh karena itu, bakteri ini disebut Basil Tahan Asam (BTA). Basil TB juga rentan terhadap panas dan basah, sehingga dalam 2 menit saja basil TB yang berada dalam lingkungan basah atau lingkungan bersu 100°C bakteri tersebut akan mati. Basil TB juga akan mati dalam beberapa menit bila terkena alkohol 70% atau lisol 5% (Villela, 2013).

Pada penderita TB aktif umumnya menunjukkan gejala yang signifikan, karena bakteri yang terdapat dalam tubuh penderita sedang dalam kondisi aktif. Beberapa gejala yang mungkin terlihat adalah sebagai berikut :

- a) Demam tinggi
- b) Mengigil
- c) Keringat pada malam hari
- d) Hilang nafsu makan
- e) Penurunan berat badan
- f) Kelelahan

II.1.3. Epidemiologi Tuberculosis

Tuberculosis sudah menjadi suatu epidemi global pada 2015, diperkirakan ada 10,4 juta kasus baru tuberculosis di seluruh dunia, di mana 5,9 juta (56%) adalah laki-laki dan 3,5 juta (34%) adalah perempuan. Di antara semua kasus baru tuberculosis, anak berjumlah 1 juta (10%) dan pembawa HIV berjumlah 1,2 juta (11%). Selain itu, diperkirakan ada 480.000 baru Beberapa kasus tuberculosis yang resistan terhadap obat (WHO, 2017). TB erat kaitannya dengan faktor sosial ekonomi seperti kemiskinan, malnutrisi, perampasan, kepadatan penduduk, buta huruf, dan kurangnya akses ke fasilitas kesehatan. Di negara maju, penyakit ini sebagian besar telah dikendalikan; TB adalah tantangan baru yang dihadapi tenaga medis. Peningkatan imigrasi di daerah yang memiliki prevalensi tinggi, penggunaan terapi immunosupresif yang lebih kuat, dan sindrom imunodefisiensi yang didapat epidemi telah menyebabkan kambuhnya penyakit di daerah yang telah terkendali (Millet *et al.*, 2013).

II.1.4. Prevalensi Tuberculosis

Di Indonesia, prevalensi tuberculosis bervariasi dari daerah ke daerah. Dibandingkan dengan daerah lain di Kalimantan Barat, prevalensi tuberculosis tergolong tinggi. 80% kawasan di sekitar Taman Nasional Gurungpalong terletak di Kabupaten Kayong Utara Kalimantan Barat (Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, 2019). Keadaan ini menjadikan TB sebagai salah satu penyebab utama kematian terbanyak. Faktor ekonomi, lingkungan yang bersih dan hidup dengan penderita tuberculosis menjadi penyebab utama meningkatnya prevalensi TB di Indonesia (Suharyo, 2013)

II.1.5. Faktor Resiko

Faktor resiko terpenting dalam perkembangan TB aktif adalah status imunologis. Identifikasi resiko berkembangnya ITBL menjadi penyakit TB dibagi menjadi dua, yaitu orang yang memiliki peningkatan kemungkinan paparan terhadap orang dengan penyakit TB dan orang dengan kondisi klinis atau faktor lain yang berhubungan dengan peningkatan risiko progresi ITBL menjadi penyakit TB (CDC, 2015).

Orang dengan risiko paparan terhadap orang dengan penyakit TB antara lain: (CDC, 2015)

- a) Kontak dekat dengan orang yang terkonfirmasi TB.
- b) Berada dalam daerah dengan resiko TB tinggi..
- c) Orang yang bekerja atau tinggal di fasilitas atau institusi dengan risiko tinggi TB, seperti rumah sakit yang melayani pasien TB, tunawisma, rumah perawatan, atau tempat tinggal pasien dengan infeksi HIV/ AIDS (*Human Immunodeficiency Virus/ Acquired Immunodeficiency Syndrome*).

Kondisi dan faktor- faktor yang mempengaruhi progres TB laten menjadi TB aktif, meliputi: (CDC, 2015)

- a) Infeksi HIV.
- b) Penyalahgunaan obat injeksi.
- c) Mempunyai riwayat TB.
- d) Berat badan rendah.
- e) Kondisi medis seperti: silikosis, diabetes melitus, gagal ginjal kronis, gastrektomi, pintas jejunioileal, transplan organ, kanker kepala dan leher, kondisi penggunaan kortikosteroid atau immunosupresif lain seperti antagonis TNF- α .
- f) Konversi tes kulit tuberkulin yang baru (peningkatan ≥ 10 mm dari nilai dasar tes sebelumnya dalam 2 tahun).
- g) Anak dengan usia di bawah usia 5 tahun yang terkonfirmasi positif TB

II.1.6. Jenis-Jenis Tuberculosis

Secara umum, tuberculosis dibagi menjadi dua jenis menurut status bakteri dalam tubuh. Infeksi tuberculosis laten (ITBL) adalah jenis tuberculosis di mana respon imun terhadap stimulasi antigen *Mycobacterium tuberculosis* bertahan tanpa bukti klinis. Dengan kata lain, pasien tidak memiliki gejala dan tidak ada ketidaknyamanan. Bakteri tuberculosis tidak aktif didalam tubuh penderita. Oleh karena itu, pasien tidak dapat menularkannya kepada orang lain. Namun, tuberculosis laten dapat berubah menjadi tuberculosis aktif di kemudian hari, yang dapat ditularkan ke orang lain. TB aktif merupakan jenis yang sering teridentifikasi kasus

penularannya. TB aktif merupakan TB yang menimbulkan gejala dan dapat menyebabkan penularan. Gejala umum yang dapat ditimbulkan dari TB aktif ini meliputi batuk lebih dari tiga minggu, keringat malam, nyeri dada, dan penurunan berat badan; penderita tuberkulosis aktif akan menyebarkan bakteri ke orang lain melalui percikan air liur saat batuk, bersin atau berbicara. (Wijaya, 2017).

Tuberculosis aktif dibagi menjadi beberapa jenis berdasarkan bagian tubuh yang terinfeksi seperti TB paru (Vilella, 2013), limfadenitis (Mohapatra & Janmeja, 2009), spondilitis (tulang) (Paramarta *et al.*, 2016), milier (W *et al.*, 2018), urogenital (Lahouar *et al.*, 2020), saluran pencernaan (World Health Organization, 2020), meningitis (Sulistyowati *et al.*, 2019), peritonial (Sri Maryani Sutadi, 2015), dan kulit (Anggraini *et al.*, 2019).

II.2. Flavonoid

Flavonoid merupakan metabolit sekunder dari polifenol, yang banyak ditemukan pada tanaman serta makanan dan memiliki berbagai efek bioaktif seperti antivirus, anti-inflamasi, dan antioksidan, kardioprotektif, antidiabetes, antikanker, antipenuaan, antioksidan, dan lain-lain (Wang *et al.*, 2016). Flavonoid merupakan senyawa polifenol dengan konfigurasi C6-C3-C6 dengan 15 atom karbon yang berarti kerangka karbonya tersusun dari dua gugus C6. (Cincin benzena tersubstitusi) dihubungkan oleh rantai alifatik tiga karbon (Arifin & Ibrahim, 2018).

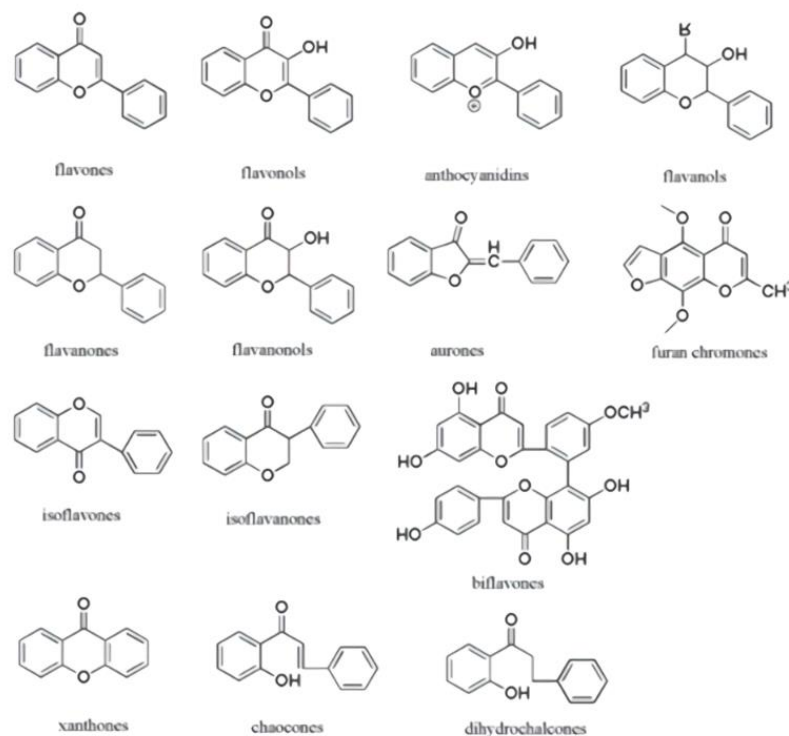
Berdasarkan strukturnya, flavonoid memiliki dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh tiga atom karbon membentuk cincin ketiga (Zirconia *et al.*, 2016). Flavonoid merupakan gugus dengan berat molekul rendah yang didasarkan pada inti 2-fenilkromon, yang merupakan turunan asam asetat / fenilalanin yang dibiosintesis melalui jalur oksalat (Arifin & Ibrahim, 2018). Flavonoid termasuk senyawa polar, sehingga flavonoid dapat larut dengan baik dalam pelarut polar, seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetilformamida, dan lain-lain. Karena flavonoid digabungkan dalam bentuk glikosida, campuran pelarut ini dan air merupakan pelarut yang baik untuk glikosida flavonoid. Dalam bentuk aglikon seperti flavonoid dan flavonol, flavanon lebih larut dalam pelarut kloroform dan eter (Munhoz *et al.*, 2014).

Ada beberapa subkategori flavonoid yaitu flavanol, flavanon, flavonoid, isoflavon, antosianin dan flavonol. Subkelas flavonoid didasarkan pada sifat struktural. Flavanol ditemukan dalam anggur merah dan anggur merah (katekin), flavanon ditemukan dalam makanan jeruk (pralimonin), flavonoid (exapigenin) ditemukan dalam bumbu daun hijau, dan isoform ditemukan dalam makanan kedelai. Flavonoid katekin terutama ada di teh hijau dan teh hitam dan anggur

merah, sedangkan antosianin ditemukan dalam stroberi dan buah beri, anggur, anggur, dan teh lainnya (Arifin & Ibrahim, 2018).

II.2.1. Klasifikasi Flavonoid

Secara tradisional, flavonoid diklasifikasikan menurut tingkat oksidasinya, anularitas cincin C, dan posisi pengikatan cincin B (Gambar 2.1). Flavonoid dan flavonol mengandung senyawa terbanyak dan merupakan bagian dari flavonoid, yaitu 2-benzo- γ -pyron. Misalnya, flavonol quercetin paling sering dipelajari. Flavonoid dan flavanol memiliki ikatan C jenuh dan biasanya ditemukan pada tumbuhan bersama dengan flavonoid dan flavonol. Isoflavon, seperti daidzein, adalah senyawa 3-fenilkromon. Sebagai prekursor utama biosintesis flavonoid, garam kalium adalah isomer terbuka cincin-C dari dihidroflavonoid, yang bertanggung jawab atas penampilan warna tanaman. Struktur flavonoid adalah cincin C beranggota 5 dari turunan benzofuran. Antosianin adalah pigmen kromium penting dan ada dalam bentuk ion untuk memberi karakter warna pada tumbuhan. Flavanol adalah produk reduksi dihidroflavonol, terutama flavan-3-ol yang didistribusikan pada sel tumbuhan, juga dikenal sebagai katekin. Namun ada flavonoid lain yang tidak memiliki kerangka C6-C3-C6, seperti diflavon, kromon, furan, dan santon. Glikosida dengan kelas ikat yang berbeda mendominasi bentuk flavonoid yang ada. Pemilihan sisi glikosilasi berkaitan dengan struktur aglikon C2 = C3 (Wang *et al.*, 2018).



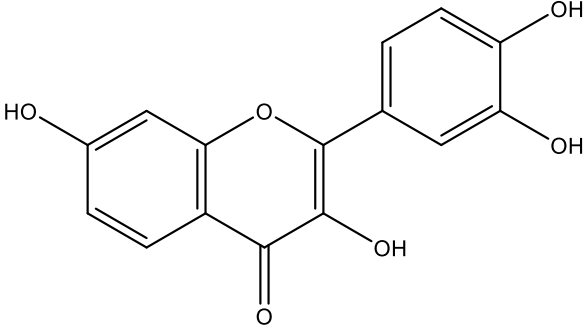
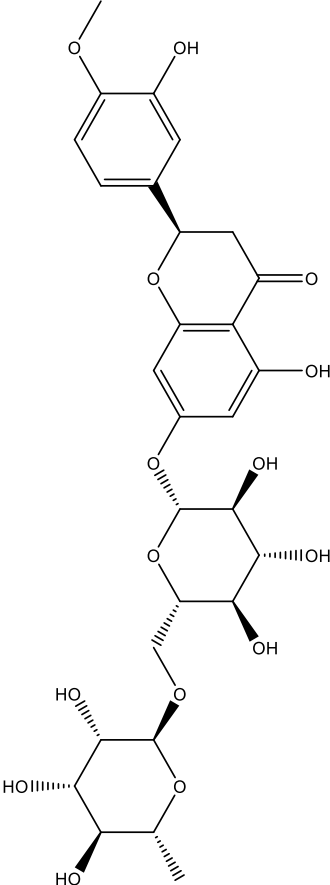
Gambar 2. 1 Struktur dan klasifikasi flavonoid (Wang *et al.*, 2018).

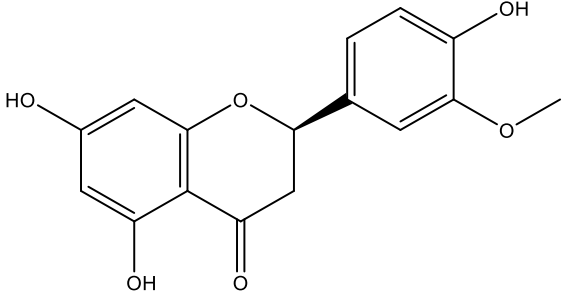
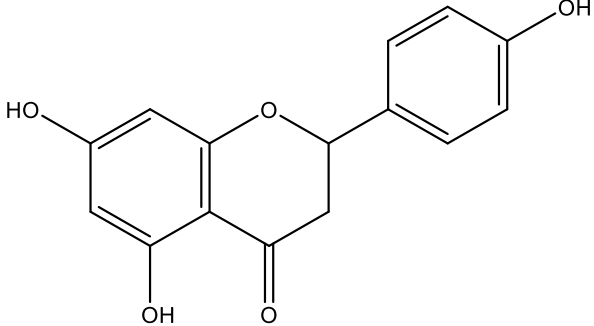
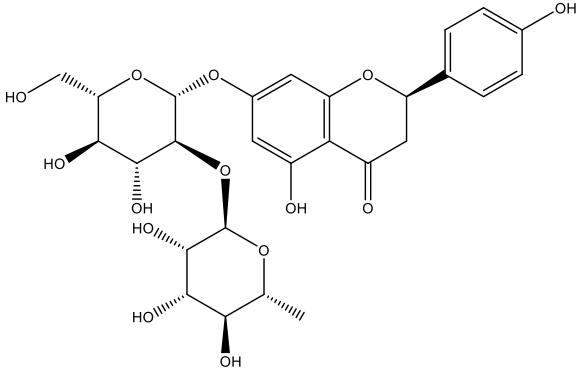
II.2.2. Golongan Flavonoid

Flavonoid terdiri dari beberapa golongan berdasarkan sifat aktivitas nya, berbagai penelitin telah melakukan penelitian bahwa beberapa turunan flavonoid berkhasiat sebagai anti bakteri. Berikut merupakan beberapa senyawa dari golongan flavonoid yang akan digunakan dalam penelitian ini :

A. FLAVONON

Tabel 2. 1 Struktur Flavonoid Golongan Flavonon

1		<p>Nama Fisetin</p> <p>Rumus C₁₅H₁₀O₆</p> <p>Molekul</p> <p>Nama 2-(3,4-</p> <p>IUPAC dihydroxyphenyl)-3,7-dihydroxychromen-4-one</p>
2		<p>Nama Hesperidin</p> <p>Rumus C₂₈H₃₄O₁₅</p> <p>Molekul</p> <p>Nama (2<i>S</i>)-5-hydroxy-2-(3-</p> <p>IUPAC hydroxy-4-methoxyphenyl)-7-[(2<i>S</i>,3<i>R</i>,4<i>S</i>,5<i>S</i>,6<i>R</i>)-3,4,5-trihydroxy-6-[[2<i>R</i>,3<i>R</i>,4<i>R</i>,5<i>R</i>,6<i>S</i>)-3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxymethyl]oxan-2-yl]oxy-2,3-dihydrochromen-4-one</p>

3		Nama	Homeoriodicitol
		Rumus	C ₁₆ H ₁₄ O ₆
		Molekul	
		Nama	<i>(2S)</i> -5,7-dihydroxy-
		IUPAC	<i>2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-2,3-dihydrochromen-4-one</i>
4		Nama	Naringenin
		Rumus	C ₁₅ H ₁₂ O ₅
		Molekul	
		Nama	<i>5,7-dihydroxy-2-(4-</i>
		IUPAC	<i>hydroxyphenyl)-2,3-dihydrochromen-4-one</i>
5		Nama	Naringin
		Rumus	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₄
		Molekul	
		Nama	<i>(2S)</i> -7-
		IUPAC	<i>[(2S,3R,4S,5S,6R)-4,5-dihydroxy-6-(hydroxymethyl)-3-[(2S,3R,4R,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxyoxan-2-yl]oxy-5-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-2,3-dihydrochromen-4-one</i>

B. FLAVONOL

Tabel 2. 2 Struktur Flavonoid Golongan Flavonol

1		<p>Nama Isoquercitrin</p> <p>Rumus C₂₁H₂₀O₁₂</p> <p>Molekul</p> <p>Nama 2-(3,4-dihydroxyphenyl)-</p> <p>IUPAC 5,7-dihydroxy-3- [(2<i>S</i>,3<i>R</i>,4<i>S</i>,5<i>S</i>,6<i>R</i>)-3,4,5- trihydroxy-6- (hydroxymethyl)oxan-2- yl]oxochromen-4-one</p>
2		<p>Nama Kaemferol</p> <p>Rumus C₁₅H₁₀O₆</p> <p>Molekul</p> <p>Nama 3,5,7-trihydroxy-2-(4-</p> <p>IUPAC hydroxyphenyl)chromen-4- one</p>
3		<p>Nama Kuersetin</p> <p>Rumus C₁₅H₁₀O₇</p> <p>Molekul</p> <p>Nama 2-(3,4-dihydroxyphenyl)-</p> <p>IUPAC 3,5,7-trihydroxychromen- 4-one</p>
4		<p>Nama Myricetin</p> <p>Rumus C₁₅H₁₀O₈</p> <p>Molekul</p> <p>Nama 3,5,7-trihydroxy-2-(3,4,5-</p> <p>IUPAC trihydroxyphenyl)chromen- 4-one</p>

5		<p>Nama Pachipodol</p> <p>Rumus C₁₈H₁₆O₇</p> <p>Molekul</p> <p>Nama <i>5-hydroxy-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3,7-dimethoxychromen-4-one</i></p>
6		<p>Nama Ramnazin</p> <p>Rumus C₁₇H₁₄O₇</p> <p>Molekul</p> <p>Nama <i>3,5-dihydroxy-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-7-methoxychromen-4-one</i></p>
7		<p>Nama Rutin</p> <p>Rumus C₂₇H₃₀O₁₆</p> <p>Molekul</p> <p>Nama <i>2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-3-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-[[[(2R,3R,4R,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxymethyl]oxan-2-yl]oxychromen-4-one</i></p>

II.3. RNA Polymerase

Mycobacterium tuberculosis (Mtb) adalah penyebab agen TB yang membunuh 1.8 juta seriap tahun di seluruh dunia. Mtb RNA Polymerase (RNAP) merupakan target kerja obat TB lini pertama yaitu rifampisin (Rif). Mtb RNAP berbentuk struktur kristal yang kompleks bersama dengan rifampisin. Hasil identifikasi untuk menentukan modul struktural Mtb dari Mtb RNAP menetapkan bahwa rifampisin berfungsi dengan oklusi strik mekanisme yang mencegah perluasan RNA (Lin *et al.*, 2017).

RNA polimerase (RNAP) merupakan multimerik kompleks enzim yang sangat diminati untuk penelitian fundamental karena sifatnya memiliki peran penting dalam ekspresi gen, dan untuk penelitian biomedis sebagai target antibiotik. Secara khusus, rifampisin adalah penghambat yang efektif untuk target RNAP yang memungkinkan pengembangan pengobatan dengan antibiotik jangka pendek untuk TB. Dengan demikian, protokol yang nyaman untuk produksi dan pengujian aktivitas *Mycobacterium tuberculosis* RNAP (MtbRNAP) akan sangat penting untuk pengembangan inhibitor baru dan untuk karakterisasi varian polimorfiknya, terutama yang terkait dengan resistensi antibiotik (Herrera-Asmat *et al.*, 2017).

Bakteri memiliki RNA polimerase yang berperan dalam proses transkripsi. Seperti yang kita ketahui, *RNA polimerase* yang dimiliki oleh *Mycobacterium tuberculosis* terdiri dari lima subunit, yaitu: α , β , β' , ω dan σ . Kelima subunit ini akan membantu enzim fungsional yang berfungsi melakukan transkripsi pada *Mycobacterium tuberculosis*. Kelima subunit ini dikodekan oleh lima gen independen: *rpoA*, *rpoB*, *rpoC*, *rpoZ* dan *rpoD* (Santos, 2012).

Molekul rifampisin mengikat subunit β dari *RNA polimerase* yang dimiliki oleh *Mycobacterium tuberculosis*. Oleh karena itu, rifampisin menghambat proses transkripsi bakteri, dan hasil akhirnya adalah kegagalan sintesis protein yang diperlukan oleh bakteri. Obat ini memiliki efek bakterisidal pada *Mycobacterium tuberculosis* yang sedang membelah dan maupun tidak membelah diri. Umumnya, *Mycobacterium tuberculosis* sensitif terhadap 0,1-2 mg / L rifampisin (Palomino *et al.*, 2007). Sebagian besar isolat klinis *Mycobacterium tuberculosis* yang resisten terhadap rifampisin mengalami mutasi pada gen *rpoB* yang menyandi subunit β . Mutasi ini menyebabkan perubahan konformasi subunit β , dan akibatnya afinitas untuk rifampisin berkurang. Oleh karena itu, mekanisme penghambatan kerja *RNA polymerase* oleh rifampisin menjadi terganggu (Wibawa, 2013).

II.4. Perancangan Obat Baru Secara *In Silico*

Kimia medis adalah ilmu yang terkait dengan penemuan atau perancang senyawa kimia dan mengembangkan menjadi obat baru yang bermanfaat. Hal ini melibatkan sintesis senyawa baru, meneliti tentang hubungan antara struktur asli dengan struktur senyawa sintetis dan aktivitas biologis yang dihasilkan. Pemanfaatan teknologi terutama komputer, menjadi alternatif yang sangat menarik sebagai alat bantu dalam penemuan obat, hal ini dikarenakan dapat menurunkan biaya pengembangan obat hingga 50% (Rollando, 2017).

Uji *In Silico* merupakan salah satu uji dalam bidang kimia medisinal yang dilakukan menggunakan simulasi komputer. Uji ini telah lama digunakan sebagai tahap awal dalam penemuan dan pengembangan senyawa obat baru dengan efektivitas yang ditingkatkan. Uji *in silico* digunakan untuk memprediksi, memberi hipotesis, pencarian hal baru atau perancangan senyawa baru yang digunakan dalam pengobatan dan terapi. Penambatan Molekul atau *Molecular Docking* merupakan salah satu pengujian secara *in silico*. Dimna dalam pengujian ini melibatkan molekul ligan untuk diselarasakan ke dalam reseptor protein dengan memperhatikan sifat keduanya (Dona *et al.*, 2019)

Para peneliti terdahulu telah menggunakan metode uji *in silico* selama bertahun-tahun. Dalam hal ini terdapat salah satu cabang ilmu perancangan obat dengan bantuan komputer atau *Computer Aided Drug Design* (CADD). CADD ini terbagi menjadi 2 bagian yaitu SBDD (*Structure-Based Drug Design*) dan LBDD (*Ligand-Based Drug Design*). SBDD merupakan rancangan obat didasarkan pada struktur reseptor target yang bertanggung jawab atas toksisitas dan aktivitas suatu senyawa di dalam tubuh (informasi reseptor target telah diketahui) (Pranowo, 2009).

SBDD memanfaatkan informasi dari struktur reseptor target untuk mencari sisi aktif protein yang berikatan dengan senyawa obat. Berdasarkan prediksi sisi aktif dapat dirancang senyawa yang diharapkan berikatan dengan reseptor target tersebut dan memiliki aktivitas biologis. SBDD memiliki beberapa metode pengujian yaitu *ligand docking*, simulasi dinamika molekul, pemodelan farmakofor dan lain – lain. Sedangkan LBDD merupakan rancangan obat berdasarkan ligan yang sudah diketahui. LBDD memanfaatkan informasi dari sifat fisikokimia senyawa aktif sebagai landasan mendesain senyawa baru, contohnya HKSA (Hubungan Kuantitatif Struktur dan Aktivitas), *virtual screening* berbasis ligan, pemodelan farmakofor, dan lain – lain (Pranowo, 2009).

II.5. Optimasi Geometri

Optimasi Geometri digunakan untuk menentukan energi minimal tau terenda dari suatu molekul yang akan digunakan dalam proses penambatan molekul. Hasil yang akan didapat pada proses optimasi berupa parameter sifat fisiko kimia. Parameter ini merupakan salah satu faktor yang mencerminkan karakteristik suatu senyawa baik secara fisik maupun secara kimia. Parameter yang akan ditentukan antara lain koefisien partisi (LogP), bobot molekul (BM), donor dan

akseptor ikatan hidrogen, serta HOMO – LUMO karena merupakan parameter yang berperan penting dalam perancangan senyawa obat (A. A. Pratama *et al.*, 2017).

Perancangan molekul obat bertujuan untuk menemukan ligan yang dapat berinteraksi secara efektif dengan reseptor target. Tetapi ini tidak berarti bahwa senyawa tersebut aktif jika dikonsumsi secara oral. Dalam perjalanan ke tujuan, obat akan mengalami beberapa peristiwa yang disebut farmakokinetik. Dalam perancangan obat baru peristiwa farmakokinetik perlu diperhatikan mengingat interaksi obat dengan reseptor tidak akan terjadi jika obat tidak dapat mencapai targetnya. Oleh karena itu, aturan '*Lipinski's Rule of Five*' perlu diperhatikan untuk merancang sebuah obat baru. Aturan tersebut yaitu :

- Berat molekul kurang dari 500.
- Mmemiliki tidak lebih dari 5 gugus donor hidrogen.
- Memiliki tidak lebih dari 10 gugus akseptor hidrogen.
- Nilai logP tidak lebih dari 5. (Lipinski *et al.*, 2012)

II.5.1. Bobot Molekul

Bobot molekul sangat berperan penting dalam perancangan suatu obat, semakin kecil nilai bobot molekul maka akan semakin mudah bagi ligan untuk masuk kedalam organ biologis. Menurut aturan *Lipinski* bobot molekul suatu senyawa yang akan digunakan dalam perencanaan pembuatan obat, tidak boleh lebih besar dari 500 g/mol (Lipinski *et al.*, 2012). Semakin besar bobot molekul yang dimiliki suatu senyawa maka akan semakin sulit bagi senyawa untuk menembus membran biologis.

II.5.2. Koefisien Partisi (LogP)

Dalam perancangan suau molekul obat perlu memperhatikan beberapa aspek, seperti bagaimana suatu molekul obat dapat menembus membran biologis untuk berinteraksi dengan reseptor target sehigga menghasilkan efek farmakologi. LogP merupakan parameter sifat fisikokimia yang digunakan untuk mengetahui suatu ligan bersifat hidrofilik atau hidrofobik. Semakin besar nilai logP maka ligan akan bersifat lipofil atau larut dalam lemak, hal ini akan mempermudah bagi ligan untuk menembus membran biologis yang akan bereaksi dengan reseptor taret. Namnun jika nilai logP semakin besar maka ligan bersifat sangat lipofil dimana ligan akan tertahan dilapisan membran karena sebagian besar penyusun tubuh manusia terdiri dari air. Hal ini akan menyebabkan ligan tidak akan bisa berinteraksi dengan reseptor target (Ruswanto *et al.*, 2015).

II.5.3. Donor dan Akseptor Ikatan Hidrogen

Jumlah donor dan akseptor ikatan hidrogen mendeskripsikan semakin tinggi kapasitas ikatan hidrogen, maka semakin tinggi energi yang dibutuhkan agar proses absorpsi dapat terjadi, sehingga kemampuan menembus membran biologis diprediksi memerlukan waktu yang relatif lama (Rachmania *et al.*, 2018)

II.6. HOMO - LUMO

HOMO dan LUMO adalah parameter kimia kuantum yang bertanggung jawab untuk pembentukan kompleks transfer muatan. Nilai HOMO yang lebih besar menunjukkan senyawa yang menyumbangkan elektron. Sedangkan nilai LUMO yang rendah menunjukkan bahwa senyawa tersebut cenderung menerima elektron. Pada *gap energi* semakin besar celah energi, maka akan semakin sulit elektron tereksitasi, sehingga semakin tinggi stabilitasnya dan semakin rendah reaktivitasnya. Dan semakin kecil celah energi elektron maka akan lebih mudah tereksitasi, sehingga reaktivitasnya tinggi dan stabilitasnya rendah (Kin Men & Setianto, 2019).

II.7. Penambatan Molekul

Penambatan molekul atau *Molecular Docking* merupakan metode kimia komputasi yang digunakan memprediksi ikatan non-kovalen dari mikromolekul (protein target) dengan molekul kecil (ligan) secara efisien. Metode ini banyak digunakan dalam proses penemuan dan pengembangan obat baru dengan aktivitas yang lebih baik. Tujuan *docking* adalah memprediksi interaksi ikatan antara molekul kecil (ligan) dan reseptor target dengan afinitas terbaik (A. A. Pratama *et al.*, 2017).

Penambatan molekul diawali dengan melakukan validasi metode menggunakan perangkat lunak *Autidock*. Tujuan validasi yaitu untuk menentukan parameter yang akan digunakan sudah dalam kondisi yang valid. Validasi metode *docking* dilakukan dengan cara melakukan *redocking* antara ligan alami dan protein untuk mengetahui parameter yang akan digunakan untuk *docking* senyawa uji sudah valid.

Interpretasi hasil dari validasi dilakukan dengan melihat nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*). RMSD merupakan jarak penyimpangan dari posisi ikatan *native ligand* dengan protein setelah *didocking*-kan terhadap posisi ikatan *native ligand* yang sebenarnya (Rastini *et al.*, 2019). Metode *docking* dikatakan valid apabila nilai $RMSD \leq 2\text{\AA}$, artinya metode *docking* yang digunakan memberikan hasil simpangan yang tidak besar (Ferwadi *et al.*, 2017).

Setelah parameter sudah dikatakan valid maka penambatan molekul pada senyawa uji dapat dilakukan menggunakan parameter yang didapatkan pada saat validasi. Parameter tersebut mencakup nilai *Grid Box*. Nilai *Grid box* merupakan besarnya lokasi ligan yang akan berinteraksi dengan reseptor target. *Grid box* terdiri dari *center* dan *size grid box* yang ditentukan dengan melihat koordinat dari sisi aktif pada protein target menggunakan bantuan aplikasi *AutoDock Tools* (Ruswanto, 2016). Parameter yang diamati untuk penentuan afinitas ligan terhadap reseptor adalah energi bebas ikatan (ΔG), konstanta inhibisi (k_i), residu asam amino, serta jumlah ikatan hidrogen. Afinitas ligan terhadap reseptor ditentukan oleh nilai ΔG dan k_i . Semakin negatif nilai ΔG dan semakin kecil nilai k_i menunjukkan afinitas ligan yang semakin tinggi (M. R. F. Pratama, 2016).

BAB III. METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Medisinal Universitas Bhakti Kencana Bandung menggunakan metode *Molecular Docking* yang akan diaplikasikan pada senyawa flavonoid pada target protein RNA *polymerase* dari *Mycobacterium tuberculosis*.

Bahan yang digunakan dalam *molekular docking* berupa struktur dari senyawa golongan flavonoid yang diunduh dari *Pubmed database* (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>). Target yang akan digunakan adalah protein RNA *polymerase* dari *Mycobacterium tuberculoasis* dengan kode PDB 5UH6, yang diunduh dari *Protein Data Bank* (<http://www.rcsb.org/pdb/>).

Persiapan ligan dilakukan menggunakan aplikasi *ChemOffice* dengan pembuatan struktur 2D dan 3D, kemudian dilakukan penentuan sifat fisikokimia untuk mengetahui karakteristik senyawa uji. Optimasi geometri senyawa uji dengan metode *Density Functional Theory (DFT)*, basis *set 6-31G* dan fungsi *B3LYP* menggunakan *Gaussian 09*, lalu penentuan nilai HOMO – LUMO dan *gap energy*.

Validasi metode *docking* dilakukan terhadap protein 5UH6 dan ligan alami, interpretasi hasil dilihat dari nilai RMSD, dikatakan valid jika nilai $RMSD \leq 2 \text{ \AA}$. Selanjutnya dilakukan simulasi *docking* antara protein 5UH6 dan senyawa uji menggunakan parameter yang sudah tervalidasi. Kemudian dilakukan interpretasi hasil antara lain nilai ΔG (energi bebas ikatan), nilai K_i (konstanta inhibisi) dan interaksi ikatan yang terbentuk antara ligan dan protein.