



HEXADECANAMIDE DAN HYPHOXANTHINE SEBAGAI SENYAWA ANTIBIOTIK ASAL BAKTERI ENDOSIMBION CACING TANAH SEBAGAI ALTERNATIF ANTIBIOTIK MELALUI UJI IN SILICO

Nurhikmah

Universitas Islam Negeri Sultan Aji Muhammad Idris Samarinda
hikmahnursyam@gmail.com

Citation:

Nurhikmah. (2021). Hexadecanamide dan Hypoxanthine sebagai Senyawa Antibiotik Asal Bakteri Endosimbion Cacing Tanah sebagai Alternatif Antibiotik Melalui Uji In Silico. *BJSME*, 1(3). 163-171.

Abstrak

Penyakit infeksi merupakan salah satu penyebab penyakit di Indonesia yang disebabkan oleh mikroorganisme. Dalam rangka penanggulangan infeksi oleh mikroorganisme, maka diperlukan peningkatan eksplorasi antibiotik. Penelitian ini mengkaji tentang potensi senyawa dari bakteri endosimbion cacing tanah yaitu *Hexadecanamide* dan *Hypoxanthine* sebagai antibiotik melalui Uji Insilico yaitu *molecular docking* menggunakan Software PyRx, software PyMol, dan SwissAdme Prediction. Berdasarkan hasil yang diperoleh, *Hexadecanamide* dan *Hypoxanthine* memiliki potensi untuk dijadikan antibiotik dengan nilai binding affinity -6,6, -6,1 dan -6,0 dan -5,8 dari masing-masing senyawa yang direaksikan dengan protein target bakteri uji, dan berdasarkan uji ADME, didapatkan hasil bahwa senyawa *Hexadecanamide* dan *Hypoxanthine* memiliki potensi untuk dijadikan sebagai antibiotik menurut aturan Lipinski, Ghose, Veber, Egan dan Muegge dengan bioavailability score 0.55.

Kata Kunci: antibiotik, *hexadecanamide*, *hypoxanthine*, uji *in silico*

A. Pendahuluan

Mikroorganisme merupakan salah satu penyebab penyakit infeksi di Indonesia. Penyakit infeksi ditularkan dari satu orang ke orang lain atau dari hewan ke manusia yang dapat disebabkan oleh bakteri, jamur dan virus. Terkhusus untuk bakteri yang sangat umum menyebabkan infeksi diantaranya adalah *Escherichia coli* yang menyebabkan infeksi pada sistem pencernaan seperti diare yang mengakibatkan penderita mengalami dehidrasi pada tubuh. Selanjutnya yaitu *Pseudomonas aureginosa* yang umumnya menyebabkan infeksi pada kulit seperti, bisul, sepsis pada luka dan lesi kulit pada bayi (Cox dkk. 2010)

Dalam rangka penanggulangan infeksi yang disebabkan oleh bakteri, maka diperlukan peningkatan eksplorasi antibiotik. Saat ini, resistensi antibiotik sangat banyak terjadi, hal ini disebabkan karena penggunaan antibiotik yang tidak bijak dan rasional (Fischbach dan Walsh 2009). Oleh sebab itu, kasus resistensi antibiotik harus menjadi perhatian khususnya di dunia kesehatan, karena hal ini sangat berkaitan dengan pola

penggunaan antibiotik yang dapat menyebabkan bakteri patogen bersifat Multy Drug Resisten (MDR), sehingga sangat berpengaruh terhadap kesehatan (Sibero dkk. 2019).

Penelitian terkait tentang penggunaan bahan alam sebagai penghasil antibiotik telah banyak dilakukan, diantaranya yakni dengan menggunakan cacing tanah (S. Sulfahri dkk. 2019). Berbagai spesies cacing tanah diketahui memiliki potensi sebagai antibiotik. Salah satunya penelitian yang telah dilakukan oleh Husain et al., 2018 mendapatkan hasil bahwa bakteri endosimbion yang bersumber dari cacing tanah memiliki aktivitas antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* (Rauf Husain dkk. 2018).

Terkait penelitian tentang pengujian antibiotik, saat ini telah terjadi pengembangan yaitu dengan menggunakan teknologi bioinformatika yang telah banyak dilakukan. Teknologi bioinformatika yang digunakan yaitu Uji In Silico. Uji ini memanfaatkan teknik skrining virtual atau metode komputasi. Beberapa kegunaan uji In Silico yaitu digunakan untuk menemukan senyawa baru, memprediksi, meningkatkan efisiensi dalam aktivasi senyawa induk dan juga digunakan untuk mensimulasikan penemuan dan pengembangan obat-obatan salah satunya pengembangan antibiotik (Onkara dkk. 2013).

Pengujian In Silico umumnya menggunakan metode Molecular Docking. Metode docking adalah salah satu metode yang berupaya untuk menyelaraskan antara ligan yang merupakan molekul kecil ke dalam sel target yang merupakan molekul protein. Selain itu, berdasarkan studi literatur dan penelitian yang telah dilakukan, menemukan bahwa senyawa yang terkandung pada metabolit sekunder bakteri penghasil antibiotik diantaranya adalah Hexadecanamide dan Hypoxanthine (Rauf Husain dkk. 2018). Berdasarkan hal tersebut serta pengembangan teknologi yang berbasis bioinformatika, maka peneliti melakukan penelitian yang bertujuan untuk menemukan bioaktivitas senyawa bakteri endosimbion pada cacing tanah yang terdiri atas Hexadecanamide dan Hypoxanthine untuk menjadi kandidat antibiotik terhadap bakteri patogen *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aureginosa* melalui uji In Silico.

B. Tinjauan Pustaka

1. Antibiotik

Antibiotik adalah zat kimia, yang diproduksi oleh mikroorganisme, yang memiliki kapasitas untuk menghambat pertumbuhan dan bahkan untuk mematikan bakteri dan mikroorganisme lainnya. Beberapa antibiotik dapat digunakan untuk mengobati kanker serta penyakit infeksi bakteri, fungi protozoa, dan lain-lain. Mayoritas kelas antibiotik yang digunakan saat ini ditemukan dari tahun 1930-an hingga 1970-an (Schofield 2015).

Resistensi bakteri patogen terhadap agen antibiotik merupakan mekanisme alamiah untuk bertahan hidup. Pada saat tubuh terinfeksi bakteri patogen maka pengobatan yang dilakukan adalah mengonsumsi antibiotik, bakteri yang sensitif terhadap agen antibiotik akan mati atau terhambat pertumbuhannya, sedangkan untuk bakteri yang telah resisten, penggunaan antibiotik tidak akan berpengaruh. Seiring berjalannya waktu, resistensi terhadap antibiotik akan terus meningkat dan patogenisitas akibat infeksi akan terus berlangsung, sehingga penggunaan antibiotik dengan jenis yang sama tidak dapat digunakan lagi dan pencarian jenis antibiotik yang baru harus terus dilakukan (Fischbach dan Walsh 2009).

2. Uji In Silico

Uji In silico adalah suatu istilah untuk percobaan atau uji yang melakukan pendekatan pada suatu keadaan nyata yang berbasis bioinformatika. In silico memiliki beberapa cakupan diantaranya: (1) Studi docking merupakan pembelajaran komputasi pada ligan yang akan berikatan dengan protein target. (2) Formasi Kimia, dimana aktivitas dan struktur berkorelasi dengan menggunakan sarana statistika. Beberapa kegunaan uji In silico yaitu digunakan untuk penemuan senyawa baru, memprediksi, meningkatkan efisiensi dalam aktivasi senyawa induk dan juga dapat memberi hipotesis (Geldenhuys dkk. 2006). Prinsip dari uji In silico yaitu menghasilkan nilai energi ikatan atau binding affinity. Energi ikatan menunjukkan jumlah energi yang dibutuhkan untuk membentuk ikatan antara ligan dengan reseptor. Semakin kecil energi ikatan berarti semakin stabil ikatan tersebut. Semakin stabil ikatan ligan dengan reseptor maka dapat diprediksikan bahwa aktivitasnya juga semakin besar (Sulfahri dkk. 2019).

Salah satu metode uji In silico yang akan digunakan pada penelitian ini adalah molecular docking. Molekuler docking merupakan suatu prosedur komputasi yang digunakan untuk memprediksikan konformasi protein atau molekul asam nukleat (DNA atau RNA), dan ligan yang merupakan molekul kecil atau protein lain. Dengan kata lain, molekuler docking mencoba untuk memprediksi struktur antarmolekul yang kompleks terbentuk antara dua atau lebih konstituen molekul. Docking juga menggambarkan suatu proses yang dilakukan oleh dua molekul secara bersamaan dalam ruang tiga dimensi (Dias dan De Azevedo Jr 2009).

C. Metode Penelitian

1. Preparasi Ligan

Ligan yang digunakan adalah senyawa yang dihasilkan oleh bakteri endosimbion cacing tanah, yaitu senyawa Hexadecanamide dan Hypoxanthine. Berdasarkan dari beberapa literatur pendukung, struktur 3D dan Canonical SMILES Hexadecanamide ligand adalah CCCCCCCCCCCCCCCC(=O)N dan Canonical SMILES Hypoxanthine ligand adalah C1=NC2=C(N1)C(=O)NC=N, yang diperoleh dari database Pubchem (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>). Struktur 3D ligand yang telah diunduh ini diubah dalam format PDB menggunakan Software Avogadro.

2. Preparasi Protein Target/Reseptor

Validasi untuk protein target yang telah dipilih, dilakukan dengan menggunakan Uniprot (<https://www.uniprot.org>). Struktur 3D DNA Gyrase dari protein target yang dipilih diperoleh dari database Protein Data Bank (<http://www.rcsb.org/pdb>). Struktur yang dipilih berdasarkan struktur yang berasal dari mikroorganisme (*Escherchia coli* dan *Pseudomonas aeruginase*). Kemudian protein yang telah diunduh dipreparasi menggunakan software PyMol.

3. *Molecular Docking, Molecular Visualisation and Target Protein*

Docking dilakukan dengan menggunakan PyRx 0.8, dengan mereaksikan ligand (senyawa Hexadecanamide dan Hypoxanthine) dengan protein target (DNA Gyrase) untuk mendapatkan nilai binding affinity. Visualisasi hasil docking dilakukan dengan menggunakan software PyMoL. Hasil visualisasi antara reseptor dan ligan ditampilkan dalam bentuk 3D.

4. Prediksi Senyawa menggunakan ADME

SwissADME digunakan untuk prediksi dan mendeskripsikan secara signifikan sifat Druglikeness dari senyawa yang dapat ditoleransi oleh tubuh melalui (www.swissadme.ch). Uji Druglikeness adalah istilah untuk menjelaskan bagaimana sifat fisikokimia suatu senyawa mempengaruhi sifat molekuler in vivo melalui berbagai persyaratan seperti aturan lipinski, aturan Ghose, Veber, Egan dan Muegge.

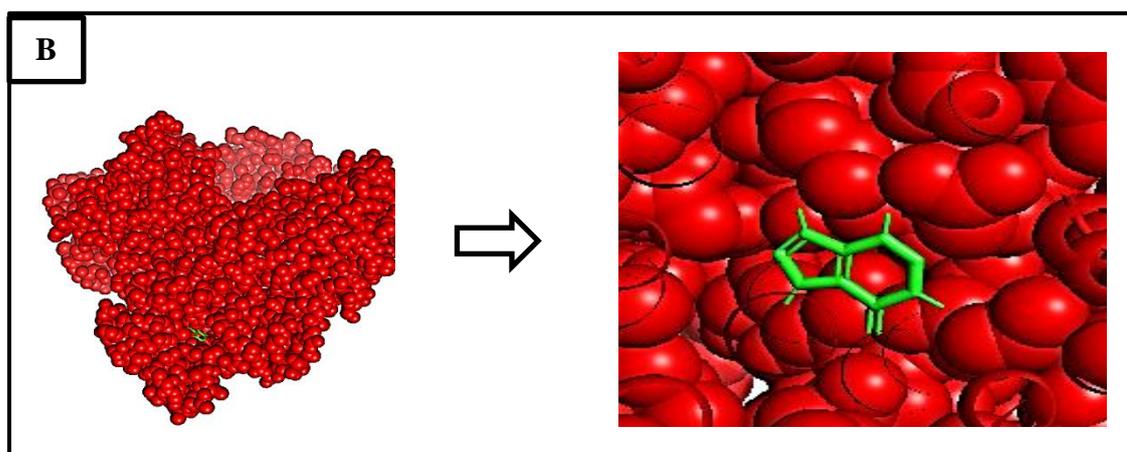
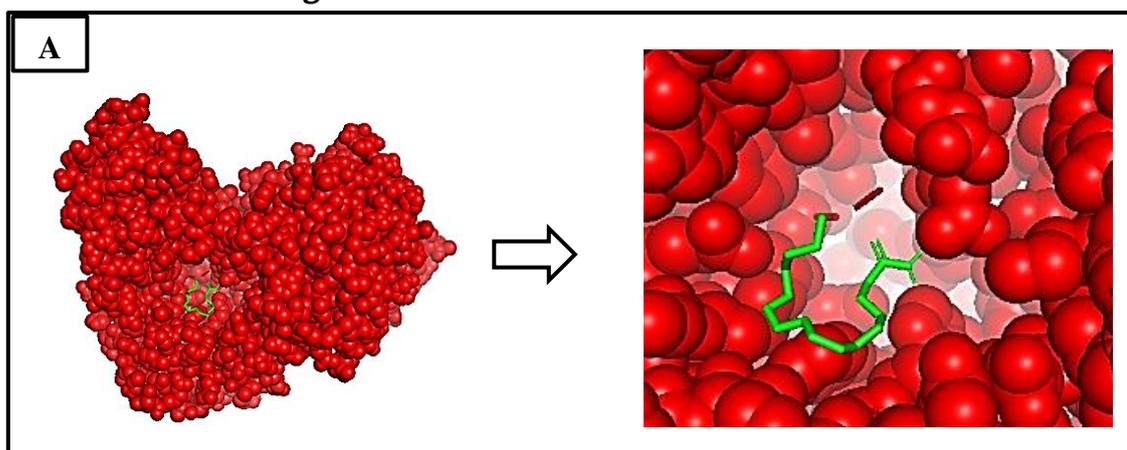
D. Hasil dan Pembahasan

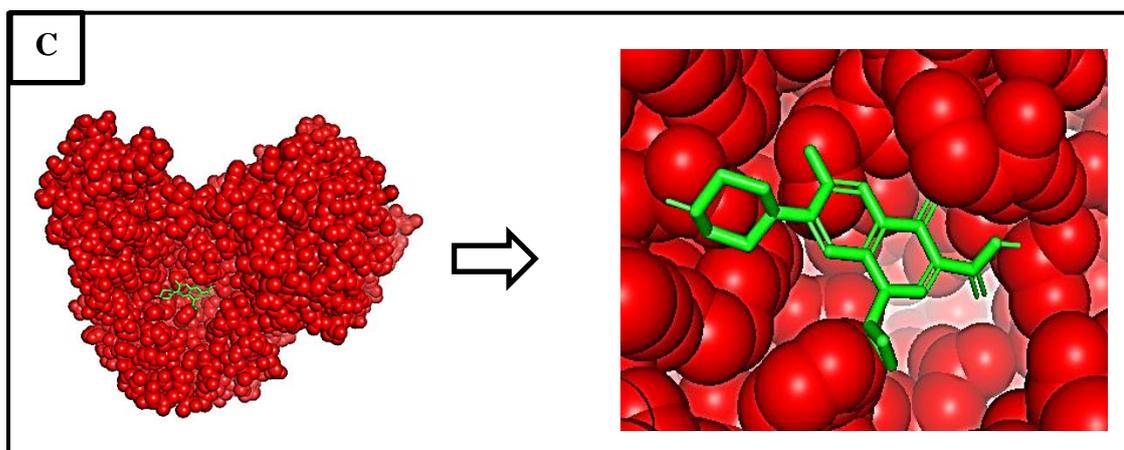
1. Hasil Nilai Binding Affinity Senyawa

Tabel 1. Perbandingan Nilai Binding Affinity Senyawa dan Kontrol Antibiotik

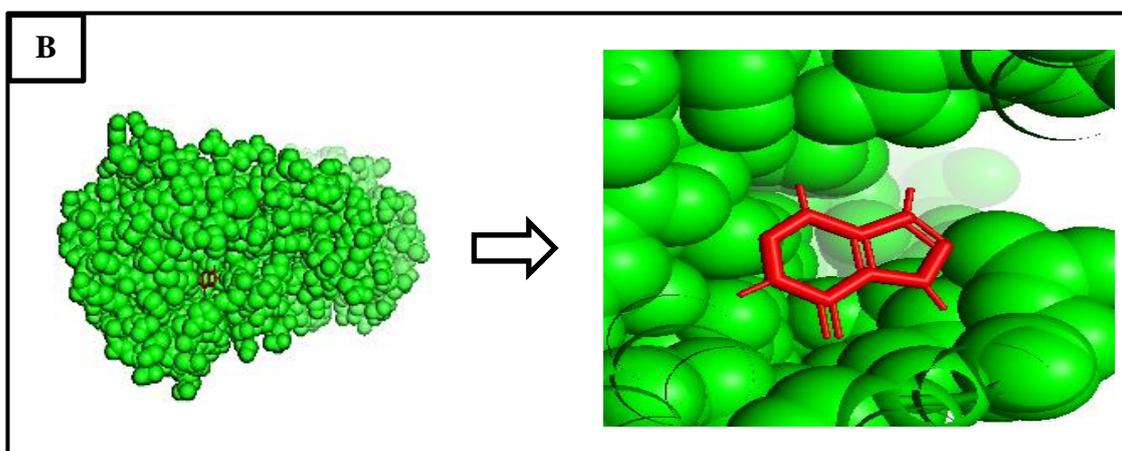
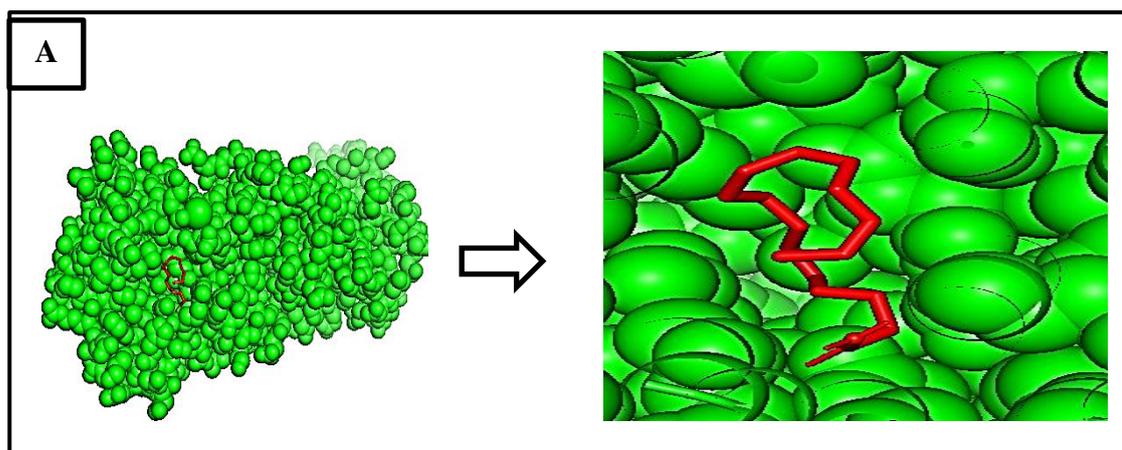
Bakteri Uji	Binding Affinity		
	Hexadecanamide	Hypoxanthine	Control Cyprofloxacin
<i>Escherichia coli</i>	-6,6	-6,0	-7,2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-6,1	-5,8	-8,1

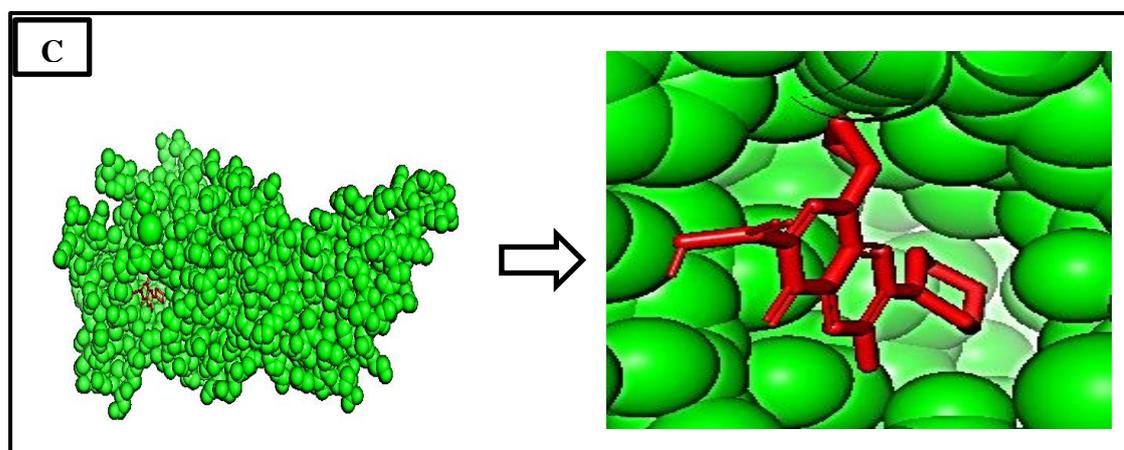
2. Visualisasi Hasil Docking





Gambar 1. Visualisasi Hasil Docking pada target *Escherichia coli* (DNA Gyrase). (A) Visualisasi hasil Docking senyawa Hexadecanamide (hijau) dengan DNA Gyrase *Escherichia coli* (Merah), (B) Visualisasi hasil Docking senyawa Hypoxanthine (hijau) dengan DNA Gyrase *Escherichia coli* (Merah), (C) Visualisasi hasil Docking kontrol antibiotik Cyprofloxacin (hijau) dengan DNA Gyrase *Escherichia coli* (Merah).





Gambar 2. Visualisasi Hasil Docking pada target *Escherichia coli* (DNA Gyrase). (A) Visualisasi hasil Docking senyawa Hexadecanamide (hijau) dengan DNA Gyrase *Escherichia coli* (Merah), (B) Visualisasi hasil Docking senyawa Hypoxanthine (hijau) dengan DNA Gyrase *Escherichia coli* (Merah), (C) Visualisasi hasil Docking kontrol antibiotik Cyprofloxacin (hijau) dengan DNA Gyrase *Escherichia coli* (Merah).

Proses docking dilakukan antara ligan (senyawa Hexadecanamide dan Hypoxanthine) dengan Protein target bakteri uji (DNA Gyrase) menggunakan software PyRx. Docking dilakukan untuk memperoleh nilai energi ikatan (*Binding affinity*). *Binding affinity* merupakan parameter kemampuan ligan untuk berikatan dengan protein target (Priyanka dkk. 2019). Interaksi antara ligan dan protein target akan cenderung berada pada kondisi energi yang paling rendah. Energi yang paling rendah menunjukkan bahwa molekul berada pada kondisi yang stabil, sehingga semakin rendah nilai *binding affinity* maka interaksi ligan dan protein target semakin stabil (Mukesh dan Rakesh 2011). Hasil docking nilai *binding affinity* yang diperoleh antara ligan dan protein target, dari masing-masing senyawa dapat dilihat pada Tabel 1.

Berdasarkan data nilai *binding affinity* yang diperoleh, untuk protein target *Escherichia coli* (DNA Gyrase) yang berikatan dengan senyawa Hexadecanamide yaitu -6,6, dan untuk senyawa Hypoxanthine adalah -6,0. Hal ini menunjukkan bahwa nilai *binding affinity* dari senyawa Hexadecanamide mendekati nilai *binding affinity* Ciprofloxacin sebagai kontrol yaitu -7,2. Struktur dari senyawa Hexadecanamide dan Hypoxanthine terhadap protein target divisualisasikan secara 3D menggunakan software PyMol, visualisasi dilakukan untuk menggambarkan interaksi antara senyawa dan protein target. Visualisasi Hasil Docking disajikan pada Gambar 1 untuk target *Escherichia coli* (DNA Gyrase) dan Gambar 2 untuk target *Pseudomonas aeruginosa* (DNA Gyrase).

Protein target *Pseudomonas aeruginosa* (DNA Gyrase) yang berikatan dengan senyawa Hexadecanamide memperoleh nilai *binding affinity* -6,1, sedangkan untuk senyawa Hypoxanthine memperoleh nilai *binding affinity* -5,8 nilai ini menunjukkan bahwa

untuk senyawa *Hexadecanamide* dan *Hypoxanthine* memiliki *binding affinity* yang masih sangat jauh dari *binding affinity* *Cyprofloxacin* sebagai kontrol yaitu adalah -8,4. Struktur dari senyawa *Hexadecanamide* dan *Hypoxanthine* terhadap protein target divisualisasikan secara 3D menggunakan software PyMol, visualisasi dilakukan untuk menggambarkan interaksi antara senyawa dan protein target.

Berdasarkan hasil *binding affinity* senyawa *Hexadecanamide* dan *Hypoxanthine* yang telah dibandingkan dengan *binding affinity* *Cyprofloxacin* (sebagai kontrol), maka diperoleh hasil bahwa senyawa *Hexadecanamide* dan *Hypoxanthine* memiliki potensi untuk dijadikan sebagai kandidat antibiotik. meskipun *binding affinity* dari kedua senyawa tidak mencapai *binding affinity* seperti kontrol. *Hexadecanamide* merupakan salah satu senyawa yang telah dilaporkan dapat menjadi anti-bakteri, anti-inflamasi, anti-nociceptive dan anti-jamur (Al-Rubaye, Kaizal, dan Hameed 2017) (Premjanu dan Jaynthy 2015), begitupun dengan senyawa *Hypoxanthine* yang juga telah dilaporkan berpotensi untuk dijadikan sebagai anti-bakteri (Dai dkk. 2020).

Hexadecanamide dan *Hypoxanthine* memiliki kecenderungan kesamaan mekanisme kerja dengan *Cyprofloxacin* yaitu menghambat kerja *DNA Gyrase* pada bakteri. *DNA Gyrase* merupakan target antibakteri yang baik untuk antibiotik golongan *Fluroquinolon*, karena enzim ini hanya ada pada sel prokariotik yang penting bagi pertumbuhan bakteri (Fàbrega dkk. 2009). Berdasarkan uji ADME, didapatkan hasil bahwa senyawa *Hexadecanamide* dan *Hypoxanthine* memiliki potensi untuk dijadikan sebagai bahan antibiotik yang oleh aturan Lipinski, Ghose, Veber, Egan dan Muegge memiliki bioavailability score 0.55.

E. Kesimpulan

Senyawa *Hexadecanamide* dan *Hypoxanthine* memiliki nilai *binding affinity* untuk Protein Target *Escherichia coli* -6,6 dan -60, sedangkan untuk protein target *Pseudomonas aeruginosa* adalah -6,1 dan -5,8. Hasil *Binding affinity* yang diperoleh tersebut belum dapat menyamai atau melampaui nilai *binding affinity* *Ciproloxacin*. Meskipun demikian, senyawa *Hexadecanamide* dan *Hypoxanthine* memiliki potensi untuk dijadikan kandidat antibiotik, berdasarkan dari hasil interaksi antara ligan dan protein target. Serta didukung beberapa penelitian yang telah melaporkan bahwa senyawa *Hexadecanamide* dan *Hypoxanthine* dapat dijadikan sebagai anti-bakteri.

Referensi

- Cox MJ, Allgaier M, Taylor B, Marshall SB, Yvonne JH, Rebecca AD, Ulas K, Gary LA, Ronald B, Kei EF, Brain W, Diem T, JAl-Rubaye, Abeer Fauzi, Ashwak Falih Kaizal, dan Imad Hadi Hameed. 2017. "Phytochemical screening of methanolic leaves extract of *Malva sylvestris*." *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research* 9(4):537–52.
- Cox, Michael, Martin Allgaier, Byron Taylor, Marshall Baek, Yvonne Huang, Rebecca Daly, Ulas Karaoz, Gary Andersen, Ronald Brown, Kei Fujimura, Brian Wu, Diem Tran, Jon Koff, Mary Kleinhenz, Dennis Nielson, Eoin Brodie, dan Susan Lynch. 2010.

- “Airway Microbiota and Pathogen Abundance in Age-Stratified Cystic Fibrosis Patients.” *PloS one* 5:e11044. doi: 10.1371/journal.pone.0011044.
- Dai, Yazhuang, Yinqiu Xu, Chenyun Guo, Xiaowen Xue, Donghai Lin, dan Kejiang Lin. 2020. “Discovery and evaluation of new compounds targeting ribosomal protein S1 in antibiotic-resistant Mycobacterium Tuberculosis.” *European Journal of Medicinal Chemistry* 196:112317.
- Dias, Raquel, dan Walter De Azevedo Jr. 2009. “Molecular Docking Algorithms.” *Current drug targets* 9:1040–47. doi: 10.2174/138945008786949432.
- Fàbrega, Anna, Sergi Madurga, Ernest Giralt, dan Jordi Vila. 2009. “Mechanism of action of and resistance to quinolones.” *Microbial biotechnology* 2(1):40–61.
- Fischbach, Michael A., dan Christopher T. Walsh. 2009. “Antibiotics for Emerging Pathogens.” *Science (New York, N.Y.)* 325(5944):1089–93. doi: 10.1126/science.1176667.
- Geldenhuys, Werner, Kevin Gaasch, Mark Watson, David Allen, dan Cornelis Van der Schyf. 2006. “Optimising the Use of Open-source Software Applications in Drug Discovery.” *Drug discovery today* 11:127–32. doi: 10.1016/S1359-6446(05)03692-5.
- Mukesh, Bachwani, dan Kumar Rakesh. 2011. “Molecular docking: a review.” *Int J Res Ayurveda Pharm* 2(6):1746–51.
- Onkara, P., A. Kumar, S. Kanakaraju, Bethanamudi Prasanna, Y. Pydisetty, dan G. V. P. Chandramouli. 2013. “Molecular docking studies, synthesis and anti-bacterial properties of new Mannich bases.” *International Journal of Pharma and Bio Sciences* 4:P263–70.
- Premjanu, N., dan C. Jaynthy. 2015. “Identification and characterization of antimicrobial metabolite from an endophytic fungus, Colletotrichum gloeosporioides isolated from Lannea corammendalica.” *Int J ChemTech Res* 7:369–74.
- Priyanka, S., M. Jayashree, R. Shivani, S. Anwasha, K. V. Bhaskara Rao, dan Arnold E. I. 2019. “Characterisation and identification of antibacterial compound from marine actinobacteria: In vitro and in silico analysis.” *Journal of Infection and Public Health* 12(1):83–89. doi: 10.1016/j.jiph.2018.09.005.
- Rauf Husain, Dirayah, Fitriani, Z. Hasyim, A. Abdullah, dan Sulfahri Sulfahri. 2018. “Endosymbiont bacteria of pheretima sp. Earthworms (annelida: Oligochaeta) possesses antibacterial activity.” *Asian Journal of Microbiology, Biotechnology and Environmental Sciences* 20:1177–82.
- Schofield, Christopher. 2015. “Antibiotics: Current Innovations and Future Trends. Edited by Sergio Sánchez and Arnold L. Demain.” *ChemMedChem* 10. doi: 10.1002/cmdc.201500099.

- Sibero, Mada Triandala, Tiara Ulfa Bachtiarini, Agus Trianto, Adindalifa Hayu Lupita, Defi Puspita Sari, Yasuhiro Igarashi, Enjuro Harunari, Amit Raj Sharma, Ocky Karna Radjasa, dan Agus Sabdon. 2019. "Characterization of a yellow pigmented coral-associated bacterium exhibiting anti-Bacterial Activity Against Multidrug Resistant (MDR) Organism." *The Egyptian Journal of Aquatic Research* 45(1):81–87. doi: 10.1016/j.ejar.2018.11.007.
- Sulfahri, Sulfahri, Abdur Arif, Israini Iskandar, dan Rih Wardhani. 2019. "In silico approach of antidiabetic compounds from *Caesalpinia crista* seed through docking analysis and ADMET predictions." *Journal of Physics: Conference Series* 1341:022001. doi: 10.1088/1742-6596/1341/2/022001.
- Sulfahri, R. Wardhani, F. A. Makatita, dan I. W. Iskandar. 2019. "Utilization of *Nypa* fruit in Alzheimer's Disease: An In Silico Approach." *Journal of Physics: Conference Series* 1341(2):022003. doi: 10.1088/1742-6596/1341/2/022003.
- onathan K and Susan VL. Airway Microbiota And Pathogen Abundance In Age-Stratified Cystic Fibrosis Patients. *Plos One*. 5 (2010).