

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Karies gigi adalah penyakit yang disebabkan oleh interaksi kompleks antara bakteri, substrat, host, dan waktu. Dalam proses terjadinya karies, bakteri berperan penting dalam memfermentasi karbohidrat menjadi asam yang menyebabkan demineralisasi jaringan keras gigi. Bakteri gram positif yang berperan dalam pengembangan dan kelanjutan karies gigi salah satunya *Lactobacillus*. Bakteri ini lebih banyak ditemukan pada lesi karies yang sudah dalam dan dapat membentuk biofilm lengket pada permukaan gigi, memperkuat koloninya dan memperparah kerusakan gigi. (Khadaifi, Ichrom Nahzi and Wibowo, 2021., Rashid and Sorchee, 2021). Selain itu juga terdapat bakteri gram negatif, salah satunya *Prevotella*, ditemukan pada lesi karies gigi, terutama pada kasus karies dengan pulpa nekrosis dan infeksi periapikal. Bakteri ini berperan dalam proses inflamasi dan degradasi jaringan keras gigi melalui produksi enzim proteolitik yang mempercepat kerusakan jaringan (Cilmiaty et al., 2013).

Upaya-upaya dilakukan untuk mencegah dampak karies terhadap kerusakan gigi lebih lanjut antara lain memperbaiki 'oral hygiene', pola makan yang tepat, sikat gigi, kontrol gigi berkala dan ditambal. Pada kerusakan gigi yang lebih jauh dan mendekati pulpa, perawatan konservatif yang dilakukan adalah pulp capping agar pulpa tetap sehat, umumnya dilakukan pada pulpa gigi yang terbuka atau hampir terbuka menggunakan bahan yang dapat merangsang pembentukan dentin reparatif dan mencegah infeksi lebih lanjut. (Moynihan, P. J., & Kelly, S. A. 2014.,Islam et al. 2023).

Kriteria bahan pulp capping yang umum adalah memiliki sifat antibakteri dan kemampuan merangsang pembentukan dentin sehingga efektif dalam pencegahan perkembangan karies lebih lanjut. Kalsium hidroksida ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) merupakan bahan pulp capping "gold standard" yang telah digunakan sejak lama karena harga terjangkau, mudah diperoleh, kemampuannya menstimulasi pembentukan dentin reparatif dan sifat antibakterinya (Islam et al., 2023). Namun, pH tinggi dari $\text{Ca}(\text{OH})_2$ dapat menyebabkan nekrosis permukaan, pembentukan "jembatan dentin" yang tidak sempurna, serta merusak viabilitas sel akibat kerusakan protein dan kerusakan membran sel. Hal serupa terjadi dengan paparan toksin *Lactobacillus*, yang menurunkan viabilitas sel dan inflamasi. (Tanumihardja et al., 2020). Adapun bahan lain yang sebagai bahan capping yaitu Mineral Trioxide Aggregate (MTA), CEM Cement juga menunjukkan bahan pulp capping yang an sifat biokompatibilitas tinggi dan kemampuan 'sealing' yang masih banyak kekurangan serta kelemahan pada bahan l-Din et al., 2020)



Penelitian-penelitian banyak dilakukan untuk mendapatkan alternatif bahan pulp capping ataupun meningkatkan sifat kalsium hidroksida dari bahan alami, salah satunya adalah daun kelor yang memiliki sifat antibakteri, anti oksidan, anti inflamasi, anti kanker, dan kaya nutrient. Penelitian sebelumnya melaporkan daun kelor memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan berbagai jenis bakteri pathogen, salah satunya *Staphylococcus aureus* sebagai penyebab plak pada gigi (Rosalia et al., 2023). Penelitian lain menunjukkan bahwa daun kelor mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* penyebab penyakit gangguan pencernaan (Husen and Ratnaningtyas., 2024). Penelitian juga menunjukkan ekstrak etanol daun kelor memiliki daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* pada manusia (Ervianingsih et al., 2019), dan efektif menghentikan pertumbuhan bakteri *P. Acnes* (Tarigan et al., 2022).

Anti bakteri diklasifikasikan berdasarkan mekanisme kerjanya yaitu menghambat replikasi DNA, menghambat biosintesis protein dan menghambat sintesis dinding sel (Halawa et al., 2024., C Reygaert, 2018). Perkembangbiakan bakteri melalui sintesis protein dan dinding sel adalah proses kompleks yang melibatkan berbagai enzim dan jalur biokimia sehingga menjadi target dalam pengobatan infeksi bakteri (Scheffers and Pinho, 2005).

Beberapa enzim penting pada perkembangbiakan bakteri adalah enzim yang merupakan protein spesifik yaitu Peptidyl-tRNA hydrolase (Pth) dan Diaminopimelate epimerase (DAP) (Sharma et al., 2014., Sagong and Kim., 2017). Pth adalah enzim yang berperan dalam biosintesis protein dan dikode oleh gen *pepX* yang terdapat pada semua bakteri yang berfungsi untuk pertumbuhan dan adaptasi bakteri. Pth berperan dalam translasi protein, mengkatalis pelepasan N-formyl group dari N-terminal methionine, memecah ikatan antara peptidil-tRNA dan peptida melepaskan tRNA dan mencegah akumulasi peptidil-tRNA yang beracun dalam sel selama proses translasi bakteri. Proses ini penting untuk menjaga keseimbangan asam amino dan memastikan kelangsungan sintesis protein. Peptidyl-tRNA hydrolase ditemukan pada banyak jenis eubakteri (bakteri sejati), *Lactobacillus*, yang merupakan bakteri Gram-positif dan probiotik penting. Pth sangat krusial untuk menjaga kelancaran proses sintesis protein. Dengan menghidrolisis peptidyl-tRNA yang terjebak, Pth memungkinkan tRNA untuk didaur ulang dan digunakan kembali dalam translasi, sehingga mendukung pertumbuhan dan viabilitas bakteri. Struktur dan fungsi Pth pada berbagai spesies bakteri menunjukkan adanya kestabilan yang tinggi, menandakan pentingnya enzim ini dalam fisiologi bakteri secara umum. Pth telah menjadi target menarik dalam pengembangan terapi antimikroba karena



bakteri pada enzim ini untuk kelangsungan hidupnya. Meskipun mekanisme aksi substrat dan hidrolisis Pth masih banyak diteliti, struktur enzim ini membuka peluang untuk desain obat berbasis Pth untuk menghambat aktivitas Pth dan mengendalikan pertumbuhan bakteri (Sharma et al., 2014). Selain itu, Eubakteri memiliki satu kelas enzim peptidase yang menjadikannya target potensial untuk antibiotik untuk mencegah infeksi bakteri. Karakteristik unik dari enzim ini

memberikan peluang untuk mengembangkan antibiotik baru yang secara spesifik menargetkan infeksi bakteri tanpa mempengaruhi sel eukariotik. (Tomasi et al., 2023).

Enzim lainnya adalah Diaminopimelate epimerase (DAP) yang berperan penting dalam biosintesis dinding sel bakteri asam amino lisin yang esensial untuk berbagai fungsi biologis dalam tubuh manusia dan organisme lainnya. Pada *Prevotella*, DAP mengkatalisis reaksi isomerisasi stereokimia dari LL-diaminopimelate menjadi meso-DAP sebagai komponen penting dalam dinding sel bakteri Gram-negatif, yang merupakan prekursor penting dalam sintesis peptida (Triassi et al., 2014). Enzim ini bekerja sebagai dimer untuk aktivitas katalitiknya. Struktur DAP memungkinkan pengikatan substrat yang optimal dan katalisis efisien melalui residu sistein aktif di situs katalitik. Aktivitas DAP ini sangat vital untuk menjaga integritas dinding sel dan kelangsungan hidup *Prevotella*. Selain perannya dalam pembentukan dinding sel, DAP juga berkontribusi dalam metabolisme nitrogen terutama pada spesies yang hidup di lingkungan dengan ketersediaan nitrogen yang terbatas.

Enzim ini tidak hanya penting untuk sintesis peptidoglikan, tetapi juga mendukung adaptasi metabolik bakteri terhadap kondisi lingkungan yang berubah. Karena peran krusialnya, DAP menjadi target potensial dalam pengembangan antibiotik baru untuk mengendalikan infeksi yang disebabkan oleh *Prevotella*. (Hor et al., 2013).

Inhibisi DAP dapat mengganggu biosintesis dinding sel dan sintesis lisin, yang akhirnya menyebabkan kematian bakteri. Demikian juga mutasi pada residu tertentu dalam DAP dapat mengakibatkan kehilangan aktivitas katalitik. Karena peran krusialnya, DAP menjadi target potensial dalam pengembangan antibiotik baru untuk mengendalikan infeksi yang disebabkan oleh *Prevotella*. Pengembangan inhibitor yang menargetkan dimerisasi atau fungsi enzim dapat menjadi strategi efektif dalam menciptakan agen antibakteri baru (Hor et al., 2013).

Kedua enzim ini memiliki fungsi penting dimana peptidyl-tRNA hydrolase (PTH) berfungsi mendaur ulang tRNA dan sintesis protein, sedangkan diaminopimelate epimerase (DAP) berperan dalam biosintesis dinding sel bakteri. Bila kedua enzim ini dihambat maka proses sintesis protein dan biosintesis dinding sel, terganggu dan berpotensi menghambat atau mematikan pertumbuhan bakteri. Oleh karena itu kedua enzim ini menjadi target strategis dalam pengembangan terapi anti bakteri baru. (Hor et al., 2013)

Ekstrak *Moringa oleifera* mulai banyak diteliti terkait sifat anti mikroba,

ta kemampuannya dalam mempercepat proses penyembuhan asi jaringan. Meskipun banyak studi yang menunjukkan potensi *oleifera* dalam pengelolaan berbagai kondisi medis, informasi aannya dalam bidang kedokteran gigi masih terbatas (Shafiq 23). Dengan terdapat berbagai senyawa bioaktif dalam daun lusuran senyawa bioaktif yang memiliki potensi tertentu dan hatian penulis adalah sifat anti bakteri daun kelor yang mungkin



bisa ditambahkan ke dalam kalsium hidroksida. Penelusuran awal dapat dilakukan dengan metode *in silico* melalui interaksi senyawa bioaktif yang terdapat dalam daun kelor dengan reseptor tertentu sebagai target protein spesifik (Pappalardo et al., 2019).

Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi potensi senyawa bioaktif daun kelor dalam menghambat aktivitas PTH dan DAP melalui pendekatan *in silico*. Studi ini diharapkan dapat memberikan wawasan baru tentang kemungkinan penggunaan daun kelor sebagai sumber senyawa antibakteri alami yang dapat dikembangkan lebih lanjut sebagai obat antibakteri berbasis herbal.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka permasalahan yang dapat dirumuskan adalah manakah senyawa bioaktif daun kelor memiliki efek antibakteri dan bagaimana interaksi senyawa bioaktif daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap Peptidyl-tRNA hydrolase (PTH) dan Diaminopimelate epimerase (DAP) melalui analisis *molecular docking dan dynamics*.

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengevaluasi interaksi senyawa bioaktif *Moringa oleifera* terhadap Peptidyl-tRNA hydrolase (PTH) dan Diaminopimelate epimerase (DAP) melalui analisis *molecular docking dan dan dynamics*.

1.3.2. Tujuan Khusus

Tujuan khusus :

1. Mengevaluasi energi ikatan yang terbentuk dari hasil *docking* senyawa bioaktif *Moringa oleifera* terhadap Peptidyl-tRNA hydrolase (PTH) dan Diaminopimelate epimerase (DAP).
2. Mengevaluasi jenis interaksi dari hasil *docking* senyawa bioaktif *Moringa oleifera* terhadap Peptidyl-tRNA hydrolase (PTH) dan Diaminopimelate epimerase (DAP).
3. Mengevaluasi stabilitas kompleks senyawa terbaik terhadap Peptidyl-tRNA hydrolase (PTH) dan Diaminopimelate epimerase (DAP) simulasi dinamika molekul.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat IPTEK

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai bahan rujukan referensi, masukan dan wawasan tentang studi *In silico* senyawa bioaktif *Moringa oleifera* terhadap Peptidyl-tRNA hydrolase (PTH) dan elate epimerase (DAP) yang memiliki efek anti bakteri.

inis

ntian ini diharapkan dapat digunakan sebagai masukan dalam gan dan pemanfaatan hasil sumber daya alam Sulawesi itu *Moringa oleifera* yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan



1.5. Hipotesis

1. Hipotesis Nol (H_0)

Tidak terdapat senyawa bioaktif *Moringa oleifera* yang memiliki potensi sebagai antibakteri melalui ikatan terhadap Peptidyl-tRNA hydrolase (PTH) dan Diaminopimelate epimerase (DAP).

2. Hipotesis Alternatif (H_1)

Terdapat senyawa bioaktif *Moringa oleifera* yang memiliki potensi antibakteri melalui ikatan terhadap Peptidyl-tRNA hydrolase (PTH) dan Diaminopimelate epimerase (DAP).





Optimized using
trial version
www.balesio.com

BAB II METODE PENELITIAN

2.1. Rancangan Penelitian

2.1.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan penelitian eksperimental *virtual-digital*.

2.1.2. Desain Penelitian

Desain penelitian observasional-eksperimental.

2.2. Tempat dan Waktu Penelitian

2.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin dan Laboratorium Farmasi Poltekkes Kemenkes Makassar.

2.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret - Mei 2025

2.3. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

2.3.1 Variabel Penelitian

Variabel bebas : Struktur senyawa bioaktif pada *M. oleifera*

Variabel antara :

- Nilai binding affinity
- Jenis interaksi
- Stabilitas pengikatan yang dihasilkan dari simulasi

Variabel terikat :

Efektivitas senyawa bioaktif dalam berinteraksi dengan reseptor PTH dan DAP

Variabel kendali:

- Jenis reseptor
- Parameter molecular docking dan dinamika molekul

2.3.2 Definisi Operasional



a Bioaktif *M. Oleifera*: adalah senyawa metabolit sekunder dihasilkan *M. oleifera* yang dapat berinteraksi dengan berbagai senyawa dalam tubuh, baik dengan efek terapeutik maupun efek toksik. Senyawa ini dimodelkan dalam format tiga dimensi (3D) untuk digunakan dalam *molecular docking* dan dinamika molekul.

- b. **Molecular Docking:** proses simulasi *in silico* untuk mengevaluasi potensi interaksi antara senyawa bioaktif, reseptor PTH dan DAP. Hasilnya diukur melalui nilai *binding affinity* (kekuatan interaksi) yang dinyatakan dalam satuan energi (kcal/mol).
- c. **Dinamika Molekul:** simulasi dinamika molekuler yang digunakan untuk menganalisis stabilitas kompleks senyawa-reseptor dalam kondisi fisiologis. Parameter yang dievaluasi meliputi RMSD, RMSF, energi total, dan visualisasi perubahan konformasi.
- d. **RMSD (Root Mean Square Deviation):** pengukuran perbedaan antara dua struktur, yaitu struktur target dan referensi untuk mengidentifikasi perubahan besar dalam struktur protein.
- e. **RMSF (Root Mean Square Fluctuation):** pengukuran perpindahan atom tertentu atau kelompok atom terhadap struktur referensi.
- f. **Nilai Binding Affinity:** energi ikatan yang dihasilkan dari molecular docking, yang menunjukkan kekuatan interaksi antara senyawa bioaktif dengan reseptor. Nilai yang lebih menunjukkan interaksi yang lebih kuat.
- g. **Jenis interaksi:** ikatan yang dihasilkan dari *molecular docking*, yang menunjukkan jenis interaksi antara senyawa bioaktif dengan reseptor ikatan, interaksi hidrofobik berupa ikatan, ikatan hidrofobik.
- h. **Stabilitas ikatan yang dihasilkan simulasi:** parameter yang menunjukkan kestabilan interaksi antara senyawa bioaktif dan reseptor histamin dalam simulasi dinamika molekuler. Stabilitas diukur melalui nilai *RMSD*, *RMSF*, dan energi total dalam jangka waktu tertentu.
- i. **Jenis Reseptor:** protein target berupa reseptor *PTH* dan *DAP* spesifik pada permukaan sel mast, yang struktur tiga dimensinya diperoleh dari *Protein Data Bank* (PDB) dan digunakan sebagai model untuk interaksi dengan senyawa bioaktif
- j. **Parameter molecular docking dan dinamika molekul:** parameter yang digunakan yang mempengaruhi kondisi simulasi dinamika molekul berupa pH, suhu, tekanan, waktu simulasi, *force field*, dan kondisi solvasi.

2.3. Bahan dan Alat

2.3.1 Alat yang Digunakan

2.3.1.1 Perangkat Keras



Perangkat keras yang digunakan dalam penelitian ini adalah top dan sistem operasi *Windows 11*. Laptop terhubung dengan net.

Perangkat Lunak

angkat lunak *docking* molekuler adalah alat yang sangat ting dalam biologi komputasi dan penemuan obat. Perangkat ak ini memungkinkan simulasi dan prediksi interaksi antara

molekul kecil dan protein target, dan menggunakan algoritma yang canggih untuk memberikan gambaran rinci tentang fenomena pengikatan molekul. Perangkat lunak yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya : *Protein Data Bank* (PDB), Website Knapsack, Website Pubchem, Autodock tools 1.5.6, Aplikasi *Autodock 4*, Aplikasi *Biovia Discovery Studio Visualization*, Aplikasi GROMACS.

- a. Website *Protein Data Bank* (PDB) ID (<https://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>) untuk mendownload data protein



Gambar 2. 1 Tampilan Website Protein Data Bank

- b. Website *Pubchem* yang merupakan arsip terbuka berisi informasi berbagai entitas kimia termasuk molekul kecil, karbohidrat, lipid dan asam amino (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>).



Optimized using
trial version
www.balesio.com



Gambar 2. 2 Tampilan Website pubchem

c. Aplikasi MOE *Molecular Operating Environment*



Gambar 2. 3 Aplikasi MOE



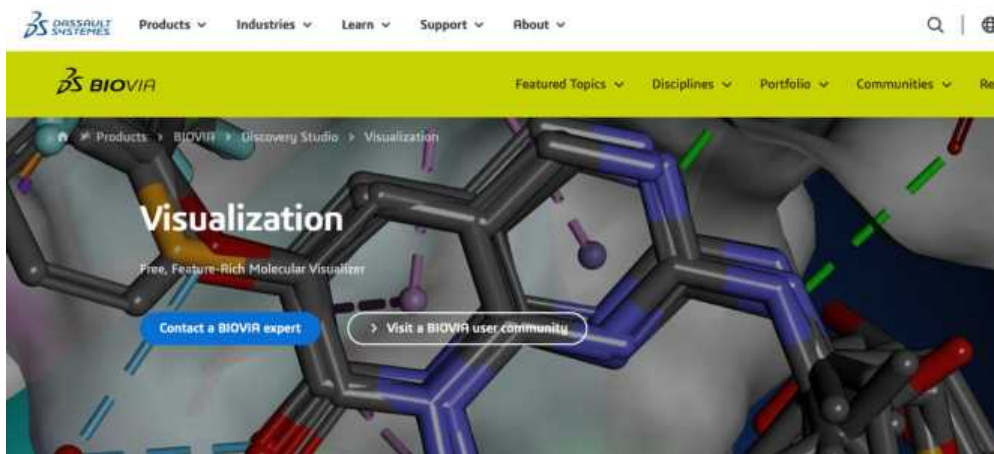
Optimized using
trial version
www.balesio.com

- d. Aplikasi *Autodock* untuk melakukan *docking ligan dan reseptor*



Gambar 2. 4 Aplikasi Autodock 4

- e. Aplikasi *Biovia Discovery Studio Visualization 2017* untuk melakukan pengeditan ligan dan reseptor yang telah dilakukan *docking*.



Gambar 2. 5 Aplikasi *Biovia Discovery Studio Visualizer*



Optimized using
trial version
www.balesio.com

f. Aplikasi GROMACS untuk simulasi dinamika molekul



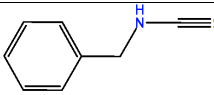
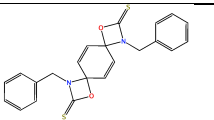
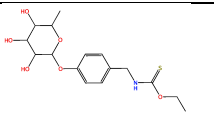
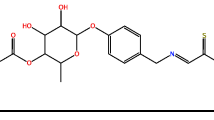
Gambar 2. 6 Aplikasi GROMACS

2.3.2 Bahan yang Digunakan

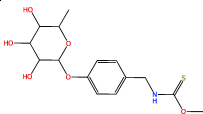
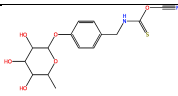
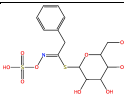
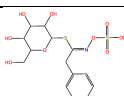
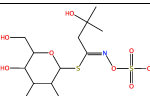
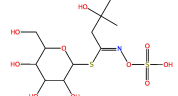
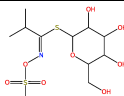
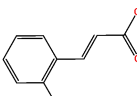
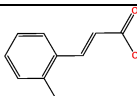
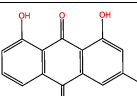
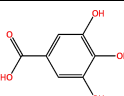
2.3.2.1 Senyawa Bioaktif Daun Kelor (*Moringa oleifera*)

Struktur metabolit sekunder diperoleh sebanyak 49 melalui referensi database Knapsack (https://www.knapsackfamily.com/KNApSack_Family/). Kemudian diunduh dari Pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>).

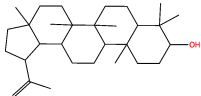
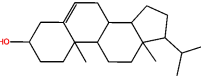
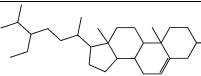
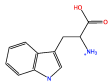
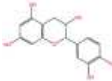
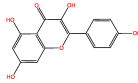
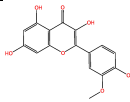
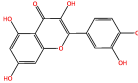
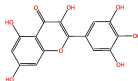
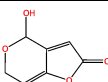
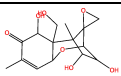
Tabel 2.1 Daftar senyawa metabolit sekunder *Moringa oleifera*

No.	Ligand	Pubchem C_ID	Struktur
1	Benzyl isothiocyanate	2346	
2	Pterygospermin	72201063	
3	NiazimicinA	10247749	
	NiazimininA	44559760	

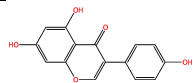
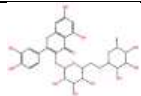
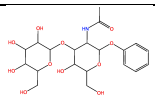
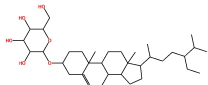
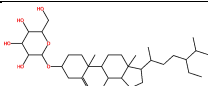
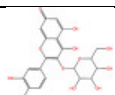
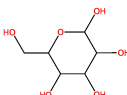
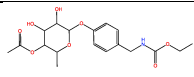
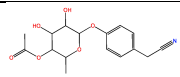
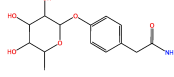
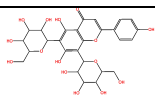
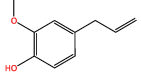


5	NiazininA	89812211	
6	Niazidin	11792427	
7	Benzylglucosinolate	9548605	
8	Sinalbin	76956748	
9	Glucoconringiin	131752365	
10	Glucocochlearin	5281135	
11	Glucoputranjivin	441524	
12	Coumaric acid	637542	
13	2-Hydroxy cinnamic acid	637540	
14	Daidzein	5281708	
	Gallicacid	370	

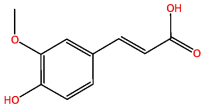
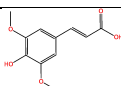
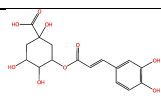
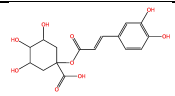
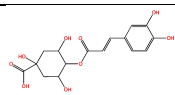
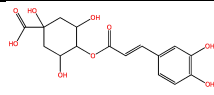
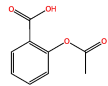
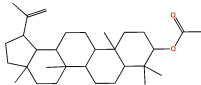


16	Lupenol	236432	
17	alpha-amyrin	73170	
18	Cholest5en3ol	304	
19	Sitosterol	222284	
20	Tryptophan	6305	
21	Ellagic acid	5281855	
22	Epicatechin	72276	
23	Kaempferol	5280863	
24	Isorhamnetin	5281654	
25	Quercetin	5280343	
26	Myricetin	5281672	
27	Gentisic acid	3469	
	Moringyne	131751186	



29	Genistein	5280961	
30	Rutin	5280805	
31	MarumosiideB	11671631	
32	Glucopyranosyl sitosterol	70699375	
33	3-O-beta-Glucopyranosyl sitosterol	12309067	
34	Hirsutrin	74982342	
35	D-allose	439507	
36	Niazimin	10339912	
37	Niazirinin	10426197	
38	Marumosiide-A	101794623	
39	Astragalin	5282102	
40	Vicenin	13644663	
	Eugenol	3314	

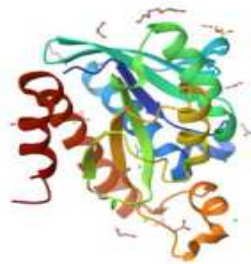


42	Ferulic acid	445858	
43	Sinapic acid	1549091	
44	Chlorogenic acid	1794427	
45	5-Caffeoylquinic Acid	5315832	
46	Caffeoylquinic Acid	10155076	
47	4-Caffeoylquinic Acid	58427569	
48	Caffeic acid	689043	
49	Lupeolacetate	92157	



4.2.2.2 Reseptor target

Struktur tiga dimensi dari reseptor Peptidyl-tRNA hydrolase (PTH) PDB ID:7BRD, dan Diaminopimelate epimerase (DAP) PDB ID:3FVE, yang berfungsi sebagai protein target diperoleh dari laman PDB ID <https://www.rcsb.org/pdb>.



Gambar 2.7 Reseptor Peptidyl-tRNA hydrolase (PTH) dengan kode PDB ID:7BRD (Sumber: PDB)



Gambar 2.8 Reseptor *DSPP* (RCSB: AF_AFA0A1P8AV76F1)



2.4. Metode Penelitian

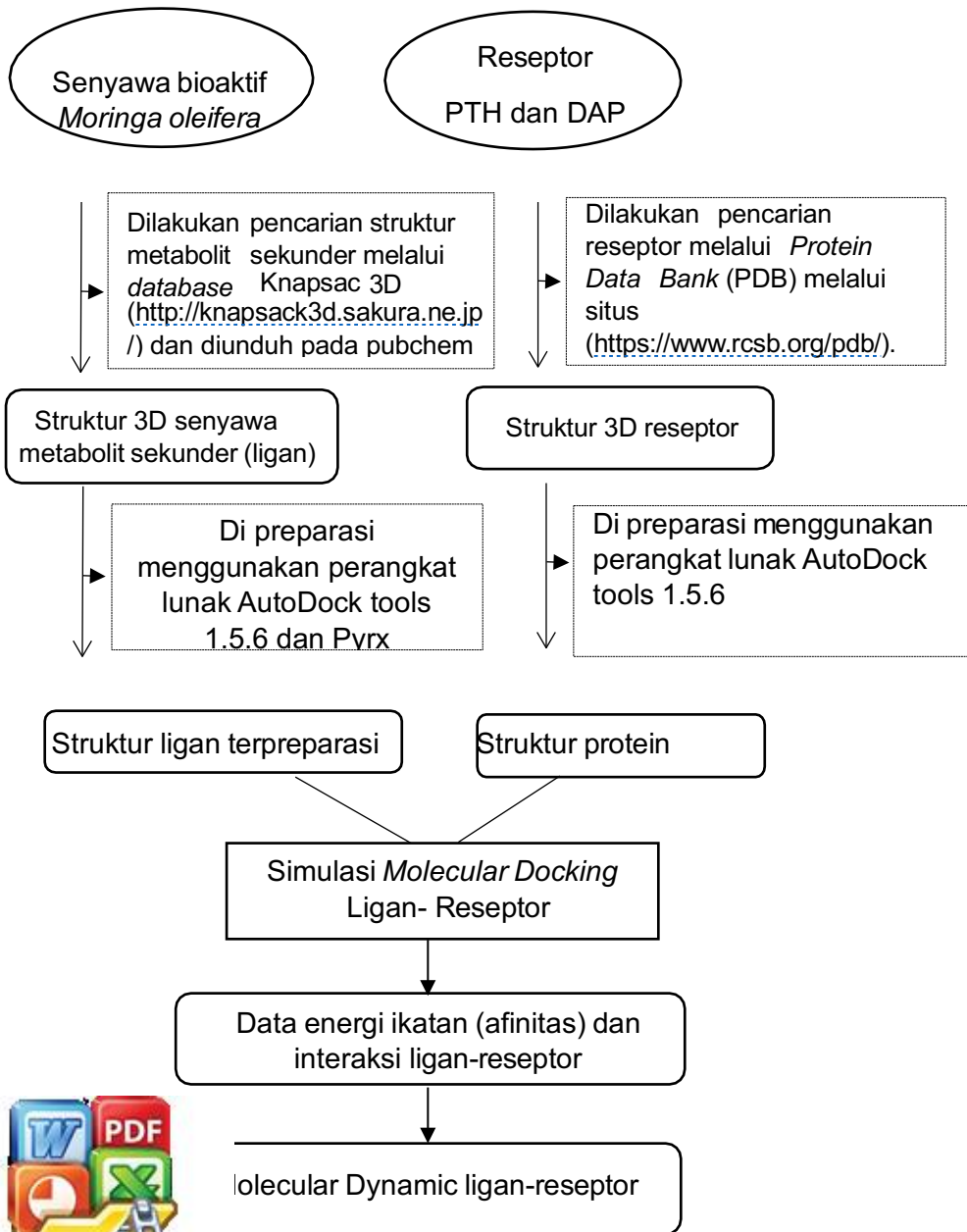
Penelitian ini merupakan jenis penelitian *eksperimental* secara studi *in silico* untuk menguji apakah variabel-variabel eksperimen efektif atau tidak dengan bantuan sistem komputer. Penelitian ini menggunakan analisis *molecular docking* dari interaksi reseptor yang didapatkan dari web *Protein Data Bank* (PDB) ID dan ligan berupa senyawa metabolit sekunder dari referensi *database Knapsack* dan diunduh dari *website Pubchem*.

Struktur molekul yang dioptimalkan secara geometris kemudian digunakan dalam simulasi docking molekul. Simulasi docking molekul dilakukan antara ligan terhadap PtH dan DAP sebagai reseptor menggunakan program AutoDock4. Simulasi docking molekul ini dilakukan dengan torsi maksimum menggunakan pengaturan ukuran kotak 40 x 40 x 40 dengan jarak 0,375 Å. Algoritma Genetika Lamarckian diterapkan sebagai metode pencarian, dengan 100 kali simulasi per docking, ukuran populasi 150, jumlah evaluasi energi maksimum ditetapkan 2.500.000, dan jumlah generasi maksimum ditetapkan 27.000. Data simulasi docking molekuler kemudian dianalisis menggunakan program BIOVIA Discovery Studio Visualizer (2017) dengan membandingkan energi ikatan dan interaksi asam amino.



2.5. Pelaksanaan Penelitian

Alur Penelitian



Gambar 2.9 Alur Penelitian



2.3.2 Parameter Pengamatan

Penelitian melakukan beberapa tahapan kegiatan dengan parameter tertentu, yaitu:

2.3.2.1 Validasi metode docking

Dilakukan *re-docking native ligand* terhadap reseptornya selama proses validasi metode *docking* ini. Nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*) adalah parameter yang diamati dalam proses ini. Metode *docking* dianggap valid selama nilai RMSD kurang dari 2Å. Jika nilai RMSD lebih besar dari 2Å, metode tersebut tidak valid (Frengki et al., 2013).

2.3.2.2 Hasil docking metabolit sekunder

Dalam proses docking, parameter yang diamati adalah energi pengikatan bebas dalam satuan Kcal/mol. Semakin rendah energi pengikatan antara ligan dan reseptor, semakin stabil ikatannya. (Pratama, Poerwono and Siswodihardjo, 2020)

2.3.2.3 Hasil Visualisasi Molecular Docking dengan Discovery Studio 2017 R2 Client

Parameter yang diamati dalam eksperimen ini adalah kesesuaian antara residu asam amino dan jenis ikatan yang dibentuk antara ligan dan reseptor. Interaksi antara ligan uji dan jenis ikatan yang sebanding dengan ligan asli menunjukkan aktivitas yang sebanding. Discovery Studio digunakan untuk menampilkan hasil docking molekuler (Pratama, Poerwono and Siswodihardjo, 2020)

2.3.2.4 Hasil Prediksi Nilai Parameter Farmakokinetik Senyawa Bioaktif *Moringa oleifera* dan prediksi sifat fisikokimia berdasarkan aturan Lipinski's Rule of Five (RO5).

Menurut aturan Lipinski, pemberian obat oral terkait dengan absorpsi dan distribusi obat. Lima Peraturan Lipinski, berat molekul tidak boleh lebih dari 500 g/mol, koefisien partisi (logP) tidak boleh lebih dari 5, dan jumlah ikatan hidrogen donor dan akseptor harus kurang dari 5. Selama tidak ada pelanggaran terhadap aturan Lipinski RO5, senyawa uji dianggap memenuhi persyaratan untuk digunakan sebagai sediaan oral (Lipinski, 2004). Peningkatan berat molekul berhubungan dengan bioavailabilitas yang buruk, fraksi yang diserap buruk, fraksi terikat lebih tinggi dan pembersihan ginjal buruk (Sakaeda et al., 2001). Nilai logP suatu senyawa bervariasi antara -0.56 hingga 4.29, semakin besar nilai LogP maka hidrofilitas senyawa tersebut semakin berkurang, hal ini



menunjukkan rendahnya bioavailabilitas. (Singh *et al.*, 2020)

2.3.2.5 Prediksi Profil ADMET

Analisis Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Eliminasi, dan Toksisitas (ADMET) merupakan hal yang penting dalam penemuan dan pengembangan obat. Parameter ini diuji menggunakan Software berbasis web, yaitu SwissADME (<http://www.swissadme.ch>) atau website PkCSM. Beberapa dari senyawa yang tidak memiliki informasi di PubChem diprediksi menggunakan metode konsensus dalam Toxicity Estimation Software Tool (TEST).

2.6.2. Persiapan Ligan

a. Pengunduhan Ligan

Penelitian ini menggunakan metode *molecular docking*. Ligan yang digunakan adalah senyawa bioaktif daun kelor yang diperoleh dari *database knapsack* dan diunduh dengan PubChem ID sesuai senyawa yang akan dilakukan *docking*. Diunduh dengan format .sdf yang diperoleh dari <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>

b. Preparasi Ligan

Preparasi ligan menggunakan aplikasi perangkat lunak *AutoDock tools* 1.5.6 dan Pyrx.

2.6.3. Persiapan Reseptor

a) Pengunduhan

Protein Data Bank dengan alamat situs (<http://www.rcsb.org/pdb/>) penelitian ini menggunakan Peptidyl-tRNA hydrolase (PTH) dan Diaminopimelate epimerase (DAP) dengan identitas makromolekul PDB ID diunduh dalam format pdb.

b) Preparasi Reseptor

Preparasi protein target menggunakan perangkat lunak *AutoDock tools* 1.5.6 dengan cara memprotonasi dan menentukan koordinat dari protein target, disimpan dalam format pdbqt.

c) *Molecular docking*

Docking molekul senyawa bioaktif *Moringa oleifera* dilakukan dengan menggunakan *docking Autodock*.

d) Penilaian (Skor)

Penilaian dalam penelitian ini berupa penilaian terhadap *Root Mean Square Deviation* (RMSD) dengan satuan amstrong (Å), energi ikatan dalam satuan Kcal/mol.



2.6.6. Validasi Metode *Docking*.

Tujuan validasi *docking* untuk memastikan bahwa orientasi ligan dan posisi yang diperoleh dari studi *docking* bernilai valid dimana nilai RMSD $\leq 2.0 \text{ \AA}$

2.6.7. Visualisasi Hasil *Docking*

Tujuan visualisasi adalah menganalisis jenis interaksi antara senyawa bioaktif daun kelor dengan Peptidyl-tRNA hydrolase (PTH) dan Diaminopimelate epimerase (DAP). Analisis data dilakukan Biovia *Discovery Studio* dengan memperhatikan hasil *docking* senyawa aktif daun kelor dengan Peptidyl-tRNA hydrolase (PTH) dan Diaminopimelate epimerase (DAP).

Penentuan konformasi ligan hasil *docking* dilakukan dengan memilih konformasi ligan yang mempunyai afinitas ikatan yang paling rendah dengan pose terbaik kemudian dianalisa menggunakan Biovia *Discovery Studio*. Selanjutnya hasil penelitian akan ditampilkan dalam bentuk tabulasi dan ilustrasi tiga dimensi, serta dijelaskan secara naratif.

2.6.8. *Drug Likeness* dan Profil ADMET

Analisis absorpsi, distribusi, metabolisme, eliminasi, dan toksisitas (ADMET) merupakan hal yang penting dalam penemuan dan pengembangan obat. *Drug likeness* ditentukan oleh aturan Lipinski 5 (RO5). Profil ADMET yang berhubungan dengan RO5 seperti *H-bond donor* (HBD) kurang dari 5, *H-bond acceptor* (HBA) kurang dari 10, Moriguchi LogP (M LogP) kurang dari 4.15 atau terhitung sebagai LogP (C LogP) kurang dari 5, dan berat molekul kurang dari 500 g/mol. Sifat fisikokimia lainnya seperti *topological polar surface area* (TPSA, kurang dari $\text{\AA}^2$) juga dianalisis. *Software* berbasis web, yaitu *SwissADME* (<http://www.swissadme.ch>) atau *website* PkCSM digunakan untuk memeriksa parameter tersebut. Beberapa dari senyawa yang tidak memiliki informasi di *PubChem* diprediksi menggunakan metode konsensus dalam *Toxicity Estimation Software Tool* (TEST).

2.6.9. Molecular Dynamic

Simulasi *molecular dynamic* senyawa bioaktif *M.Oleifera* dilakukan dengan menggunakan aplikasi GROMACS.

2.6.10. Tahap Pelaporan

Data numerik yang diperoleh akan diolah dan dianalisis, ijtunya dilaporkan dalam bentuk tabel dan grafik hasil litian.

