

Studi *In Silico* Senyawa Turunan Phthalosianin terhadap Reseptor HasAp pada Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sebagai Kandidat Fotosensitizer

Eky Syahroni, Hilda Aprilia Wisnuwardani, Taufik Muhammad Fakhri
Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung,
Bandung, Indonesia
email: ekisahroni123roni@gmail.com, hilda.aprilia@gmail.com, taufikmuhammadf@gmail.com

ABSTRACT: In developing countries especially Indonesia infectious diseases caused by bacteria are quite high so that often the occurrence of antibiotic resistance. One example of the bacterium *Pseudomonas aeruginosa* can lead to infections and cause eye damage. Previous treatments such as gentamicin, cefotaxime and tobramycin has been resistant. So developed the new treatment method of photodynamic therapy (PDT) by using special drug known as photosensitizers (PS) agent so as to kill or damage target cell by using visible light at certain wavelengths. This research used the some software including ChemBioDraw Professional 16.0, ChemBio3D 16.0, Gausview 5.0.8, Gaussian 09, MGL Tools 1.5.6 which has been equipped with AutoDock Tools 4.2.3, BIOVIA Discovery Studio Visualizer 2019 and Toxtree 3.1.0. In this study used the phthalocyanin derivative compounds labeled with Nickel, Cobalt, and Copper metals against HasAp receptors owned by the *Pseudomonas aeruginosa* bacteria. This study aims to observe the interactions that occurred from the three compounds to the inhibition activity antibacterial of *Pseudomonas aeruginosa*. The results of this study based on the testing of toxicity test compounds can still be used as antibacterial drug candidate are phthalocyanin derivative labeled with Nickel metal.

Keywords: Photosensitizers, Photodynamic, *Pseudomonas aeruginosa*, Receptor HasAp.

ABSTRAK: Di negara yang sedang berkembang khususnya Indonesia penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri cukup tinggi sehingga sering terjadinya resistensi antibiotik. Salah satu contoh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang bisa mengakibatkan infeksi serta bisa menyebabkan kerusakan mata. Pengobatan sebelumnya seperti pemberian gentamicin, sefotaksim serta tobramicin telah mengalami resistensi. Sehingga dikembangkan metode pengobatan baru berbasis photodynamic therapy (PDT) dengan menggunakan obat khusus yang dikenal dengan agen photosensitizers (PS) sehingga bisa membunuh atau merusak sel target dengan menggunakan cahaya tampak pada panjang gelombang tertentu. Penelitian ini menggunakan beberapa software diantaranya ChemBioDraw Professional 16.0, ChemBio3D 16.0, Gausview 5.0.8, Gaussian 09, MGL Tools 1.5.6 yang telah dilengkapi AutoDock Tools 4.2.3, BIOVIA Discovery Studio Visualizer 2019 dan Toxtree 3.1.0. Pada penelitian ini digunakan senyawa turunan phthalosianin yang dilabeli dengan logam Nikel, Kobalt, dan Tembaga terhadap reseptor HasAp yang dimiliki bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Penelitian ini bertujuan untuk mengamati interaksi yang terjadi dari ketiga senyawa tersebut terhadap aktivitas penghambatan antibakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil dari penelitian ini berdasarkan pengujian toksisitas senyawa uji menunjukkan hasil dimana senyawa tersebut masih bisa digunakan sebagai kandidat obat antibakteri adalah senyawa turunan phthalosianin yang dilabeli logam Nikel.

Kata Kunci: Photosensitizers, Photodynamic, *Pseudomonas aeruginosa*, Reseptor HasAp.

1 PENDAHULUAN

Pengobatan yang efektif yang digunakan terhadap mikroba adalah kuratif dan preventif dalam melindungi pasien terhadap penyakit fatal yang bisa menyebabkan kematian. Dimana dalam

pertumbuhannya sekitar 45% kematian disebabkan oleh mikroba patogen. Resistensi terhadap antibiotik merupakan salah satu ancaman terbesar bagi dunia kesehatan, sehingga harus ditemukan cara untuk mengatasi hal tersebut (Samuel, *et. al*

2018).

Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* tergolong kedalam bakteri Gram negatif dan bersifat *oportunistik* serta menyebabkan penyakit jika terjadi penurunan sistem kekebalan tubuh. (Fiorillo, *et. al*, 2001).

Tingkat resistensi terhadap antibiotik khususnya bakteri *P. aeruginosa* di Amerika Serikat terjadi peningkatan, lebih dari 51.000 infeksi *P. aeruginosa* terjadi setiap tahun, tidak kurang dari 6.000 (13%) mengalami *multi-drug resistant* (MDR). Beberapa antibiotik yang telah dilaporkan resistensi terhadap bakteri *P. aeruginosa* seperti imipenem (20,8%), golongan sefalosporin contohnya sefotaksim (90%) serta seftriakson (85%), golongan aminoglikosida contohnya tobramisin (70,07%) dan gentamisin (71,89%), golongan fluorokuinolon contohnya siprofloksasin (35%) dan levofloksasin (32%) (Raakhee, *et. al*, 2014).

Terapi *photodynamic* (PDT) digunakan sebagai pengobatan alternatif terhadap penyakit ganas. Terapi *photodynamic* didasarkan pada penyerapan fotosensitizer. Reseptor target yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa* adalah reseptor HasAp (Chikako, *et. al*, 2014).

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka perumusan masalah dalam penelitian ini sebagai sebagai upaya terapi *photodynamic* (PDT) dengan menggunakan senyawa turunan pthalosianin terhadap bakteri *P. aeruginosa*.

2 LANDASAN TEORI

Salah satu golongan bakteri Gram negatif serta tergolong kedalam bakteri yang mampu beradaptasi dalam kondisi ekstrem seperti nutrisi serta oksigen yang rendah. *P. aeruginosa* bisa berkembang dalam rentang suhu 4-42 °C (I Gusti Ayu., dkk, 2019). *P. aeruginosa* sendiri bisa hidup di peralatan kesehatan serta bagian-bagian lain pada rumah sakit, dengan demikian lebih mudah untuk menginfeksi pasien yang sedang mengalami penurunan sistem kekebalan tubuh (Engel, 2019).

Bakteri *P. aeruginosa* membutuhkan zat besi untuk pertumbuhan. Dengan demikian dikembangkan berbagai mekanisme untuk memperoleh zat besi dari lingkungan. Salah satunya mekanisme disebut *acquisition system*

(Has), dengan memperoleh heme (kompleks besi) dari protein heme (misalnya, hemoglobin) yang diperoleh dari inang seperti manusia dan digunakan sebagai sumber zat besi (Chikako, *et. al*, 2014).

Terapi *photodynamic* (PDT) saat ini digunakan sebagai pengobatan alternatif untuk penyakit yang berbahaya. Hal ini didasarkan mekanisme *photodynamic* pada penyerapan Fotosensitizer (Ancely, *et. al*, 2019).

Phthalosianin memiliki fisik dan bentuk kimia yang memungkinkan banyak senyawa bisa dimasukkan dalam strukturnya. Fleksibilitas struktur kimianya memungkinkan untuk memasukan substituent yang berbeda pada senyawa phthalosianin dan memungkinkan memiliki banyak kegunaan (Samuel, *et. al* 2018).

Pada penelitian ini digunakan beberapa jenis logam diantaranya Tembaga (Cu), Kobalt (Co) dan Nikel yang nantinya akan disisipi pada senyawa phthalosianin.

Uji *in silico* merupakan suatu istilah untuk percobaan maupun pengujian yang dilakukan dengan metode simulasi komputer. Pengujian secara *in silico* merupakan metode yang digunakan untuk mengawali penemuan suatu senyawa obat baru serta untuk meningkatkan efisiensi dalam melakukan optimasi aktivitas dari senyawa induk. Kegunaan uji *in silico* adalah memprediksi, memberi hipotesis, memberi penemuan baru atau kemajuan baru dalam pengobatan bahkan terapi (Hardjono, 2013).

METODELOGI PENELITIAN

Atom logam yang akan digunakan yaitu Nikel (Ni), Cobalt (Co) dan Tembaga (Cu) yang dibutuhkan pada percobaan digambar dalam bentuk 2D serta 3D menggunakan Software *ChemBioDraw Professional* 16.0 dan Software *ChemBio3D* 16.0. Selanjutnya optimasi geometri menggunakan Software *GausView* 5.0.8 DFT LANL2DZ dan Software *Gaussian* versi 09 sehingga diperoleh konformasi struktur yang stabil serta terbaik. Data tersebut disimpan dalam format PDB (Protein Data Bank).

Kemudian reseptor uji HasAp yang dibutuhkan untuk melakukan *docking* dapat diunduh pada website protein data bank (www.rcsb.org). dengan kode PDB 3W8O.

Selanjutnya dilakukan validasi metode *docking*

menggunakan Software *MGLTools* 1.5.6 yang telah dilengkapi dengan *AutoDock Tools* versi 4.2.3. Kemudian dilakukan simulasi *docking* pada senyawa yang akan digunakan antara phthalosianin yang dilabeli logam Nikel (Ni), Cobalt (Co) dan Tembaga (Cu) dengan reseptor HasAp menggunakan metode *docking* pada Software *MGLTools* 1.5.6 yang telah dilengkapi dengan *AutoDock Tools* versi 4.2.3.

Terakhir dilakukan prediksi uji toksisitas menggunakan Software *Toxtree* versi 3.1.0. parameter yang diamati yaitu parameter *Cramer Rules*, *Beningni* atau *Bossa Rulabase* dan *Kross TTC Decision tree*.

3 HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Penggambaran Struktur 2D & 3D Senyawa Uji

Tahap pertama pada pegujian studi *In-silico* ini adalah dilakukan penggambaran struktur dua dimensi (2D). Penggambaran tersebut bertujuan untuk melihat nilai lipofilisitas (ClogP) suatu senyawa uji, nilai reaktivitas molar CMR dan nilai bobot molekul (BM) dari ketiga senyawa tersebut kemudian diamati serta dibandingkan hasil yang telah diperoleh dengan aturan *Lipinski's Rule of Five*.

Pengamatan Berdasarkan Parameter Lipinski's Rule Of Five

Tabel IV.1 Data Parameter *Lipinski's* Senyawa Uji

Senyawa	CMR	ClogP	Nilai BM
Pc-Ni	17,4904	4,62384	747,27 g/mL
Pc-Co	17,4904	4,62384	747,51 g/mL
Pc-Cu	17,8452	4,134	756,15 g/mL

Berdasarkan hasil yang telah diperoleh dari penggambaran struktur ketiga senyawa phthalosianin yang telah dilabeli dengan logam Nikel (Ni), Kibalt (Co) dan logam Tembaga (Cu) diperoleh nilai lipofilisitas (ClogP), nilai reaktivitas molar (CMR) serta nilai bobot molekul (BM). Dari ketiga senyawa tersebut belum memenuhi syarat *Lipinski's Rule of Five*, dimana kriteria obat yang baik harus mengikuti aturan *Lipinski's Rule of Five* yang sehingga bisa membantu melihat tingkat absorpsi atau permeabilitas suaru senyawa terhadap *lipid bilayer* yang terdapat di dalam tubuh manusia. Aturan yang telah ditetapkan oleh Lipinski menyatakan bahwa berat molekul (BM) tidak melebihi 500 g/mL, nilai koefisien partisi (logP yang berikatan

dengan lipofilisitas atau hidrofobisitas) kurang dari 5, serta mempunyai jumlah donor ikatan hidrogen kurang dari 5, nilai *molar refractory* antara 40-130 serta mempunyai jumlah akseptor ikatan hidrogen kurang dari 10 (Lipinski, *et al.*, 2012).

Pengamatan Berdasarkan Selisih HOMO-LUMO Senyawa Uji

Pada percobaan ini berdasarkan hasil perhitungan terhadap tingkatan energi orbital HOMO dan orbital LUMO. Perbedaan dari energi orbital HOMO-LUMO akan menggambarkan kemudahan suatu sistem dalam mengalami eksitasi sehingga sifat kepekaanya terhadap cahaya (fotosensitivitas) akan cenderung lebih kuat.

Tabel IV.2 Data Selisih HOMO-LUMO Senyawa Uji

Senyawa	HOMO	LUMO	Selisih
Pc-Ni	-0.24550	-0.29668	0.05118
Pc-Co	-0.24562	-0.29536	0.04974
Pc-Cu	-0.24573	-0.29320	0.04757

Dari **Tabel IV.2** terlihat bahwa senyawa phthalosianin yang dilabeli logam Tembaga (Cu) memiliki selisih orbital HOMO-LUMO paling rendah dari pada senyawa phthalosianin yang dilabeli logam Nikel (Ni) dan phthalosianin yang dilabeli logam Co Sehingga dari **Tabel IV.2** diatas bahwa senyawa phthalosianin yang dilabeli logam Cu memiliki sifat fotosensitivitas yang lebih kuat dengan serta menghasilkan fotosensitivitas yang lebih tinggi dari senyawa phthalosianin yang dilabeli logam Ni dan logam Co. Dari **Tabel IV.2** ini dapat diambil pengertian bahwa semakin jauh selisih nilai HOMO-LUMO maka sifat dari fotosensitivitas semakin berkurang. Dengan demikian kekuatan sifat fotosensitivitas senyawa phthaosianin yang dilabeli logam sebagai kandidat fotosensitizer terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dapat diprediksikan dari perbedaan tingkat energi diantara orbital HOMO-LUMO tersebut (Quintero, *et al.*, 2000).

Preparasi Geometri Senyawa Uji

Pada tahapan preparasi geometri senyawa uji ini bertujuan untuk memperoleh konformasi struktur yang paling bagus serta yang paling stabil sehingga akan memperlancar proses pada tahapan selanjutnya. Preparasi geometri senyawa uji ini

menggunakan *software Gauss View* versi 5.0.8 dan *Gaussian* versi 09 menggunakan metode *Density Functional Theory* (DFT) basis set LANL2DZ sehingga bisa meramalkan struktur elektronik dan sifat transisi spin kompleks (Male dkk., 2009); memprediksi energi dan geometri senyawa (Li, *et al.*, 2003).

Pengunduhan Struktur Makromolekul

Dilakukan pengunduhan makromolekul reseptor HasAp yang akan digunakan pada website protein data bank (www.rcsb.org) dengan kode pdb 3W8O serta disimpan dalam format pdb serta nanti akan digunakan pada tahap selanjutnya. Pada pengujian ini digunakan reseptor HasAp, reseptor HasAp sendiri merupakan reseptor tempat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* untuk memperoleh protein (*strain ATCC*) (Chikako, *et al.*, 2014) yang penting untuk perkembanganbiakan hidupnya.

Pemisahan tersebut bertujuan untuk menggantikan ligan alami pada protein dan diganti dengan ligan uji untuk memastikan kecocokan dan keberhasilan dari suatu pengujian. Kemudian dilakukan preparasi makromolekul menggunakan *software Autodock Tools* versi 4.2 meliputi penambahan atom hidrogen. Penambahan atom hidrogen sendiri bertujuan untuk melengkapi struktur makromolekul, dimana pada saat dilakukan pengunduhan dari database situs resmi www.rcsb.org (*Protein Data Bank*) hingga proses pemisahan molekul air, makromolekul senyawa uji yang digunakan atom hidrogennya belum lengkap. Selanjutnya reseptor yang akan digunakan dilakukan penambahan muatan parsial dengan tujuan untuk menetralkan muatan reseptor tersebut dimana pada tahapan sebelumnya telah dilakukan penghapusan molekul air dan penambahan atom hidrogen. air dan penambahan atom hidrogen.

Validasi Metode Docking

Tahapan validasi metode *docking* bertujuan untuk melihat apakah suatu reseptor yang telah diunduh dari PDB bisa digunakan kembali untuk penambatan senyawa turunan phthalosianin yang telah dilabeli dengan logam yang akan diujikan serta memperoleh metode yang dipercaya sehingga meminimalisir kegagalan pada saat pengujian nanti. Sebelum penambatan sisi *binding site*, *Grid box* harus diatur sedemikian rupa sehingga ligan dan reseptor bisa berinteraksi dan menghasilkan nilai energi bebas (G) (Ruswanto,

dkk. 2017).

Tahapan validasi metode *docking* dilakukan dalam kondisi reseptor tanpa air yang sebelumnya telah dilakukan penghapusan molekul air karena akan mempengaruhi proses *docking*. Selain itu, air juga akan mempengaruhi hasil pengikatan antara ligan dan reseptor karena air bisa membentuk ikatan lain, yaitu ikatan hidrogen dengan reseptor (Ruswanto, dkk. 2010).

Tabel IV.3. Ukuran Grid Box, Grid Center dan Spasing Reseptor HasAp

Ukuran Grid Box			Ukuran Grid Center			Spasing (Å)
X	Y	Z	X	Y	Z	
40	38	30	65.312	-55.307	-8.683	0.375

Reseptor harus ditentukan ukuran *grid box*. *Grid box* adalah tempat ligan yang akan berinteraksi pada target reseptor (enzim) serta digambarkan dalam bentuk kubus. Ukuran grid box yang digunakan pada proses validasi metode *docking* ini dengan ukuran dimensi- X = 40, dimensi-Y = 38 dan dimensi-Z = 30. Pada *oriented docking*, ligan yang dipergunakan bersifat fleksibel dan reseptor sendiri bersifat rigid. Syarat dalam menggunakan *docking* dengan *AutoDock Tools* adalah ligan dan reseptor harus dalam bentuk format .pdbqt, terdapat grid box, dan konfigurasi. Konfigurasi tersebut harus mencantumkan nama reseptor, nama ligan, file out dengan format .pdbqt, grid center, dan grid size (Roy, *et al.*, 2014).

Tabel IV.4. Hasil Validasi Metode Docking Reseptor HasAp

Rank	Sub-Rank	Run	Binding Energy	Cluster RMSD	Reference RMSD	Grid Pattern
1	1	74	-17,10	0,00	1,30	RANKING
1	2	9	-17,10	0,00	1,30	RANKING
1	3	16	-17,10	0,00	1,30	RANKING
1	4	85	-17,10	0,00	1,30	RANKING
1	5	92	-17,10	0,00	1,30	RANKING
1	6	3	-17,10	0,00	1,30	RANKING
1	7	86	-17,10	0,00	1,30	RANKING
1	8	24	-17,10	0,00	1,30	RANKING
1	9	83	-17,10	0,00	1,30	RANKING
1	10	100	-17,10	0,00	1,30	RANKING

Setelah proses validasi metode *docking* selesai, kemudian dilakukan pengamatan parameter RMSD. RMSD sendiri merupakan jarak penyimpangan dari posisi ikatan *native* ligand

dengan protein setelah dilakukan *docking* terhadap posisi ikatan *native* ligand yang sebenarnya (Nauli, 2014 Dimana nilai *RMSD* 2Å menyatakan bahwa metode *docking* yang akan digunakan valid (memenuhi persyaratan). Semakin kecil nilai *RMSD* yang diperoleh menunjukkan posisi ligan yang diperkirakan semakin baik karena semakin mendekati konformasi asal (Dany, et., al, 2013). Sebaliknya jika nilai *RMSD* yang dipeoleh 2Å maka metode yang digunakan tidak valid. Berikut hasil nilai *RMSD* yang telah diperoleh dari proses validasi metode *docking* sebesar 1,30 Å. Dengan demikian metode yang akan digunakan pada pengujian valid serta menyatakan bahwa semakin mendekati ligan alaminya. Pada validasi ini juga diperoleh nilai *binding energy* sebesar -17,30 dimana nilai *binding energy* yang telah diperoleh kecil sehingga ikatan antara ligan dan reseptornya semakin baik dan semakin stabil.

Simulasi Docking antara Reseptor dan Senyawa Uji

Docking adalah interaksi penambatan yang terjadi antara ligan dan protein yang akan dipergunakan sehingga bisa memprediksi posisi serta orientasi ligan ketika terikat pada reseptor. Proses *docking* akan diperoleh energi ikatan (*G*) menggambarkan parameter kestabilan konformasi antara ligan dengan reseptor yang digunakan. Interaksi molekul pada ligan dan reseptor mencakup interaksi elektrostatis, interaksi hidrofobik, dan ikatan hidrogen yang berkontribusi pada harga energi ikatan (*G*) dari ligan-reseptor protein (Girija, et., al., 2010).

Setelah dilakukan proses *docking* antara senyawa phthalosianin yang dilabeli logam Nikel (Ni), Logam Kobalt (Co) dan phtahlosianin yang dilabeli logam Tembaga (Cu) terhadap reseptor HasAp diperoleh data nilai *binding energy* dan nilai konstanta inihibisi (KI) sebagai berikut:

Tabel IV.5. Data Hasil Docking Senyawa Uji dan Reseptor

Senyawa	Nilai Binding Energy	Nilai Ki (nM)
Pc-Ni	-9.87 kcal/mol	58.25
Pc-Co	-9.86 kcal/mol	58.38
Pc-Cu	-9.88 kcal/mol	57.38

Dari data tersebut senyawa phthalosianin yang Dari data tersebut senyawa phthalosianin yang dilabeli logam Tembaga (Cu) berdasarkan hasil

docking memiliki nilai *binding energy* yang lebih besar dibandingkan senyawa phthalosianin yang dilabeli logam Kobalt (Co) dan logam Nikel (Ni). Nilai *binding energy* menggambarkan ukuran kemampuan senyawa (ligan) untuk berikatan dengan reseptor target. Ikatan kovalen yang dihasilkan akan memiliki afinitas kuat, interaksi stabil dan *irreversible*. Sehingga semakin kecil nilai *binding energy*, maka afinitas antara reseptor dengan senyawa semakin tinggi begitu pula sebaliknya semakin tinggi nilai *binding energy* maka afinitas dengan senyawa semakin rendah (Ruswanto, dkk. 2017).

Kemudian dilihat dari data nilai konstanta inhibisi (KI) dapat dilihat bahwa senyawa phthalosianin yang dilabeli logam Nikel (Ni) sebesar 58,35 nM, Tembaga (Cu) sebesar 58,38 nM dan Kobalt (Co) sebesar 57,38 nM. Dimana senyawa yang memiliki nilai konstanta inhibisi (KI) yang paling kecil ialah phthalosianin yang dilabeli logam Tembaga (Cu) sebesar 57.38 nM. Hal tersebut menunjukkan bahwa ligan uji tersebut diprediksikan memiliki afinitas yang lebih baik terhadap sisi aktif reseptor HasAp dibandingkan dengan ligan uji yang lainnya (Muttaqim, dkk. 2019)

Analisis Hasil Docking

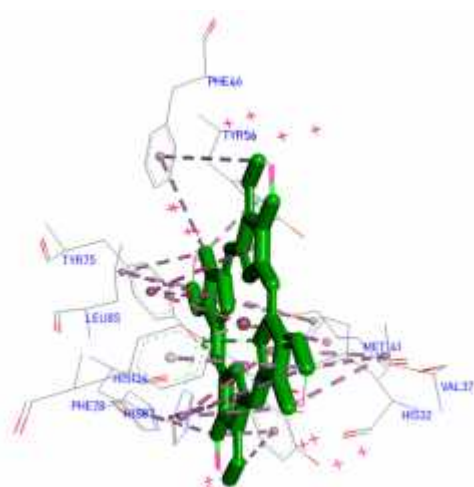
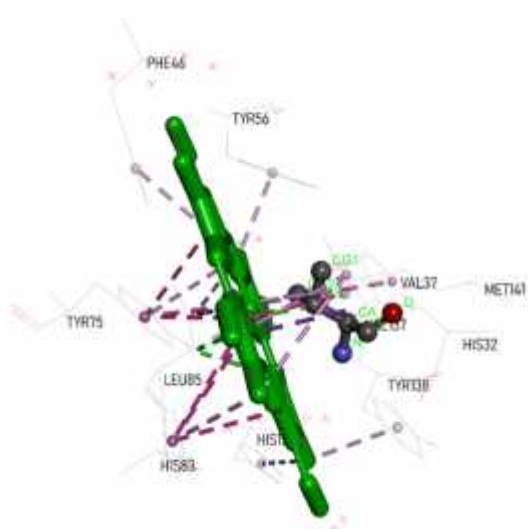
Pada analisis hasil *docking* bertujuan untuk mengetahui interaksi senyawa phthalosianin yang telah dilabeli logam Nikel (Ni), Tembaga (Cu) dan Kobalt (Co) terhadap reseptor HasAp. Reseptor yang digunakan adalah reseptor yang dapat mempengaruhi pertumbuhan sel bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Tabel IV.6. Data Interaksi Residu Asam Amino Phthalosianin Dilabeli Logam Nikel (Ni)

Residu Asam Amino	Jarak (Å)	Jenis Ikatan
A:TYR75:OH	2,56137	Hidrogen
A:TYR75:OH	2,63918	Hidrogen
A:TYR75:OH	2,00198	Hidrogen
A:VAL37:CG2	3,90547	Hidrofobik
A:HIS32:NE2	3,89963	Hidrofobik
A:TYR75	4,57686	Hidrofobik
A:HIS83	4,99755	Hidrofobik
A:HIS83	3,92525	Hidrofobik
A:HIS83	3,80212	Hidrofobik
A:TYR75	4,31859	Hidrofobik
A:TYR75	3,27102	Hidrofobik
A:HIS32 -	2,95439	Hidrofobik
A:LEU85	4,15023	Hidrofobik
A:VAL137	5,22107	Hidrofobik
A:MET141	4,02191	Hidrofobik
A:LEU85	4,31036	Hidrofobik
A:VAL37	4,21054	Hidrofobik
A:VAL37	4,79137	Hidrofobik
A:PHE46	3,28581	Hidrofobik
A:TYR56	5,00112	Hidrofobik
A:TYR75	4,06142	Hidrofobik
A:HIS83	4,33421	Hidrofobik
A:HIS134	3,75958	Hidrofobik
A:TYR138	5,47873	Hidrofobik
A:LEU85	5,28675	Hidrofobik
A:MET141	2,16458	Lainnya

Tabel IV.7. Data Interaksi Residu Asam Amino Phthalosianin Dilabeli Logam Tembaga (Cu)

Residu Asam Amino	Jarak (Å)	Jenis interaksi
A:TYR75:OH	2,42025	Hidrogen
A:TYR75:OH	2,09406	Hidrogen
A:TYR75:OH	3,46033	Hidrogen
A:HIS83:CB	2,30685	Lainnya
A:HIS32:NE2	3,68276	Hidrofobik
A:TYR75	4,72819	Hidrofobik
A:HIS83	4,02442	Hidrofobik
A:HIS83	4,00324	Hidrofobik
A:TYR75	4,22514	Hidrofobik
A:TYR75	3,36385	Hidrofobik
A:HIS32	2,96024	Hidrofobik
A:LEU85	3,75359	Hidrofobik
A:VAL137	5,18281	Hidrofobik
A:MET141	3,85295	Hidrofobik
A:LEU85	4,21635	Hidrofobik
A:VAL37	4,24698	Hidrofobik
A:VAL37	4,81874	Hidrofobik
A:PHE46	5,26557	Hidrofobik
A:PHE46	3,08631	Hidrofobik
A:TYR56	5,03818	Hidrofobik
A:PHE78	3,86444	Hidrofobik
A:HIS83	5,37852	Hidrofobik
A:HIS83	4,24005	Hidrofobik
A:HIS134	3,62303	Hidrofobik
A:TYR138	4,89475	Hidrofobik
A:TYR138	5,18952	Hidrofobik
A:LEU85	5,14143	Hidrofobik
A:MET141	4,02649	Hidrofobik

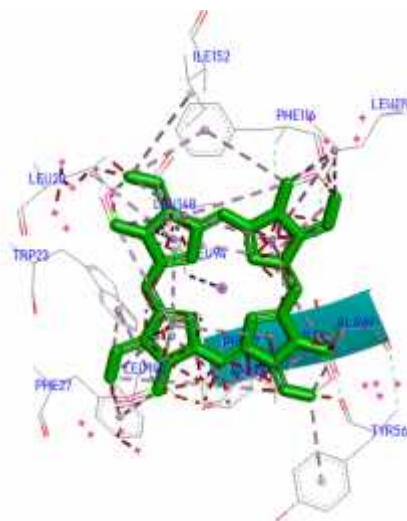


Gambar IV.1. Interaksi Residu Asam Amino Phthalosianin Dilabeli Logam Nikel (Ni)

Gambar IV.2. Interaksi Residu Asam Amino Phthalosianin Dilabeli Logam Tembaga (Cu)

Tabel IV.8. Data Interaksi Residu Asam Amino Phthalosianin Dilabeli Logam Kobalt (Co)

Residu Asam Amino	Jarak (Å)	Jenis interaksi
A:LEU94:CD1	3,78423	Hydrophobic
A:LEU94:CD2	3,59374	Hydrophobic
A:PHE67	3,63064	Hydrophobic
A:PHE67:C,O;ILE68:N	4,38671	Hydrophobic
A:ALA69	3,09459	Hydrophobic
A:ILE92	3,43005	Hydrophobic
A:LEU119	3,47649	Hydrophobic
A:LEU148	5,39342	Hydrophobic
A:ILE92	4,01132	Hydrophobic
A:LEU119	3,42631	Hydrophobic
A:LEU148	3,66179	Hydrophobic
A:ILE152	4,97867	Hydrophobic
A:LEU94	5,33833	Hydrophobic
A:LEU140	5,14735	Hydrophobic
A:LEU148	3,96188	Hydrophobic
A:ILE92	5,07688	Hydrophobic
A:LEU140	3,76045	Hydrophobic
A:LEU140	4,19287	Hydrophobic
A:TRP23	5,22959	Hydrophobic
A:TRP23	4,56399	Hydrophobic
A:PHE27	3,55284	Hydrophobic
A:PHE27	3,53256	Hydrophobic
A:TYR56	4,00948	Hydrophobic
A:PHE67	4,87613	Hydrophobic
A:PHE67	3,90614	Hydrophobic
A:PHE67	5,43654	Hydrophobic
A:PHE116	4,782	Hydrophobic
A:PHE116	4,53911	Hydrophobic
A:LEU119	5,49711	Hydrophobic
A:LEU148	4,98714	Hydrophobic
A:LEU20	4,66896	Hydrophobic
A:LEU20	4,42496	Hydrophobic
A:LEU94	5,26432	Hydrophobic
A:VAL137	4,66069	Hydrophobic
A:LEU140	4,84922	Hydrophobic



Gambar IV.3. Interaksi Residu Asam Amino Phthalosianin Dilabeli Logam Kobalt (Co)

Berdasarkan hasil visualisasi *docking* dari ketiga senyawa phthalosianin yang dilabeli logam Nikel (Ni), Tembaga (Cu) dan Kobalt (Co) terhadap reseptor HasAp menunjukkan beberapa ikatan hidrogen yang ditunjukkan dengan garis putus-putus hijau yang berikatan dengan residu asam amino. Residu asam amino senyawa phthalosianin yang dilabeli logam Nikel (Ni) berupa Tyr 75, Val 37, His 32, His 83, Tyr 75, His 32, Leu 55, Val 137, Met 141, Phe 46, Tyr 56, His 134 dan Tyr 138. Untuk residu asam amino senyawa phthalosianin yang dilabeli logam Tembaga (Cu) berupa Tyr 75, His 83, His 32, Leu 85, Val 137, Met 141, Val 37, Phe 46, Tyr 56, Phe 78, His 134 dan Tyr 138. Serta residu asam amino senyawa phthalosianin yang dilabeli logam Kobalt (Co) berupa Leu 94, Phe 67, Ile 68, Ala 69, Ile 92, Leu 119, Leu 148, Ile 152, Leu 94, Leu 140, Trp 23, Phe 27, Tyr 56, Phe 116, Leu 20 dan Val 137. Dimana jenis interaksi yang terlibat meliputi interaksi Hidrogen, Hidrofobik dan ikatan lainnya berupa ikatan dengan logam. Ikatan hidrogen pada pengujian juga diperhitungkan, mengingat interaksi yang terjadi dalam tubuh pada umumnya berupa interaksi molekuler berupa interaksi nonkovalen, reaksi tersebut berupa interaksi yang terjadi antar atom yang tidak terikat secara kovalen satu sama lain. Ikatan nonkovalen merupakan ikatan hidrogen yang banyak terdapat dalam sistem biologis, misalnya protein dan asam nukleat. Ikatan hidrogen tersebut dapat mempengaruhi dari aktivitas sifat fisika kimia seperti titik didih, titik lebur, kelarutan dalam air, dan kemampuan

pembentukan khelat. Perubahan tersebut dapat berpengaruh terhadap aktivitas biologis, seperti penghambatan enzim tirosinase (Siswando, 2000).

Prediksi Toksisitas Senyawa Uji

Prediksi toksisitas senyawa uji dilakukan untuk mengetahui potensi toksikisitas dari suatu senyawa yang telah digunakan sebagai kandidat fotosensitizer. Parameter yang diamati pada pengujian ini ada tiga, diantaranya prediksi parameter *Cramer Rules* parameter tersebut akan digunakan untuk melihat tingkatan toksisitas dilihat dari gugus fungsinya, kemudian parameter *Benigni* atau *Bossa rulebase* parameter ini digunakan agar bisa mengetahui apakah senyawa tersebut dapat menyebabkan karsinogenisitas dan mutagenisitas dan tahapan yang terakhir adalah parameter *Kroes TTC decision tree* parameter ini digunakan sehingga bisa memperkirakan ambang batas paparan senyawa obat pada manusia. Berikut data hasil toksisitas pada ketiga senyawa uji dengan ketiga parameter tersebut.

Tabel IV.9. Hasil toksisitas Senyawa Turunan Pc-Ni, Pc-Cu dan Pc-Co berdasarkan parameter *Cramer Rules*, *Benigni* atau *Bossa rulebase* dan *Kroes TTC decision tree*

Senyawa	Kategori		
	<i>Cramer Rules</i>	<i>Benigni</i> atau <i>Bossa rulebase</i>	<i>Kroes TTC decision tree</i>
Pc-Ni	Hight Class (III)	Negative for nongenotoxic carcinogenicity	Risk assessment requires compound spesific toxy data
Pc-Cu	Hight Class (III)	Structural alert for nongenotoxic carsinogenicity	Risk assessment requires compound spesific toxy data
Pc-Co	Hight Class (III)	Structural alert for nongenotoxic carsinogenicity	Risk assessment requires compound spesific toxy data

Prediksi Toksisitas Berdasarkan Parameter *Cramer Rules*

Berdasarkan parameter *Cramer Rules* yang bertujuan untuk melihat tingkatan toksisitas suatu senyawa dilihat dari gugus fungsinya menyatakan bahwa senyawa turunan phthalosianin yang dilabeli logam Kobalt (Co), Tembaga (Cu) dan

senyawa turunan phthalosianin yang dilabeli logam Nikel (Ni) termasuk kedalam tingkatan kelas III (*High Class*) yang artinya dengan konsentrasi yang tinggi dari senyawa tersebut tidak terjamin aman dalam penggunaannya. *Class III* menyatakan bahwa substansi dari struktur kimia senyawa tersebut dari segi keamanannya memberikan pengaruh awal yang tidak terlalu kuat, tetapi substansi dari struktur kimia ini mungkin bisa memberikan efek toksisitas yang cukup berarti bila terlalu sering digunakan serta digunakan dalam jangka panjang.

Prediksi Toksisitas berdasarkan parameter *Benigni* atau *Bossa rulebase*

Berdasarkan parameter *Benigni* atau *Bossa rulebase* digunakan untuk mengetahui apakah senyawa tersebut dapat menyebabkan karsinogenisitas dan mutagenisitas dari senyawa turunan phthalosianin yang dilabeli logam Kobalt (Co), Tembaga (Cu) dan Nikel (Ni). Pada hasil pengamatan yang ditunjukkan pada (Tabel IV.9) senyawa turunan phthalosianin yang telah dilabeli logam Kobalt (Co) dan logam Tembaga (Cu) bersifat karsinogenik, dengan demikian senyawa tersebut ketika digunakan bisa memicu munculnya sel kangker. Sedangkan pada senyawa turunan phthalosianin yang dilabeli logam Nikel (Ni) pada pengujian dinyatakan tidak bersifat karsonegenik dan dinyatakan aman untuk dilakukan pengujian pada tahap selanjutnya.

Prediksi Toksisitas Berdasarkan Parameter *Kroes TTC decision tree*

Sedangkan parameter *Kroes TTC decision tree* yang berfungsi untuk memperkirakan ambang batas paparan senyawa obat pada manusia. Pada tabel diatas (Tabel IV.9) senyawa turunan phthalosianin yang dilabeli logam Kobalt (Co), Tembaga (Cu) dan logam Nikel (Ni) ketiga senyawa tersebut mengandung senyawa yang bisa membahayakan jika digunakan.

4 KESIMPULAN

Berdasarkan hasil *docking* yang telah dilakukan antara senyawa phthalosianin yang dilabeli logam Nikel (Ni), Kobalt (Co) dan Tembaga (Cu) terhadap reseptor HasAp. Maka senyawa yang bisa dijadikan sebagai kandidat *photosensitizer* terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dilihat dari nilai *binding energy* serta toksisitasnya yang paling memungkinkan adalah

senyawa phthalosianin yang dilabeli logam Nikel (Ni) memiliki nilai *binding energy* sebesar -9,87 serta berdasarkan parameter *Lipinski's Rule of Five* senyawa phthalosinin yang dilabeli logam Nikel (Ni) memiliki CMR sebesar 17,4904, ClogP sebesar 4,62384 dan berat molekul (BM) sebesar 747,27 dengan selisih HOMO-LUMO sebesar 0.05118 serta pada pengujian toksisitas senyawa tersebut tidak menyebabkan mutagenik ataupun karsinogenik dibandingkan senyawa phthalosinin yang dilebeli logam Tembaga (Cu) dan Kobalt (Co).

SARAN

Pada penelitian ini disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut menggunakan metode dinamika molekul sehingga bisa memprediksikan sifat fisika serta sifat kimia senyawa uji baik dari tingkat molekular hingga tingkat atom.

DAFTAR PUSTAKA

- Ancely, F. D. S., D. R. Q. del Almeida., L. F. Terra., S. Mauricio., B. L. Labriola. (2018). Photodynamic Therapy in Cancer Treatment-an Update Review. *Jurnal of Cancer Metastasis and Treatment*. Department of Biochemistry, Chemistry Institute. Universitas of Sao Paulo, Sao Paulo 05008-000, Brazil.
- Chikako, S., O. Shouji., M. Terada., O. Shin-ichi., H. Sugimoto., Y. Shiro., Y. Watanabe. (2014). Inhibitor of Heme Uptake in *Pseudomonas Aeruginosa* by its Hemophore (HasAP) Bound to Synthetic Metal Complexes. Willey-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.
- Dany, P., J. M. Lattimer., M. Prakash., A. W. Steiner. (2013). *Stellar Superfluids*, Inspire, INT-PUB-009.
- Engel, J., P. Balachandran . (2009). Role of *Pseudomonas Aeruginosa* Type III Effectors in Disease. *Curr Opin Microbiol*. 12:61-66.
- Fiorillo, R., M. Zucker., D. Saywer., Lin An. (2001). The *Pseudomonas* Hot Food Syndrome. *Engl Med* 345:335-338.
- Girija, C. R., Karunakar, P., Poojari, C. S., Begum, N. S., Syed, A. A. (2010). Molecular docking studies of curcumin derivative with multiple protein targets for procarcinogen activating enzyme inhibition. *J Proteomics Bioinform*. 3(6): 200203.
- Hardjono S. (2013). Sintesis dan Uji Aktivitas Antikanker Senyawa 1-(2-Klorobenzoiloksi) urea dan 1-(4-klorobenzoiloksi) urea. *Berkala Ilmiah Kimia Farmasi*.
- I Gusti, A.M., P. Dharmayanti., Sukrama, D. M. (2019). Karakteristik Bakteri *Pseudomonas Aeruginosa* dan Pola Kepekaannya Terhadap Antibiotik di Intensive Care Unit (ICU) RSUP Sanglah Pada Bulan November 2014 – Januari 2015. *E-Jurnal Medika*, Vol 8
- Li, Qian-Shu., Xu, Xiu-Dong., Zhang, S. (2003). Predicting Energies and Geometries for Reaction Involved in Atmosphere Chemistry: A Comparison Study Between Hybrid DFT Methods. *J. Chem. Phy*
- Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., Feeney, P. J. (2012). Experiment and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development setting. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 23: 3-25.
- Muttaqin, F. Z., R. Andriyani., S. Damayanti. (2019). Analisis In Silico Genistein dan Analognya Sebagai Inhibitor Kanker Payudara Reseptor Esterogen Alfa Positif (Era+). Bandung. ITB
- Quintero, B., Miranda, M.A. (2000). Mechanism of Photosensitization Induced by Drugs. A General Survey, *Ars Pharmaceutica*.
- Raakhee, T., Rao US. (2014). Prevalence and Resistance Pattern of *Pseudomonas* Strains Isolated from ICU Patients. *Int. J.Curr.Microbiol. App.Sci*. 3(3):527-534 12.
- Roy, D., Kumar, V., Acharya, K.K., Thirumurugan, K. (2014). Probing the binding of syzygium-derived -glucosidase inhibitors with N- and C-terminal human maltase glucoamylase by docking and molecular dynamics simulation. *Applied Biochemistry Biotechnology*. 172(1):102-114.
- Ruswanto, Siswandono, M. Richa., N. Tita., L. Tresna. (2017). Molecular Docking of 1-Benzoyl-3methylthiourea as Anti Cancer Candidate and its Absorption, Distribution,

and Toxicity Prediction. *J. Pharm. Sci. & Res.* 9(5): 680684.

Samuel, N. N., O. Lucy., E. Masika., M. Ng'ang'a. (2018). Antimicrobial Photodynamic Activity of Phthalocyanine Derivate. Departement of Chemecal Science and Technology, Techical University of Kenya, P.O. Box 52428-00200, Nairobi, Kenya.

Siswandono dan Soekarjdo Bambang. (2000). *Kimia Medisinal*. Surabaya: Airlangga University Press.