

## Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Aktif Temu Kunci (*Boesenbergia rotunda*) terhadap *Mycobacterium tuberculosis* secara *In Silico*

### *Antibacterial Activity of Temu Kunci (Boesenbergia rotunda) Active Compounds to Mycobacterium tuberculosis In Silico*

Hidayatul Lailiyah\*, Lisa Lisdiana

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya

\*e-mail: [hidayatullailiyah@gmail.com](mailto:hidayatullailiyah@gmail.com)

**Abstrak.** Tuberkulosis adalah penyakit yang menjadi satu dari sepuluh penyebab kematian tertinggi di dunia. Pada tahun 2021 terdapat 283.000 kasus tuberkulosis di Indonesia yang belum terobati. Efektivitas pengobatan tuberkulosis menurun dikarenakan meningkatnya resistensi *Mycobacterium tuberculosis*. Tumbuhan herbal seperti rimpang temu kunci (*Boesenbergia rotunda*) dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan untuk mengatasi permasalahan tersebut. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui karakteristik *drug-likeness* senyawa aktif temu kunci, interaksi antara senyawa aktif temu kunci dengan protein target *Arabinosyltransferase C Enzyme* dan *InhA*, serta senyawa aktif temu kunci yang paling berpotensi sebagai antibakteri *M. tuberculosis* secara *in silico*. Hasil uji *drug-likeness* menunjukkan bahwa terdapat sembilan senyawa aktif temu kunci terpilih yang memenuhi aturan Lipinski yaitu nerol, camphor, cineole, *trans*-methyl-cinnamate, *cis*-p-mentha-2,8-dien-1-ol, octanal(2,4-dinitrophenyl)hydrazine, pinostrobin chalcone, furan-3-carboxamide,2-methyl-N-(4-morpholyl)-, dan hemanthidine. Uji *molecular docking* menunjukkan octanal(2,4-dinitrophenyl)hydrazine, pinostrobin chalcone, hemanthidine, dan furan-3-carboxamide-2-methyl-N-(4-morpholyl)- paling berpotensi sebagai antibakteri dengan protein target *Arabinosyltransferase C Enzyme*. Sedangkan, tujuh senyawa paling berpotensi sebagai antibakteri dengan protein target *InhA* yaitu pinostrobin chalcone, hemanthidine, *trans*-methyl-cinnamate, octanal(2,4-dinitrophenyl)hydrazine, nerol, *cis*-p-metha-2,8-dien-1-ol, dan furan-3-carboxamide-2-methyl-N-(5-morpholyl)-. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengkaji dan mengklarifikasi mekanisme penghambatan spesifik serta toksisitas dari masing-masing senyawa aktif temu kunci.

**Kata kunci:** tuberkulosis, resistensi, *Arabinosyltransferase C Enzyme*, *InhA*

**Abstract.** Tuberculosis is one of the top ten causes of death in the world. In 2021 there are 283,000 cases of tuberculosis in Indonesia that haven't been treated. The effectiveness of tuberculosis treatment decreases due to increased resistance of *Mycobacterium tuberculosis*. Herbal plants such as the rhizome of temu kunci (*Boesenbergia rotunda*) can be used as an alternative treatment to overcome this problem. This study aimed to determine drug-likeness characteristics of active compounds of temu kunci, the interaction between active compounds of temu kunci with target protein *Arabinosyltransferase C Enzyme* and *InhA*, and active compounds of temu kunci with the most potential as anti-bacteria of *M. tuberculosis in silico*. The drug-likeness test showed that nine selected active compounds of temu kunci complied with Lipinski rules which were nerol, camphor, cineole, *trans*-methyl-cinnamate, *cis*-p-mentha-2,8-dien-1-ol, octanal(2,4-dinitrophenyl)hydrazine, pinostrobin chalcone, furan-3-carboxamide,2-methyl-N-(4-morpholyl)-, and hemanthidine. The molecular docking showed octanal(2,4-dinitrophenyl)hydrazine, pinostrobin chalcone, hemanthidine, and furan-3-carboxamide-2-methyl-N-(4-morpholyl)- have the potential as antibacterials with *Arabinosyltransferase C Enzyme* target proteins. Meanwhile, the most potent antibacterial compounds with *InhA* target proteins were pinostrobin chalcone, hemanthidine, *trans*-methyl-cinnamate, octanal(2,4-dinitrophenyl)hydrazine, nerol, *cis*-p-metha-2,8-dien-1-ol, and furan-3-carboxamide-2-methyl-N-(4-morpholyl)-. Further research is needed to study and clarify specific inhibition mechanisms and toxicity of each active compound of temu kunci.

**Keywords:** tuberculosis, resistant, *Arabinosyltransferase C Enzyme*, *InhA*

## PENDAHULUAN

Kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi telah menghasilkan berbagai metode untuk mencegah ataupun mengatasi infeksi dari bakteri, seperti bakteri penyebab penyakit tuberkulosis

(TB). Namun, saat ini TB masih menjadi salah satu dari sepuluh penyakit penyebab kematian tertinggi di dunia. Data dari *World Health Organization (WHO) Global TB Report Tahun 2020* menunjukkan terdapat 10 juta kasus TB di dunia dan 1,2 juta orang meninggal di setiap tahunnya. Kasus TB juga ditemukan di Indonesia sebanyak 845.000 kasus dan kematian mencapai 98.000 atau terjadi kematian sebanyak 11 orang per jam pada tahun 2020 (WHO, 2020). Berdasarkan Kemenkes (2021) hanya sekitar 67% kasus TB yang berhasil diobati sedangkan sisanya (283.000 kasus) belum diobati sehingga akan beresiko menular pada orang disekitarnya.

*Mycobacterium tuberculosis* adalah patogen obligat yang menyebabkan penyakit tuberkulosis (TB). Bakteri *M. tuberculosis* digolongkan ke dalam kelompok bakteri gram positif, namun juga memiliki struktur yang mirip dengan bakteri gram negatif yakni membran luar kedua mengandung asam mikolat atau asam lemak bercabang rantai panjang (Gordon & Parish, 2018). Patogen tersebut menyerang paru-paru yang mengakibatkan penderitanya kesulitan bernapas dan merupakan penyakit multi sistem. Adigun & Singh (2022) menyatakan beberapa sistem organ yang sering terserang penyakit ini adalah sistem pernapasan, sistem gastrointestinal, sistem limforetikuler, kulit, sistem saraf pusat, sistem muskuloskeletal, sistem reproduksi, dan hati. Penyebaran TB dapat melalui droplet penderita yang terbawa di udara (WHO, 2020).

Berdasarkan *Global TB Report WHO (2020)*, pada saat ini *M. tuberculosis* resisten terhadap obat anti-TB lini pertama (isoniazid, rifampicin, ethambutol, dan pyrazinamide) dan lini kedua (*regiment treatment*). Secara khusus, isoniazid menghambat *enoyl reductase (InhA)* Mtb dengan membentuk ikatan kovalen dengan kofaktor NAD (INH-NAD). INH-NAD kemudian akan bertindak sebagai kompetitif inhibitor InhA sehingga akan menghambat sintesis asam mikolat dan komponen penting dari dinding sel bakteri (Khan *et al.*, 2019). Resistensi ini menjadi masalah kesehatan di seluruh dunia, termasuk Indonesia. Oleh karena itu dibutuhkan obat alternatif untuk penderita TB. Salah satu obat alternatif tersebut dapat diperoleh dari tumbuhan-tumbuhan dengan senyawa aktif yang berpotensi sebagai agen antibakteri *M. tuberculosis*.

Temu kunci (*Boesenbergia rotunda*) termasuk ke dalam famili Zingiberaceae dan merupakan salah satu tanaman yang telah digunakan sebagai rempah dan obat herbal secara turun-temurun. Sastrahidayat (2016) menyatakan bahwa temu kunci memiliki berbagai macam khasiat antara lain sebagai rempah bumbu masak, obat batuk, peluruh dahak, penambah nafsu makan, mengatasi gangguan pencernaan, dan obat sariawan. Berdasarkan penelitian Baharudin *et al.* (2015) dilaporkan bahwa terdapat 18 senyawa aktif kelompok minyak esensial yang terkandung dalam rimpang temu kunci yang berpotensi sebagai antibakteri. Dalam penelitiannya, Baharudin *et al.* (2015) membuktikan bahwa kandungan minyak esensial dari temu kunci dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli*. Beberapa penelitian secara *in vitro* membuktikan bahwa *B. rotunda* memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus cereus* (Sopitthummakhun *et al.*, 2021), *Streptococcus mutans* (Handayani *et al.*, 2018), dan *Enterococcus faecalis* (Ridzali, 2018). Mekanisme kerja minyak esensial sebagai antibakteri yaitu dengan mengubah permeabilitas dan mengubah toleransi garam sel. Hal ini dibuktikan pada sel *E. coli* yang terpapar minyak esensial 0,22% mengalami kebocoran senyawa anorganik (ion kalium dan kalsium) dan senyawa organik (asam nukleat dan protein) (Chahyadi *et al.*, 2014). Minyak esensial dapat menyebabkan apoptosis sel dan terganggunya pembentukan dinding dan membran sel (Chen *et al.*, 2020).

Teknik *in silico* dapat membantu proses penemuan obat terutama senyawa dalam obat tradisional yang belum diketahui aktivitasnya. Uji *Drug-likeness* merupakan metode untuk memprediksi sifat kemiripan obat berdasarkan aturan Lipinski (*Rule of Five*) dengan melakukan skrining virtual kandidat obat (Lee *et al.*, 2022). Aturan tersebut dapat mengevaluasi sifat kemiripan obat terkait farmakokinetik suatu senyawa kandidat obat dengan sifat obat oral pada manusia (Sen *et al.*, 2021). *Molecular docking* merupakan metode untuk mencari pola interaksi antara molekul reseptor dan ligan yang tepat berdasarkan komputasi (Purnama *et al.*, 2020). Teknik ini dapat digunakan sebagai acuan dan dikombinasikan dengan penelitian *in vitro* maupun *in vivo* dalam upaya penemuan obat. Pinzi dan Rastelli (2019) menyatakan bahwa *molecular docking* dapat memprediksi interaksi antara ligan senyawa dengan protein target secara molekuler. Keuntungan dari teknik ini yaitu lebih efisien dalam waktu, energi dan biaya yang dibutuhkan (Rachmania *et al.*, 2016).

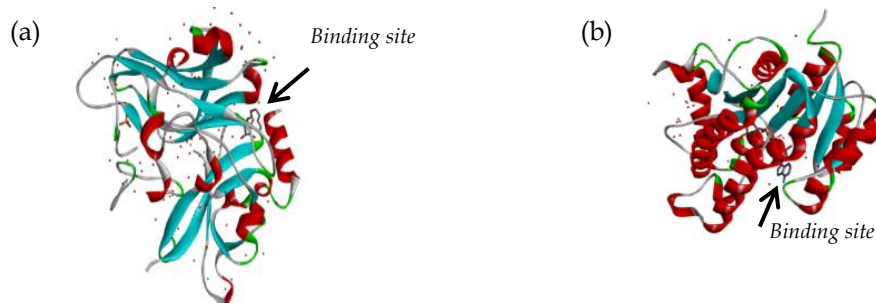
Sebagian besar obat bekerja dengan menginduksi efek farmakologis melalui protein target dalam proses pengobatan. Protein target atau yang biasa disebut reseptor merupakan makromolekul polipeptida atau protein integral yang menempel pada membran sel (Rollando, 2017). Protein yang berlokasi di membran sel pada *M. tuberculosis* menjadi target dalam pengobatan TB adalah

*Arabinosyltransferase C Enzyme* dan InhA. Das *et al.* (2020) menyatakan bahwa *Arabinosyltransferase C Enzyme* merupakan enzim transferase yang bekerja pada arabinosa dalam bentuk furanosa yang terlibat dalam polimerisasi *arabinogalactan*, yaitu bagian penting dan esensial dari dinding sel *Mycobacterium*. Das *et al.* (2020) dalam penelitiannya secara *in silico* membuktikan bahwa protein *Arabinosyltransferase C Enzyme* memiliki potensi yang lebih kuat sebagai target baru pengobatan isoniazid dikarenakan memiliki nilai *binding affinity* lebih negatif dibandingkan dengan ethambutol. Protein InhA diketahui sebagai target obat isoniazid. Protein InhA berperan penting dalam kelangsungan hidup *Mycobacterium*, khususnya dalam sintesis asam mikolat (Baptista *et al.*, 2021).

Penelitian terkait aktivitas antibakteri terhadap *M. tuberculosis* secara *in silico* pernah dilakukan oleh Irwan *et al.* (2021) yang menginteraksikan senyawa aktif bawang tiwai dengan protein target InhA. Hasil dari penelitian tersebut menunjukkan bahwa senyawa aktif bawang tiwai kurang berpotensi sebagai antibakteri *M. tuberculosis* dikarenakan nilai *binding affinity* lebih besar dibandingkan *native ligand* protein. Berdasarkan hal tersebut maka diperlukan penelitian terbaru untuk memprediksi potensi obat dari tanaman tradisional lain melalui interaksi senyawa dengan protein-protein reseptor pada *M. tuberculosis*. Potensi *in silico* senyawa aktif temu kunci sebagai antibakteri *M. tuberculosis* dengan protein target *Arabinosyltransferase C Enzyme* dan InhA belum diketahui, sehingga penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik *drug-likeness* senyawa aktif temu kunci sebagai kandidat obat, mengetahui interaksi antara senyawa aktif temu kunci terhadap protein target *Arabinosyltransferase C Enzyme* dan InhA, serta mengetahui senyawa aktif temu kunci yang paling berpotensi sebagai antibakteri secara *in silico*.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan mulai bulan Oktober hingga Desember 2022 di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Surabaya. Bahan yang akan digunakan adalah struktur 3D senyawa aktif temu kunci, senyawa isoniazid (obat pembanding) yang diperoleh dari *web database* PubChem, dan protein target *Arabinosyltransferase C Enzyme* dan InhA (**Gambar 1**) yang diperoleh dari *web database* Protein Data Bank (PDB). Alat yang akan digunakan untuk uji *in silico* antara lain komputer, *web server* SwissADME untuk uji *drug-likeness*, *software* Notepad++, *software* AutoDock Tools 1.5.6 dan PyRx 0.8 untuk *molecular docking*, Edu PyMOL v1.7.4 dan Ligplot+ *version* v.2.2.5 untuk visualisasi molekul.



**Gambar 1.** Protein target bakteri *M. tuberculosis*: (a) *Arabinosyltransferase C Enzyme* (PDB ID: 3PTY), (b) InhA (Kode PDB ID: 1ENY) (Sumber: RCSB PDB).

Penelitian dilaksanakan dalam dua tahapan yakni tahap persiapan dan tahap pelaksanaan. Tahap persiapan dimulai dengan koleksi sampel molekul protein target, identifikasi senyawa aktif pada ekstrak rimpang temu kunci melalui studi literatur, dan koleksi sampel molekul protein target, koleksi sampel molekul ligan senyawa. Koleksi sampel molekul protein target dilakukan berdasarkan metode yang diadopsi dari Purnama *et al.* (2020) yakni melalui *web database* RCSB PDB (<https://www.rcsb.org>). Protein *Arabinosyltransferase C Enzyme* memiliki kode PDB 3PTY, sedangkan protein InhA memiliki kode PDB 1ENY. Selanjutnya, dilakukan sterilisasi makromolekul protein target tersebut menggunakan *software* AutoDock Tools 1.5.6 dan Notepad++. Tahap ini bertujuan untuk memisahkan struktur molekul protein target dari *native ligand* masing-masing makromolekul. *Native ligand* dapat diketahui dengan cara membuka protein target yang telah diunduh menggunakan *Software* Notepad++. *Native ligand* dari protein *Arabinosyltransferase C Enzyme* adalah ligan AFO pada gugus A, sedangkan *native ligand* dari protein target InhA adalah ligan NAD pada gugus A. Koleksi sampel molekul ligan senyawa dilakukan terhadap senyawa aktif temu kunci yang memiliki potensi sebagai kandidat antibakteri berdasarkan studi literatur. Struktur 3D senyawa aktif tersebut diperoleh dari *web database* PubChem (<https://www.pubchem.ncbi.nlm.gov.id>). Molekul ligan senyawa

kemudian diminimasi menggunakan *software* PyRx 0.8 agar ligan menjadi lebih fleksibel dan dapat menghasilkan pengikatan terendah ketika dilakukan uji *molecular docking*.

Tahap pelaksanaan terbagi menjadi dua tahap uji, yaitu uji *drug-likeness* dan *molecular docking*. Uji *drug-likeness* bertujuan untuk mengevaluasi sifat mirip obat dari senyawa aktif yang terpilih dari *B. rotunda* berdasarkan aturan Lipinski atau yang dikenal dengan Lipinski's rule of five. Uji *drug-likeness* diawali dengan mengidentifikasi canonical SMILES senyawa aktif *B. rotunda* yang berpotensi sebagai kandidat antibakteri dari PubChem. Canonical SMILES kemudian dimasukkan ke dalam *web server* SwissADME (<http://www.swissadme.ch/index.php>). Beberapa sifat kemiripan obat berdasarkan aturan Lipinski antara lain memiliki berat molekul (*molecular weight*) 150-500 g/mol, nilai koefisien partisi  $\log P < 5$ , jumlah *H-bond donors*  $< 5$ , jumlah *H-bond acceptors*  $< 10$  (Lipinski *et al.*, 2001; Daina *et al.*, 2017). Senyawa aktif yang memenuhi aturan Lipinski akan digunakan pada uji *molecular docking*.

Uji *molecular docking* dilakukan berdasarkan Purnama *et al.* (2020). *Blind docking* terhadap makromolekul dan senyawa ligan terpilih dilakukan dengan menggunakan *Software* PyRx 0.8. Hasil *docking* dengan setiap ligan disimpan untuk dilanjutkan ke tahap visualisasi. Pada tahap ini juga diperoleh nilai RMSD dan *binding affinity*. Tahap visualisasi dilakukan dengan *software* Edu PyMOL v1.7.4 dan Ligplot+ *version* v.2.2.5 untuk mendapatkan visualisasi secara 2D dan 3D. Jenis ikatan yang terbentuk dari interaksi senyawa dan jenis-jenis residu asam amino pada protein target yang menjadi sisi penambatan ligan atau senyawa dapat diketahui dari visualisasi struktur 2D. Adapun visualisasi 3D dapat menunjukkan panjang ikatan yang terbentuk.

Data yang diperoleh akan dianalisis secara deskriptif untuk mengetahui efektivitas senyawa aktif pada rimpang temu kunci yang diinteraksikan dengan protein target bakteri *M. tuberculosis*. Analisis dilakukan dengan mengevaluasi karakteristik *drug-likeness* berdasarkan aturan Lipinski dan membandingkan nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*), serta nilai *binding affinity* yang diperoleh dari tahap *molecular docking*, serta jenis ikatan yang terbentuk, dan residu asam amino tempat penambatan yang diperoleh dari tahap visualisasi. Purnomo (2011) menyatakan bahwa semakin negatif nilai *binding affinity* maka akan semakin kuat ikatan yang terbentuk, dan sebaliknya. Nilai RMSD yang dinyatakan valid untuk digunakan sebagai standar adalah sebesar  $\leq 2 \text{ \AA}$  (Ruswanto *et al.*, 2015).

## HASIL

Hasil uji *drug-likeness* berupa karakteristik molekul senyawa aktif temu kunci terpilih yang berpotensi sebagai kandidat antibakteri meliputi berat molekul, *H-bond donors*, *H-bond acceptors*, nilai koefisien  $\log P$ . Hasil *docking* antara senyawa aktif temu kunci dengan protein target *Arabinosyltransferase C Enzyme* dan protein *InhA* berupa nilai *binding affinity* dan RMSD, serta visualisasi hasil *molecular docking* berupa jenis ikatan dan residu asam amino tempat penambatan. Senyawa aktif temu kunci yang digunakan dalam penelitian ini tersaji pada **Tabel 1** beserta karakteristik molekulnya.

**Tabel 1.** Karakteristik molekul senyawa aktif terpilih dari temu kunci yang berpotensi sebagai kandidat antibakteri

Senyawa aktif	Canonical SMILES	Formula
Nerol	<chem>CC(=CCCC(=CCO)C)C</chem>	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O
Camphor	<chem>CC1(C2CCC1(C(=O)C2)C)C</chem>	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O
Cineole	<chem>CC(C)C12CCC(O1)(CC2)C</chem>	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O
Trans-methyl cinnamate	<chem>COC(=O)C=CC1=CC=CC=C1</chem>	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>
Fenchene	<chem>CC1(C2CCC1C(=C)C2)C</chem>	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
Cis-p-mentha-2,8-dien-1-ol	<chem>CC(=C)C1CCC(C=C1)C(O)</chem>	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O
Cyclohexene, 1-methyl-5-(1-methylethenyl)-, (R)-	<chem>CC1=CCCC(C1)C(=C)C</chem>	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
Z,Z,Z -4,6,9-Nonadecatriene	<chem>CCCCCCCCC=CCC=CC=CCCC</chem>	C <sub>19</sub> H <sub>34</sub>
Octanal, (2,4-dinitrophenyl) hydrazine	<chem>C1=CC(=C(C=C1[N+](=O)[O-]))[N+](=O)[O-]NN</chem>	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub>
Ethanol, 2-(9,12- octadecadienyloxy)- (Z,Z)	<chem>CCCCC=CCC=CCCCCCCCOCCO</chem>	C <sub>20</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>
Pinostrobin chalcone	<chem>COC1=CC(=C(C(=C1)O)C(=O)C=CC2=CC=CC=C2)O</chem>	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>
Limonene	<chem>CC1=CCC(CC1)C(=C)C</chem>	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
Chloromethyl 2-chlorodecanoate	<chem>CCCCCCCCC(C(=O)OCCl)Cl</chem>	C <sub>11</sub> H <sub>20</sub> Cl <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
8- tetradecen-1-ol acetate	<chem>CCCCC=CCCCCCCCO.CC(=O)O</chem>	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>3</sub>
Furan-3-carboxamide,2-methyl-N-(4-morpholy)-	<chem>CC1=C(C(=CO1)C(=O)NN2CCOCC2</chem>	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>

Senyawa aktif	Canonical SMILES	Formula
Hemanthidine	<chem>COC1CC2C3(C=C1)C(CN2C(C4=CC5=C(C=C34)OCO5)O)O</chem>	C <sub>17</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>5</sub>

Hasil uji *drug-likeness* tersaji pada **Tabel 2** yang meliputi beberapa aspek sesuai dengan aturan Lipinski diantaranya berat molekul (*molecular weight*), *H-bond acceptors*, *H-bond donors*, dan nilai koefisien logP (XLOGP). Berdasarkan data pada **Tabel 2** terdapat 3 senyawa yang tidak memenuhi berat molekul sesuai aturan Lipinski yaitu fenchene, cyclohexene 1-methyl-5-(1-methylethenyl)-(R)-, dan limonene karena memiliki berat molekul <150 g/mol. Selain itu terdapat 4 senyawa tidak memenuhi nilai logP sesuai aturan Lipinski yaitu Z,Z,Z -4,6,9-Nonadecatriene, ethanol 2-(9,12-octadecadienyloxy)-(Z,Z), chloromethyl 2-chlorodecanoate, dan 8- tetradecen-1-ol acetate karena memiliki nilai logP >5. Hasil uji *drug-likeness* memperoleh 9 senyawa yang memenuhi seluruh aturan Lipinski sehingga dipilih untuk dilanjutkan pada uji *molecular docking*.

**Tabel 2.** Karakteristik molekul senyawa aktif terpilih dari temu kunci yang berpotensi sebagai kandidat antibakteri

Senyawa aktif	Berat molekul (g/mol)	H-bond acceptors	H-bond donors	XLOGP
Nerol	154,25	1	1	3,56
Camphor	152,23	1	0	2,19
Cineole	154,25	1	0	2,97
<i>Trans</i> -methyl cinnamate	162,19	2	0	2,62
<b>Fenchene</b>	<b>136,23</b>	0	0	3,09
<i>Cis</i> -p-mentha-2, 8-dien-1-ol	152,23	1	1	2,4
<b>Cyclohexene, 1-methyl-5-(1-methylethenyl)-, (R) - Z,Z,Z -4,6,9-Nonadecatriene</b>	<b>136,23</b>	0	0	<b>3,36</b>
Octanal, (2,4-dinitrophenyl) hydrazine	198,14	5	2	1,46
<b>Ethanol, 2-(9,12- octadecadienyloxy)- (Z,Z)</b>	<b>310,51</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>6,61</b>
Pinostrobin chalcone	270,28	4	2	3,5
<b>Limonene</b>	<b>136,23</b>	0	0	4,57
<b>Chloromethyl 2-chlorodecanoate</b>	255,18	2	0	<b>5,42</b>
<b>8- tetradecen-1-ol acetate</b>	272,42	3	2	<b>5,27</b>
Furan-3-carboxamide,2-methyl-N-(4-morpholyl)-	210,23	4	1	0,52
Hemanthidine	317,34	6	2	0,72

\**Senyawa yang dicetak tebal* merupakan senyawa yang tidak memenuhi keseluruhan aturan Lipinski

Hasil uji *molecular docking* meliputi nilai *binding affinity* dan nilai RMSD ikatan antara senyawa aktif temu kunci dengan protein target *Arabinosyltransferase C Enzyme* (**Tabel 3**) serta ikatan antara senyawa aktif temu kunci dengan protein target InhA (**Tabel 4**).

**Tabel 3.** Nilai *binding affinity* dan RMSD hasil uji *molecular docking* antara senyawa aktif temu kunci terpilih dengan protein *Arabinosyltransferase C Enzyme* (kode PDB: 3PTY)

Protein target	Senyawa aktif	Binding affinity (kcal/mol)	RMSD (Å)
<i>Arabinosyl-transferase C Enzyme</i> (kode PDB: 3PTY)	Nerol	-4,7	1,477
	Camphor	-5,2	1,218
	Cineole	-5	1,098
	<i>Trans</i> -methyl cinnamate	-5,3	1,087
	<i>Cis</i> -p-mentha-2,8-dien-1-ol	-5,1	1,660
	<b>Octanal (2,4-dinitrophenyl) hydrazine</b>	<b>-6,6</b>	<b>1,370</b>
	<b>Pinostrobin chalcone</b>	<b>-6,2</b>	<b>1,950</b>
	<b>Furan-3-carboxamide2-methyl-N-(4-morpholyl)-</b>	<b>-5,8</b>	<b>1,909</b>
	<b>Hemanthidine</b>	<b>-5,9</b>	<b>1,729</b>
	Isoniazid (obat pembanding)	-4,8	1,937
Ligand AFO ( <i>native ligand</i> )	-5,5	1,692	

\**Senyawa yang dicetak tebal* merupakan senyawa yang memiliki potensi paling kuat

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada **Tabel 3**, diketahui 4 senyawa aktif yang memiliki potensi paling kuat yaitu octanal (2,4-dinitrophenyl) hydrazine, pinostrobin chalcone, furan-3-carboxamide2-methyl-N-(4-morpholyl)-, dan hemanthidine karena memiliki *binding affinity* lebih negatif dibandingkan isoniazid dan *native ligand* AFO ketika berikatan dengan protein target



*Arabinosyltransferase C Enzyme*. Adapun senyawa lainnya menunjukkan potensi yang lemah karena memiliki nilai *binding affinity* lebih negatif dibandingkan isoniazid namun lebih besar dibandingkan *native ligand* AFO.

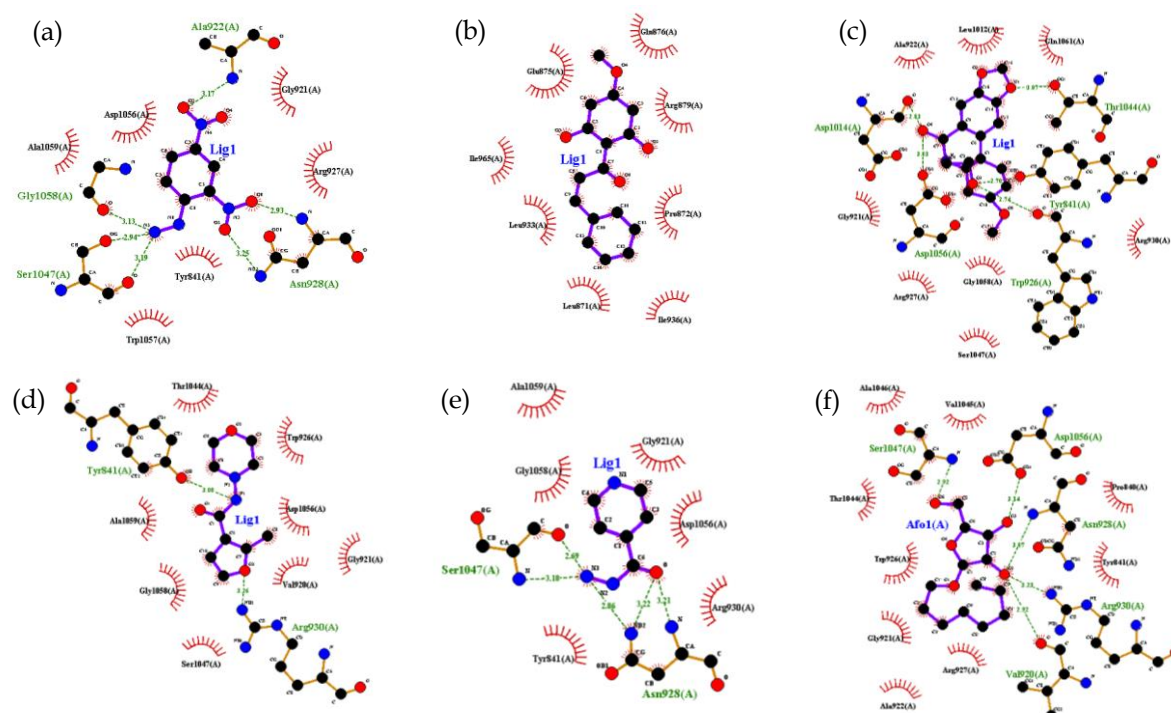
**Tabel 4.** Nilai *binding affinity* dan RMSD hasil uji *molecular docking* antara senyawa aktif temu kunci terpilih dengan protein InhA (kode PDB: 1ENY)

Protein target	Senyawa aktif	<i>Binding affinity</i> (kcal/mol)	RMSD (Å)
InhA (kode PDB: 1ENY)	Nerol	-6,4	1,591
	Camphor	-5,2	1,752
	Cineole	-5,1	1,593
	<b><i>Trans-methyl cinnamate</i></b>	<b>-7,3</b>	<b>1,437</b>
	<b><i>Cis-p-mentha-2,8-dien-1-ol</i></b>	<b>-6,2</b>	<b>2,308</b>
	<b>Octanal (2,4-dinitrophenyl) hydrazine</b>	<b>-6,6</b>	<b>2,553</b>
	<b>Pinostrobin chalcone</b>	<b>-8,1</b>	<b>1,398</b>
	<b>Furan-3-carboxamide2-methyl-N-(4-morpholyl)-Hemanthidine</b>	<b>-6,2</b>	<b>2,128</b>
	Isoniazid (obat perbandingan)	-5,4	1,961
	Ligand NAD ( <i>native ligand</i> )	-10,5	1,530

\**Senyawa yang dicetak tebal* merupakan senyawa yang memiliki potensi paling kuat

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada **Tabel 4**, diketahui 7 senyawa aktif yang memiliki potensi kuat yaitu nerol, *trans-methyl cinnamate*, *cis-p-mentha-2,8-dien-1-ol*, octanal (2,4-dinitrophenyl) hydrazine, pinostrobin chalcone, furan-3-carboxamide2-methyl-N-(4-morpholyl)-, dan hemanthidine memiliki *binding affinity* lebih negatif dibandingkan isoniazid, namun tidak lebih negatif dibandingkan dan *native ligand* NAD ketika berikatan dengan protein target InhA. Meskipun nilai *binding affinity* dari 7 senyawa tersebut lebih besar dibandingkan *native ligand* NAD, akan tetapi senyawa tersebut memiliki potensi lebih kuat dibandingkan senyawa lainnya. Adapun senyawa lainnya memiliki potensi lebih lemah karena nilai *binding affinity* lebih besar dibandingkan dengan *native ligand* NAD dan isoniazid.

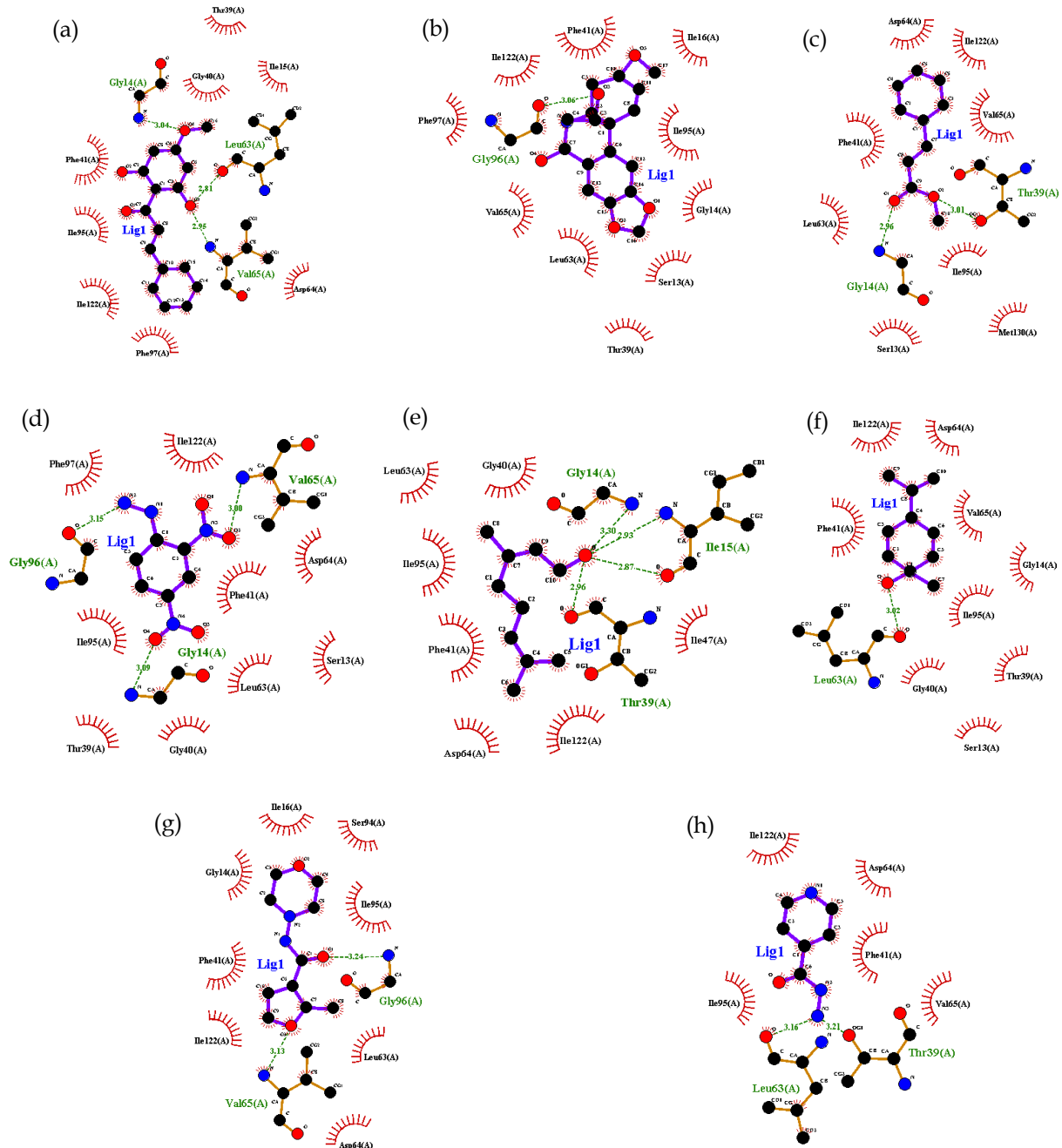
Visualisasi 2D hasil *docking* menggunakan *software* LigPlot+ *version* v.2.2.5 menunjukkan jenis ikatan dan residu asam amino tempat terjadinya ikatan antara senyawa aktif temu kunci dan protein target *Arabinosyltransferase C Enzyme* tersaji pada **Gambar 2**.

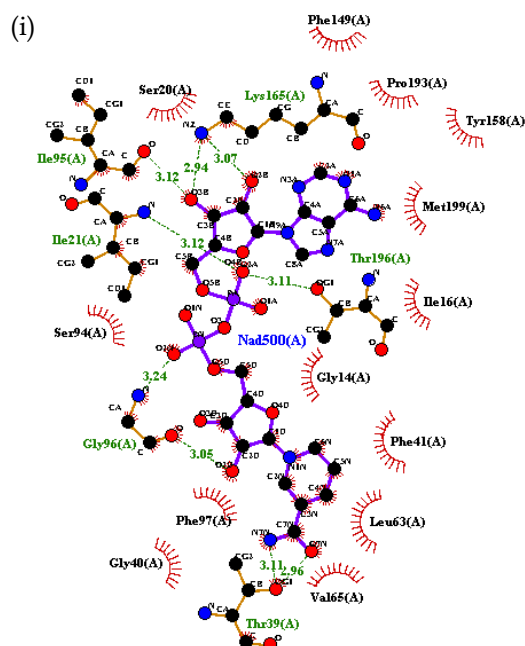


**Gambar 2.** Visualisasi 2D hasil *docking* senyawa aktif temu kunci dengan protein target *Arabinosyltransferase C Enzyme* (kode PDB: 3PTY) menggunakan *software* LigPlot+ *version* v.2.2.5. (a) Octanal (2,4-dinitrophenyl)

hydrazine, (b) Pinostrobin chalcone, (c) Hemanthidine, (d) Furan 3-carboxamide 2-methyl-N-(4-morpholyl)-, (e) Isoniazid, (f) *Native ligand* AFO.

Visualisasi 2D hasil *docking* menggunakan *software* LigPlot+ *version* v.2.2.5 yang menunjukkan jenis ikatan dan residu asam amino tempat terjadinya ikatan antara senyawa aktif temu kunci dan protein target InhA tersaji pada **Gambar 3**.





**Gambar 3.** Visualisasi 2D hasil *docking* senyawa aktif temu kunci dengan protein target InhA (kode PDB: 1ENY) menggunakan *software* LigPlot+ *version* v.2.2.5. (a) Nerol, (b) *Trans*-methyl cinnamate, (c) *Cis*-p-mentha-2,8-dien-1-ol, (d) Octanal (2,4-dinitrophenyl) hydrazine, (e) Pinostrobin chalcone, (f) Furan 3-carboxamide 2-methyl-N-(4-morpholy)-, (g) Hemanthidine, (h) Isoniazid, (i) *Native ligand* NAD.

Visualisasi hasil *molecular docking* menghasilkan data berupa jenis ikatan dan residu asam amino tempat terjadinya ikatan antara senyawa aktif temu kunci dengan protein target *Arabinosyltransferase C Enzyme* (**Tabel 5**) dan ikatan antara senyawa aktif temu kunci dengan protein target InhA (**Tabel 6**).

**Tabel 5.** Visualisasi hasil *molecular docking* antara senyawa aktif temu kunci (*B. rotunda*) terpilih dengan protein *Arabinosyltransferase C Enzyme* (kode PDB: 3PTY).

Protein target	Senyawa aktif	Jenis ikatan	Residu asam amino
<i>Arabinosyltransferase C Enzyme</i> (kode PDB: 3PTY)	<i>Cis</i> -p-mentha-2,8-dien-1-ol	Hidrofobik	Asp1014(A), Ala1059(A), Tyr841(A), Gly921(A), Val920(A), Asn928(A)
		Hidrogen	Asp1056(A), Arg930(A)
	Octanal (2,4-dinitrophenyl) hydrazine	Hidrofobik	Ala1059(A), Asp1056(A), Trp1057(A), Tyr841(A), Arg927(A), Gly921(A)
		Hidrogen	Ala922(A), Gly1058(A), Ser1047(A), Asn928(A)
	Pinostrobin chalcone	Hidrofobik	Glu875(A), Gln876(A), Arg879(A), Pro872(A), Ile936(A), Leu871(A), Leu933(A), Ile965(A)
		Hidrofobik	Thr1044(A), Trp926(A), Asp1056(A), Val920(A), Gly921(A), Ala1059(A), Gly1058(A), Ser1047(A)
	Furan-3-carboxamide-2-methyl-N-(4-morpholy)-	Hidrofobik	Tyr841(A), Arg930(A)
		Hidrofobik	Ala922(A), Leu1012(A), Gln1061(A), Gly921(A), Arg927(A), Gly1058(A), Ser1047(A), Arg930(A)
	Hemanthidine	Hidrogen	Asp1014(A), Asp1056(A), Trp926(A), Tyr841(A), Thr1044(A)
		Hidrofobik	Ala1059(A), Gly1058(A), Gly921(A), Asp1056(A), Tyr841(A), Arg930(A)
Isoniazid (obat pembanding)	Hidrogen	Ser1047(A), Asn928(A)	
	Hidrofobik	Ala1046(A), Val1045(A), Thr1044(A), Trp926(A), Gly921(A), Arg927(A), Ala922(A), Tyr841(A), Pro840(A)	
Ligand AFO ( <i>native ligand</i> )	Hidrofobik	Ser1047(A), Val920(A), Asp1056(A), Asn928(A), Arg930(A)	
	Hidrogen		

Keterangan: jenis residu asam amino ● : hidrofobik, ● : hidrofilik, ● : amfipatik



**Tabel 6.** Visualisasi hasil *molecular docking* antara senyawa aktif temu kunci terpilih dengan protein InhA (kode PDB: 1ENY).

Protein target	Senyawa aktif	Jenis ikatan	Residu asam amino
InhA (kode PDB: 1ENY)	Nerol	Hidrofobik	Leu63(A), Gly40(A), Ile95(A), Phe41(A), Asp64(A), Ile122(A), Ile47(A)
		Hidrogen	Gly14(A), Ile15(A), Thr39(A)
	Trans-methyl cinnamate	Hidrofobik	Asp64(A), Ile122(A), Val65(A), Ile95(A), Met130(A), Ser13(A), Leu63(A), Phe41(A)
		Hidrogen	Gly14(A), Thr39(A)
	Cis-p-mentha-2,8-dien-1-ol	Hidrofobik	Ile122(A), Asp64(A), Val65(A), Gly14(A), Ile95(A), Thr39(A), Gly40(A), Ser13(A), Phe41(A), Leu63(A)
		Hidrogen	Leu63(A)
	Octanal (2,4-dinitrophenyl) hydrazine	Hidrofobik	Phe97(A), Ile122(A), Phe41(A), Asp64(A), Ser13(A), Leu63(A), Gly40(A), Thr39(A), Ile95(A)
		Hidrogen	Gly14(A), Gly96(A), Val65(A)
	Pinostrobin chalcone	Hidrofobik	Thr39(A), Ile15(A), Gly40(A), Phe41(A), Ile95(A), Ile122(A), Phe97(A), Asp64(A)
		Hidrogen	Gly14(A), Leu63(A), Val65(A)
	Furan-3-carboxamide-2-methyl-N-(4-morpholyl)-Hemanthidine	Hidrofobik	Ile16(A), Ser94(A), Ile95(A), Leu63(A), Asp64(A), Ile122(A), Phe41(A), Gly14(A)
		Hidrogen	Gly96(A), Val65(A)
	Isoniazid (obat pembeding)	Hidrofobik	Phe97(A), Ile122(A), Phe41(A), Ile16(A), Ile95(A), Gly14(A), Ser13(A), Thr39(A), Leu63(A), Val65(A)
		Hidrogen	Gly96(A)
	Ligand NAD ( <i>native ligand</i> )	Hidrofobik	Ile122(A), Asp64(A), Phe41(A), Val65(A), Ile95(A)
Hidrogen		Leu63(A), Thr39(A)	
Hidrofobik		Ser20(A), Phe149(A), Pro193(A), Tyr158(A), Met199(A), Ile16(A), Gly14(A), Phe41(A), Leu63(A), Val65(A), Gly40(A), Phe97(A), Ser94(A)	
		Hidrogen	Ile95(A), Ile21(A), Gly96(A), Thr39(A), Thr196(A), Lys165(A)

Keterangan: jenis residu asam amino ● : hidrofobik, ● : hidrofilik, ● : amfipatik

## PEMBAHASAN

Uji *drug-likeness* dilakukan pada senyawa aktif temu kunci terpilih yaitu senyawa yang memiliki potensi sebagai kandidat antibakteri. SwissADME adalah *web server* yang digunakan dalam uji *drug-likeness* untuk dapat menganalisis karakteristik suatu molekul senyawa kandidat obat berdasarkan aturan Lipinski (Daina *et al.*, 2017). Uji *drug-likeness* bertujuan untuk mengetahui kecocokan suatu senyawa dengan karakteristik obat seperti sifat farmakokinetik dan fisikokimia obat (Ndombera *et al.*, 2019). Aturan Lipinski yang dijadikan acuan dalam uji *drug-likeness* meliputi berat molekul (*molecular weight*), *H-bond acceptors*, *H-bond donors*, dan koefisien logP (Lipinski *et al.*, 2001; Daina *et al.*, 2017).

Senyawa aktif temu kunci dengan berat molekul yang memenuhi aturan Lipinski memiliki kemampuan untuk terdistribusi di dalam tubuh secara optimal, dibandingkan dengan senyawa yang tidak memenuhi aturan Lipinski. Berdasarkan aturan Lipinski, suatu molekul akan dapat terdistribusi optimal apabila memiliki berat molekul berkisar 150-500 g/mol (Lipinski *et al.*, 2001; Daina *et al.*, 2017). Senyawa obat atau kandidat obat yang memiliki berat molekul <500 g/mol lebih mudah terdistribusi karena lebih mudah terjadi proses difusi dan mudah diserap oleh tubuh dibandingkan senyawa dengan berat molekul yang lebih besar yaitu >500 g/mol (Rashid *et al.*, 2021). Suatu molekul atau senyawa yang memiliki berat molekul terlalu besar akan sulit berdifusi pada membran sel mukosa usus karena ukurannya yang besar (El-Kattan, 2017).

Berdasarkan hasil uji *drug-likeness* terdapat tiga senyawa yang tidak memenuhi syarat berat molekul yakni fenchene, cyclohexene, 1-methyl-5-(1-methylethenyl)-, (R) -, dan limonene karena memiliki berat molekul <150 g/mol. Berdasarkan berat molekul, ketiga senyawa tersebut dapat dikatakan memiliki distribusi kurang optimal di dalam tubuh. Modifikasi struktur molekul dapat dilakukan untuk meningkatkan permeasi obat. Menurut Laurent *et al.* (2016) para ilmuwan farmasi menggunakan strategi formulasi untuk mengoptimalkan penyerapan obat salah satunya dengan eksipien yang dapat meningkatkan permeasi epitel. Eksipien adalah zat tidak aktif yang berfungsi sebagai pembawa bahan aktif suatu obat untuk meningkatkan formulasi dengan bahan aktif. Zat aktif pada umumnya tidak mudah diserap oleh tubuh sehingga zat aktif dilarutkan atau dicampur dengan eksipien (Kumar & Dureja, 2013). Salah satu fungsi eksipien menurut Bhattacharya *et al.* (2006) yaitu memodulasi kelarutan dan bioavailabilitas bahan aktif.

Berat molekul merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi proses distribusi suatu obat dalam tubuh. Oleh karena itu faktor tersebut penting untuk diperhatikan agar penyerapan obat dapat optimal. Berat molekul (*molecular weight*) menunjukkan permeabilitas atau kemampuan suatu senyawa dalam menembus membran sehingga menjadi faktor penting pada proses desain obat terkait fisikokimia suatu obat. Berat molekul juga merupakan aspek penting dalam mempengaruhi kinerja obat terapeutik (Rashid *et al.*, 2021).

*H-bond acceptors* (HBA) dan *H-bond donors* (HBD) juga merupakan parameter penting yang digunakan dalam uji *drug-likeness*. Jumlah *H-bond* dapat menunjukkan potensi penyerapan suatu molekul. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa seluruh senyawa aktif temu kunci memiliki jumlah HBA tidak lebih dari 10 dan HBD tidak lebih dari 5 sehingga memenuhi aturan Lipinski (Tabel 2). Rendahnya jumlah HBA dan HBD dari seluruh senyawa aktif temu kunci menunjukkan bahwa seluruh senyawa mudah diserap oleh tubuh. Syahputra *et al.* (2014) menyatakan jumlah HBA dan HBD yang rendah mengindikasikan bahwa molekul dapat diserap oleh tubuh dengan mudah dan memerlukan energi yang rendah. Jumlah *H-bond* yang lebih rendah menunjukkan bahwa molekul memiliki potensi permeasi membran yang lebih tinggi dibandingkan dengan molekul dengan jumlah *H-bond* yang lebih banyak (Wang *et al.*, 2016).

Lipofilisitas merupakan karakteristik penting dari molekul obat dan menjadi parameter penting dalam uji *drug-likeness*. Lipofilisitas dapat diukur melalui nilai koefisien partisi atau logP. Koefisien partisi (logP) adalah bentuk rasio konsentrasi bentuk netral molekul antara dua fase bercampur pada umumnya air dan oktanol (Pike & Storer, 2021). Senyawa nerol, camphor, cineole, *trans*-methyl cinnamate, *cis*-p-mentha-2,8-dien-1-ol, octanal (2,4-dinitrophenyl) hydrazine, pinostrobin chalcone, furan-3-carboxamide, 2-methyl-N-(4-morpholyl)-, hemanthidine memiliki nilai logP (XLOGP3) yang memenuhi aturan Lipinski yaitu logP < 5. Nilai ini menunjukkan bahwa sifat lipofilisitas dari senyawa-senyawa tersebut tergolong baik karena nilai logP berkisar dari -0,7 sampai +5,0 (Daina *et al.*, 2017). Lipofilisitas menunjukkan sifat polaritas atau kemampuan suatu molekul untuk larut dalam lemak. Semakin tinggi nilai logP maka semakin tinggi kemampuan molekul untuk larut dalam lemak (El-Kattan, 2017). Selain mudah larut dalam lemak, senyawa-senyawa tersebut juga mudah larut dalam air sehingga dapat terdistribusi dengan optimal di dalam tubuh. Hal ini sesuai dengan (Julianus & Putra, 2013) yang menyatakan bahwa suatu senyawa memiliki sifat larut dalam lemak dan larut dalam air dengan baik apabila memiliki nilai logP mendekati 1.

Senyawa *Z,Z,Z*-4,6,9-nonadecatriene, ethanol 2-(9,12-octadecadienyloxy)-(Z,Z), chloromethyl 2-chlorodecanoate, 8-tetradecen-1-ol acetate memiliki nilai logP > 5 sehingga tidak memenuhi aturan Lipinski. Tingginya nilai logP mengindikasikan bahwa senyawa tersebut mudah larut dalam lemak namun sukar larut dalam air dan berpotensi toksik bagi tubuh. Molekul yang memiliki nilai logP terlalu besar (logP > 5) akan sulit larut dalam air karena sifatnya sangat hidrofobik atau non-polar (Curie *et al.*, 2022). Molekul yang sukar larut dalam air memiliki tendensi bersifat toksik karena tertahan lama di dalam membran dan tidak mampu menembus keluar sehingga tidak terdistribusi secara optimal di dalam tubuh (Syahputra *et al.*, 2014). Menurut Shargel & Yu (2016) senyawa obat dengan nilai logP yang lebih tinggi cenderung menyebabkan efek toksik dikarenakan senyawa tersebut disimpan dalam lemak yang membutuhkan waktu lebih lama untuk dikeluarkan dari tubuh.

Senyawa-senyawa yang tidak memenuhi syarat nilai logP bukan berarti tidak memiliki potensi sebagai kandidat antibakteri. Namun, perlu dilakukan beberapa upaya untuk mengatasinya. Beberapa upaya dapat dilakukan untuk meningkatkan kelarutan molekul yang sulit larut dalam medium air diantaranya modifikasi struktur molekul, pengurangan ukuran partikel, teknologi *soft-gel*, teknologi dispersi padat, rekayasa kristal, teknologi *nanomorph*, teknologi pergantian *solid-state*

nanokristal, teknik kompleksasi molekul aktif, pembentukan emulsi, misel, mikroemulsi, dan kosovalen (Bhalani *et al.*, 2022).

Suatu molekul dikatakan memiliki tingkat solubilitas yang rendah apabila memiliki berat molekul >500, jumlah *H-bond donors* > 5, jumlah *H-bond acceptors* > 10, nilai  $\log P > 5$  (Pike & Storer, 2021). Berdasarkan hasil keseluruhan uji *drug-likeness* maka diperoleh beberapa senyawa terpilih yang memenuhi seluruh parameter sesuai aturan Lipinski. Senyawa terpilih tersebut diantaranya nerol, camphor, cineole, *trans*-methyl cinnamate, *cis*-p-mentha-2,8-dien-1-ol, octanal (2,4-dinitrophenyl) hydrazine, pinostrobin chalcone, furan 3-carboxamide 2-methyl-N-(4-morpholyl)-, dan hemanthidine.

*Molecular docking* merupakan metode *in silico* yang dapat memperkirakan interaksi antara protein target dan molekul ligan senyawa yakni antara protein target *M. tuberculosis* dengan senyawa aktif temu kunci (*B. rotunda*) menggunakan fungsi skor. Skor atau nilai yang diperoleh dari *molecular docking* dapat digunakan untuk memprediksi kemampuan senyawa aktif temu kunci sebagai antibakteri *M. tuberculosis* ditinjau secara *in silico*. Metode ini berperan penting dalam proses desain obat rasional (Raval & Ganatra, 2022). Berdasarkan hasil uji *drug-likeness* terdapat 9 senyawa aktif temu kunci yang terpilih untuk dilanjutkan pada tahap uji *molecular docking*. Senyawa-senyawa aktif yang terpilih tersebut adalah senyawa yang memenuhi seluruh parameter sesuai dengan aturan Lipinski.

Hasil dari uji *molecular docking* diperoleh skor berupa nilai RMSD dan *binding affinity* antara senyawa aktif temu kunci terpilih dengan protein target *Arabinosyltransferase C Enzyme* (**Tabel 3**) dan protein target InhA (**Tabel 4**). Rollando (2017) menyatakan bahwa protein target (reseptor) adalah polipeptida yang menempel pada membran sel atau protein integral. Protein *Arabinosyltransferase C Enzyme* dan protein target InhA merupakan protein target *M. tuberculosis* yang berlokasi pada membran sel bakteri (Das *et al.*, 2020; Baptista *et al.*, 2021).

Berdasarkan hasil *molecular docking* antara senyawa aktif temu kunci terpilih dengan protein target *Arabinosyltransferase C Enzyme* (kode PDB: 3PTY) dapat diketahui bahwa senyawa octanal (2,4-dinitrophenyl) hydrazine, pinostrobin chalcone, hemanthidine, dan furan 3-carboxamide 2-methyl-N-(4-morpholyl)- memiliki nilai *binding affinity* berturut-turut (-6,6 kcal/mol), (-6,2 kcal/mol), (-5,9 kcal/mol), dan (-5,8 kcal/mol), serta nilai RMSD berturut-turut 1,370 Å, 1,950 Å, 1,729 Å, dan 1,909 Å. Nilai *binding affinity* dan RMSD keempat senyawa tersebut lebih baik dibandingkan dengan isoniazid (-4,8 kcal/mol dan 1,937 Å) serta *native ligand* AFO (-5,5 kcal/mol dan 1,692 Å) ketika berikatan dengan protein target *Arabinosyltransferase C Enzyme*.

Uji *molecular docking* juga dilakukan antara senyawa aktif temu kunci dengan protein target InhA (kode PDB: 1ENY). Hasil menunjukkan bahwa terdapat 7 senyawa aktif temu kunci memiliki nilai *binding affinity* yang lebih negatif dibandingkan dengan isoniazid, namun nilai tersebut tidak lebih negatif jika dibandingkan dengan *native ligand* NAD. Senyawa-senyawa tersebut juga memiliki nilai RMSD sesuai ketentuan yakni  $\leq 2 \text{ \AA}$  (Ruswanto *et al.*, 2015). Ketujuh senyawa aktif temu kunci tersebut adalah pinostrobin chalcone, hemanthidine, *trans*-methyl cinnamate, octanal (2,4-dinitrophenyl) hydrazine, nerol, *cis*-p-mentha-2,8-dien-1-ol, dan furan-3-carboxamide 2-methyl-N-(5-morpholyl)- dengan nilai *binding affinity* dan RMSD tersaji pada **Tabel 4**. Berdasarkan skor tersebut dapat diketahui bahwa ketujuh senyawa memiliki *binding affinity* yang lebih negatif daripada isoniazid (-5,4 kcal/mol). Namun skor dari ketujuh senyawa tersebut tidak lebih negatif dibandingkan *native ligand* NAD dengan *binding affinity* (-10,5 kcal/mol). Hasil tersebut menunjukkan bahwa ketujuh senyawa tersebut memiliki ikatan yang lebih kuat daripada obat isoniazid, namun lebih lemah daripada *native ligand* NAD.

Berdasarkan skor *molecular docking* berupa nilai *binding affinity* dan RMSD maka dapat diketahui kekuatan ikatan antara senyawa aktif temu kunci dan protein target yang menggambarkan aktivitas antibakteri dari masing-masing senyawa terhadap *M. tuberculosis*. Semakin negatif nilai *binding affinity* menandakan bahwa semakin rendah energi yang dibutuhkan untuk terjadinya suatu ikatan sehingga lebih mudah terjadi ikatan dan semakin kuat (Purnomo, 2011). RMSD (*Root Mean Square Deviation*) merupakan nilai yang menunjukkan kesamaan antara posisi *native ligand* dari protein target (reseptor) dan posisi ligan senyawa yang diinteraksikan (López-Camacho *et al.*, 2016). Semakin rendah nilai RMSD maka semakin baik hasil *docking* yang diperoleh. Nilai RMSD di bawah 2 Å dianggap ideal dengan akurasi *docking* yang tinggi (López-Camacho *et al.*, 2016).

Berdasarkan nilai *binding affinity* dan RMSD antara senyawa aktif temu kunci dengan protein target *Arabinosyltransferase C Enzyme* terdapat senyawa yang memiliki interaksi kuat hingga interaksi lemah. Senyawa yang memiliki ikatan paling kuat berturut-turut adalah octanal (2,4-dinitrophenyl) hydrazine, pinostrobin chalcone, hemanthidine, dan furan-3-carboxamide 2-methyl-N-(4-morpholyl)-

karena memiliki *binding affinity* paling negatif diantara senyawa aktif lainnya jika dibandingkan dengan isoniazid dan *native ligand* AFO. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki aktivitas antibakteri *M. tuberculosis* yang paling kuat dibandingkan isoniazid secara *in silico*. Adapun senyawa lainnya yaitu camphor, *trans*-methyl cinnamate, *cis*-p-mentha-2,8-dien-1-ol, dan cineole memiliki aktivitas antibakteri *M. tuberculosis* yang lebih baik dibandingkan isoniazid dengan ikatan lebih lemah, sedangkan senyawa nerol memiliki aktivitas antibakteri yang paling lemah dibandingkan senyawa aktif temu kunci lainnya.

Berdasarkan nilai *binding affinity* dan RMSD senyawa aktif temu kunci ketika berikatan dengan protein target InhA terdapat tujuh senyawa yang memiliki ikatan kuat yaitu senyawa pinostrobin chalcone, hemanthidine, *trans*-methyl cinnamate, octanal (2,4-dinitrophenyl) hydrazine, nerol, *cis*-p-metha-2,8-dien-1-ol, furan-3-carboxamide2-methyl-N-(5-morpholy)- sehingga dapat dikatakan senyawa-senyawa tersebut memiliki aktivitas antibakteri lebih kuat dibandingkan isoniazid namun ikatan yang terbentuk lebih lemah daripada *native ligand* NAD. Selain itu terdapat dua senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri lebih lemah daripada isoniazid karena ikatan yang terbentuk lebih lemah dibandingkan isoniazid dan *native ligand* NAD.

Studi *molecular docking* dapat memprediksi kemampuan aktivitas antibakteri dalam penelitian ini melalui interaksi yang terbentuk antara senyawa aktif temu kunci dengan protein target *M. tuberculosis*. Berdasarkan analisis hasil *molecular docking* didapatkan interaksi dengan kategori lemah hingga kuat. Kekuatan interaksi ini dapat diamati melalui nilai *binding affinity* dari ikatan yang terbentuk dibandingkan dengan obat pembanding dan *native ligand*. Agwom *et al.* (2019) menyatakan bahwa energi ikatan yang negatif menunjukkan interaksi yang kuat dikarenakan senyawa aktif memiliki akses ke target protein sehingga kemungkinan besar senyawa tersebut dapat melakukan inaktivasi bakteri dengan mekanisme tertentu. Oleh karena itu, dapat dikatakan semakin negatif nilai *binding affinity* maka mengindikasikan semakin besar potensi suatu senyawa sebagai kandidat obat antibakteri.

Bioaktivitas senyawa aktif temu kunci terhadap protein target *M. tuberculosis* dapat diketahui melalui visualisasi hasil *molecular docking*. Data yang diperoleh pada tahap visualisasi berupa jenis ikatan dan residu asam amino tempat terjadinya pengikatan antara senyawa aktif temu kunci dengan protein target *Arabinosyltransferase C Enzyme* (**Tabel 5**) dan protein target InhA (**Tabel 6**).

Berdasarkan skor *molecular docking*, diperoleh beberapa senyawa aktif temu kunci terpilih yang paling berpotensi sebagai antibakteri di antara senyawa-senyawa aktif lainnya. Empat senyawa yang paling berpotensi sebagai antibakteri *M. tuberculosis* dengan protein target *Arabinosyltransferase C Enzyme* (3PTY) berturut-turut octanal (2,4-dinitrophenyl) hydrazine, pinostrobin chalcone, hemanthidine, dan furan-3-carboxamide2-methyl-N-(4-morpholy)-. Hasil visualisasi menunjukkan bahwa keempat senyawa tersebut berikatan dengan protein target baik secara ikatan hidrofobik maupun ikatan hidrogen.

Octanal (2,4-dinitrophenyl) hydrazine berikatan dengan protein target *Arabinosyltransferase C Enzyme* secara hidrofobik melalui residu asam amino Ala1059, Asp1056, Trp1057, Tyr841, Arg927, dan Gly921. Senyawa ini juga membentuk ikatan hidrogen dengan residu asam amino Ala922, Gly1058, Ser1047, dan Asn928 (**Gambar 2 (a)**). Residu asam amino Asp1056, Arg927, Ser1047, dan Asn928 bersifat hidrofilik, sedangkan Ala1059, Ala922, Gly921, dan Gly1058 bersifat hidrofobik, serta Trp1057 dan Tyr841 bersifat amfipatik (Vnućec *et al.*, 2016). Residu asam amino tersebut memiliki banyak kesamaan dengan *native ligand* AFO kecuali Ala1059, Trp1057, dan Gly1058 serta memiliki kesamaan dengan isoniazid kecuali Trp1057, Arg927, dan Ala922.

Residu asam amino tempat terjadinya ikatan antara pinostrobin chalcone dengan *Arabinosyltransferase C Enzyme* adalah Glu875, Gln876, Arg879, Pro872, Ile936, Leu871, Leu933, dan Ile965 secara hidrofobik (**Gambar 2 (b)**). Kebanyakan residu asam amino tersebut bersifat hidrofobik kecuali Glu875, Gln876, dan Arg879 yang bersifat hidrofilik (Vnućec *et al.*, 2016). Ikatan yang terbentuk tersebut tidak memiliki kesamaan dengan residu asam amino isoniazid dan *native ligand* AFO, namun memiliki jenis residu asam amino yang sama yaitu didominasi dengan asam amino bersifat hidrofobik.

Hemanthidine berikatan dengan *Arabinosyltransferase C Enzyme* secara hidrofobik melalui asam amino Ala922, Leu1012, Gln1061, Gly921, Arg927, Gly1058, Ser1047, dan Arg930. Senyawa ini juga membentuk ikatan hidrogen melalui asam amino Asp1014, Asp1056, Trp926, Tyr841, dan Thr1044 (**Gambar 2 (c)**). Residu asam amino didominasi oleh asam amino hidrofilik kecuali Ala922, Leu1012, Gly921, dan Gly1058 yang termasuk asam amino hidrofobik, sedangkan Trp926 dan Tyr841 termasuk jenis asam amino amfipatik (Vnućec *et al.*, 2016). Ikatan tersebut memiliki banyak kesamaan

residu asam amino dengan pembandingan terutama dengan *native ligand* AFO, kecuali Leu1012, Gln1061, dan Asp1014. Namun hanya sebagian residu asam amino yang memiliki kesamaan dengan isoniazid diantaranya Gly921, Gly1058, Ser1047, Arg930, Asp1056, dan Tyr841.

Furan-3-carboxamide-2-methyl-N-(4-morpholyl)- berikatan secara hidrofobik dengan protein *Arabinosyltransferase C Enzyme* melalui asam amino Thr1044, Trp926, Asp1056, Val920, Gly921, Ala1059, Gly1058, dan Ser1047, serta berikatan hidrogen melalui Tyr841 dan Arg930 (**Gambar 2 (d)**). Residu asam amino Thr1044, Asp1056, Gly921, Ser1047, dan Arg930 bersifat hidrofilik, sedangkan Val920, Gly1058, Ala1059 dan Gly921 bersifat hidrofobik serta Trp926 dan Tyr841 bersifat amfipatik (Vnućec *et al.*, 2016). Residu yang terdapat pada sisi penambatan antara furan-3-carboxamide-2-methyl-N-(4-morpholyl)- dengan protein *Arabinosyltransferase C Enzyme* memiliki banyak kesamaan dengan *native ligand* AFO kecuali Ala1059 dan Gly1058 serta memiliki kesamaan dengan isoniazid kecuali Thr1044, Trp926, dan Val 920.

Berdasarkan skor *molecular docking* yang telah diperoleh didapatkan tujuh senyawa yang paling berpotensi sebagai antibakteri *M. tuberculosis* dengan protein target InhA (1ENY) yaitu pinostrobin chalcone, hemanthidine, *trans*-methyl cinnamate, octanal (2,4-dinitrophenyl) hydrazine, nerol, *cis*-p-metha-2,8-dien-1-ol, dan furan-3-carboxamide-2-methyl-N-(4-morpholyl)-. Hasil visualisasi menunjukkan bahwa senyawa-senyawa tersebut membentuk ikatan dengan protein InhA baik melalui ikatan hidrofobik maupun ikatan hidrogen.

Pinostrobin chalcone membentuk ikatan hidrofobik dengan protein InhA melalui asam amino Thr39, Ile15, Gly40, Phe41, Ile95, Ile122, Phe97, dan Asp64 serta berikatan hidrogen melalui asam amino Gly14, Leu63, dan Val65 (**Gambar 3 (a)**). Seluruh residu asam amino memiliki sifat hidrofobik kecuali Thr39 dan Asp64 yang bersifat hidrofilik (Vnućec *et al.*, 2016). Residu asam amino pada ikatan antara pinostrobin chalcone memiliki banyak kesamaan dengan *native ligand* NAD kecuali Thr39, Ile15, Ile122, dan Asp64 serta memiliki kesamaan dengan isoniazid kecuali Ile15, Gly40, Phe97, dan Gly14.

Hemanthidine berikatan secara hidrofobik dengan protein InhA melalui asam amino Phe97, Ile122, Phe41, Ile16, Ile95, Gly14, Ser13, Thr39, Leu63, dan Val65 serta berikatan hidrogen melalui asam amino Gly96 (**Gambar 3 (b)**). Jenis residu asam amino didominasi oleh asam amino hidrofobik kecuali Ser13 dan Thr39 yang termasuk asam amino hidrofilik (Vnućec *et al.*, 2016). Hemanthidine lebih banyak memiliki kesamaan asam amino dengan *native ligand* NAD kecuali Ser13 dan memiliki kesamaan dengan isoniazid kecuali Phe97, Ile16, dan Gly14.

*Trans*-methyl cinnamate membentuk ikatan hidrofobik dengan protein InhA melalui asam amino Asp64, Ile122, Val65, Ile95, Met130, Ser13, Leu63, dan Phe41 serta membentuk ikatan hidrogen melalui asam amino Gly14 dan Thr39 (**Gambar 3 (c)**). Jenis residu asam amino yang paling banyak adalah asam amino hidrofobik kecuali Asp64, Ser13, dan Thr39 yang bersifat hidrofilik serta Met130 yang bersifat amfipatik (Vnućec *et al.*, 2016). Seluruh residu asam amino pada ikatan antara *Trans*-methyl cinnamate memiliki kesamaan dengan isoniazid kecuali Ser 13 dan terdapat beberapa perbedaan dengan *native ligand* yaitu Asp64, Ile122, Met130, Ser13, Gly14, dan Thr39.

Octanal (2,4-dinitrophenyl) hydrazine berikatan dengan protein InhA secara hidrofobik melalui asam amino Phe97, Ile122, Phe41, Asp64, Ser13, Leu63, Gly40, Thr39, dan Ile95 serta ikatan hidrogen melalui Gly14, Gly96, dan Val65 (**Gambar 3 (d)**). Seluruh asam amino tersebut memiliki sifat hidrofobik kecuali Asp64, Ser13, dan Thr39 yang bersifat hidrofilik (Vnućec *et al.*, 2016). Ikatan ini memiliki kesamaan dengan *native ligand* NAD kecuali Ile122, Asp64, dan Ser13 serta memiliki kesamaan dengan isoniazid kecuali Phe97, Ser13, Gly40, Gly14, Gly96.

Nerol berikatan hidrofobik dengan protein InhA melalui Leu63, Gly40, Ile95, Phe41, Asp64, Ile122, dan Ile47 serta berikatan hidrogen melalui Gly14, Ile15, dan Thr39 (**Gambar 3 (e)**). Seluruh residu asam amino bersifat hidrofobik kecuali Asp64 dan Thr39 bersifat hidrofilik (Vnućec *et al.*, 2016). Hampir seluruh asam amino memiliki kesamaan dengan *native ligand* NAD dan isoniazid, namun terdapat beberapa perbedaan yaitu Asp64, Ile122, Ile47, dan Ile 15 ketika berikatan dengan *native ligand* NAD dan Gly 40, Ile47, Gly14 dan Ile15 ketika berikatan dengan isoniazid.

*Cis*-p-metha-2,8-dien-1-ol membentuk ikatan hidrofobik ketika berikatan dengan protein InhA melalui asam amino Ile122, Asp64, Val65, Gly14, Ile95, Thr39, Gly40, Ser13, dan Phe41 serta ikatan hidrogen dengan asam amino Leu63 (**Gambar 3 (f)**). Residu asam amino tersebut memiliki kesamaan dengan *native ligand* NAD kecuali Ile122, Asp64, dan Ser13. Selain itu residu asam amino tersebut juga memiliki kesamaan dengan isoniazid kecuali Gly14, Gly40, dan Ser 13. Residu asam amino pada ikatan ini lebih dominan bersifat hidrofobik kecuali Asp64, Thr39, dan Ser13 yang bersifat hidrofilik (Vnućec *et al.*, 2016).



Furan-3-carboxamide-2-methyl-N-(4-morpholy)-, membentuk ikatan hidrofobik dengan protein InhA melalui Ile16, Ser94, Ile95, Leu63, Asp64, Ile122, Phe41, dan Gly14, serta ikatan hidrogen melalui Gly96, dan Val65 (**Gambar 3 (g)**). Residu asam amino tersebut bersifat hidrofobik kecuali Ser94 dan Asp64 yang bersifat hidrofilik (Vnućec *et al.*, 2016). Senyawa ini memiliki kesamaan residu asam amino dengan *native ligand* NAD kecuali Leu63, Asp64, dan Ile122 serta memiliki kesamaan dengan isoniazid ketika berikatan dengan protein InhA kecuali asam amino Ile16, Ser94, Gly14, dan Gly96.

Data pada **Tabel 5** dan **Tabel 6** menunjukkan bahwa seluruh senyawa aktif temu kunci membentuk ikatan hidrofobik dan ikatan hidrogen ketika berikatan dengan masing-masing protein target. Adanya kedua ikatan tersebut menjadikan interaksi yang terbentuk stabil. Ikatan hidrofobik dan ikatan hidrogen dapat mempengaruhi stabilitas ikatan yang terbentuk antara senyawa aktif dengan protein target. De Azevedo Jr (2019) menyatakan bahwa semakin banyak ikatan hidrogen yang terbentuk maka semakin stabil struktur kompleks yang terbentuk. Adanya ikatan hidrofobik semakin memperkuat interaksi yang terbentuk. Ikatan hidrogen yang disertai dengan ikatan hidrofobik dapat membentuk interaksi yang cukup kuat antara *ligand* senyawa dan target (Patil *et al.*, 2010).

Berdasarkan residu asam amino tempat pengikatan dari masing-masing senyawa aktif dengan protein target diketahui bahwa kebanyakan residu asam amino bersifat hidrofobik. Asam amino hidrofobik tidak memiliki rantai samping (non-polar) sehingga cenderung sukar larut dalam air, sebaliknya asam amino yang bersifat hidrofilik memiliki rantai samping terionisasi (polar) sehingga akan cenderung mudah larut dalam air (Idrees *et al.*, 2020). Berdasarkan hal tersebut dapat dikatakan bahwa seluruh senyawa aktif temu kunci terpilih memiliki kemampuan mudah larut dalam lemak karena residu asam amino cenderung lebih banyak bersifat hidrofobik. Kemampuan tersebut didukung oleh hasil uji *drug-likeness* dimana seluruh senyawa kandidat antibiotik dari temu kunci memiliki nilai  $\log P < 5$  sehingga memiliki kemampuan larut dalam lemak (El-Kattan, 2017) namun juga dapat larut dalam air karena nilai  $\log P$  mendekati 1 (Julianus & Putra, 2013).

Banyaknya kesamaan residu asam amino antara setiap molekul senyawa aktif dengan pembanding (*native ligand* dan isoniazid) menandakan adanya kemiripan jenis interaksi dan ikatan pada protein target. Hasil ini didukung oleh Pratama *et al.* (2018) yang menyatakan bahwa semakin tinggi kemiripan residu asam amino menunjukkan probabilitas yang tinggi dimana *ligand* senyawa aktif akan memiliki jenis interaksi yang serupa dengan *ligand* pembanding.

Berdasarkan hasil riset dapat diketahui bahwa seluruh senyawa aktif temu kunci memiliki aktivitas antibakteri dari kuat hingga lemah ditinjau secara *in silico*. Senyawa aktif temu kunci dominan tergolong dalam kelompok minyak esensial. Beberapa riset terdahulu membuktikan bahwa minyak esensial memiliki aktivitas antibakteri. Nerol ( $C_{10}H_{18}O$ ) atau cis-2,6-dimethyl-2,6-octadien-8-ol termasuk ke dalam kelompok monoterpen. Penelitian terbaru dilakukan oleh Wang *et al.* (2019) melaporkan bahwa nerol menunjukkan bioaktivitas sebagai antibakteri terhadap *E. coli*, *Salmonella enteritica*, dan *S. aureus*. Nerol mampu menghambat proses penyerapan oksigen dan fosforilasi oksidatif mikroba yang menjadi bagian penting dalam keberlangsungan hidup mikroba (Zengin & Baysal, 2014). Penyerapan oksigen yang terhambat menyebabkan rendahnya konsentrasi oksigen sehingga mikroba akan mengalami keterbatasan laju respirasi. Interaksi antara senyawa golongan terpen akan menyebabkan perubahan dalam respirasi seluler sehingga akan menyebabkan pelepasan fosforilasi oksidatif pada mikroba. Chen *et al.* (2016) melaporkan bahwa terpen juga mempengaruhi aktivitas membran lipid sehingga akan mempengaruhi jalur intermembran lipodial dan transmembran polar.

*Trans-methyl cinnamate* ( $C_{10}H_{10}O_2$ ) termasuk golongan minyak esensial. Banyak riset yang melaporkan kemampuan *trans-methyl cinnamate* dalam menghambat pertumbuhan bakteri baik Gram positif maupun Gram negatif. Riset *in vitro* melaporkan bahwa *trans-methyl cinnamate* berhasil menghambat pertumbuhan mikroba *S. aureus*, *E. coli*, *B. subtilis* (Huang *et al.*, 2009). Riset terbaru dilakukan oleh Padalia *et al.* (2017) memperoleh hasil bahwa pertumbuhan bakteri *S. epidermidis*, *S. mutan*, dan *E. coli* mampu dihambat oleh senyawa *trans-methyl cinnamate*. Mekanisme hambat senyawa ini yaitu dengan menghalangi proses proliferasi bakteri Gram positif maupun Gram negatif (Huang *et al.*, 2009).

Pinostrobin chalcone ( $C_{16}H_{14}O_4$ ) adalah salah satu kandungan senyawa aktif rimpang temu kunci yang tergolong flavonoid derivat dari chalcone. Flavonoid terkenal dengan kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri atau sebagai agen antibakteri. Laporan terbaru oleh Marliyana *et al.* (2019) dalam risetnya menyatakan pinostrobin dapat menghambat pertumbuhan *E.*



*coli*, *K. pneumoniae*, *B. subtilis*, *P. mirabilis*, dan *S. aureus*. Pinostrobin dilaporkan memiliki aktivitas yang setara dengan obat tukak lambung melalui percobaan secara *in vitro* terhadap *H. pylori* penyebab infeksi lambung (Bhamarapravati *et al.*, 2006). Secara umum mekanisme penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri oleh senyawa golongan flavonoid yakni dengan mengganggu proses biologis yang berkaitan dengan proses respirasi sel, sintesis asam nukleat dan sintesis selubung sel serta menyebabkan kerusakan membran sel (Górniak *et al.*, 2019).

*Cis-p-metha-2,8-dien-1-ol* (C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>O), *furan-3-carboxamide,2-methyl-N-(4-morpholyl)-* (C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>), *octanal (2,4-dinitrophenyl) hydrazine* (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>), dan *hemanthidine* (C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>O<sub>5</sub>) adalah senyawa golongan minyak esensial. Senyawa *cis-p-metha-2,8-dien-1-ol* (C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>O) menunjukkan aktivitas antibakteri selektif antara bakteri patogen dengan memainkan peran penting dalam aktivitas biologis (Ambrosio *et al.*, 2021). Mekanisme hambat spesifik dari masing-masing senyawa tersebut belum banyak dilaporkan secara terperinci. Secara umum mekanisme hambat yang ditunjukkan oleh senyawa golongan minyak esensial yaitu dengan mengganggu permeabilitas dan toleransi garam pada sel bakteri. Chahyadi *et al.* (2014) membuktikan bahwa sel *E. coli* mengalami kerusakan sehingga terjadi kebocoran komponen organik dan anorganik sel. Serupa dengan Chen *et al.* (2020) yang melaporkan bahwa minyak esensial memiliki aktivitas antibakteri terhadap MRSA dengan memicu peningkatan apoptosis dan merusak struktur sel sehingga terjadi kebocoran komponen penting seperti protein, DNA, dan RNA.

Riset yang telah dilakukan melalui analisis *in silico* membuktikan bahwa senyawa aktif rimpang temu kunci (*B. rotunda*) berpotensi sebagai antibakteri *M. tuberculosis*. Senyawa aktif yang memiliki potensi paling kuat sebagai antibakteri *M. tuberculosis* dengan protein target *Arabinosyltransferase C Enzyme* yakni *octanal (2,4-dinitrophenyl) hydrazine*, *pinostrobin chalcone*, *furan-3-carboxamide2-methyl-N-(4-morpholyl)-*, dan *hemanthidine*. Keempat senyawa tersebut juga memiliki potensi sebagai antibakteri *M. tuberculosis* dengan protein target *InhA* namun potensinya lebih lemah. Berdasarkan keseluruhan hasil riset diperoleh bahwa senyawa aktif temu kunci berpotensi sebagai antibakteri *M. tuberculosis* yang efektif dengan protein target *Arabinosyltransferase C Enzyme*. Senyawa-senyawa yang menunjukkan potensi paling kuat kebanyakan adalah senyawa dengan persentase komposisi yang kecil dalam rimpang temu kunci berdasarkan Baharudin *et al.* (2015). Oleh karena itu diperlukan metode isolasi yang baik dan benar agar memperoleh senyawa-senyawa spesifik minyak esensial tersebut secara optimal sehingga dapat dikembangkan menjadi obat baru penyakit tuberkulosis yang efektif.

## SIMPULAN

Karakteristik *drug-likeness* senyawa temu kunci kandidat antibakteri memenuhi aturan Lipinski meliputi berat molekul (150-500 g/mol), *H-bond acceptors* < 10, *H-bond donors* < 5, dan  $\log P < 5$  kecuali senyawa fenchene, cychlohexene 1-methyl 1-5-(1-methylethenyl)-, (R), dan limonene yang tidak memenuhi syarat berat molekul serta senyawa *Z,Z,Z -4,6,9-Nonadecatriene*, *ethanol*, *2-(9,12-octadecadienyloxy)- (Z,Z)*, *chloromethyl 2-chlorodecanoate*, dan *8- tetradecen-1-ol acetate* yang tidak memenuhi syarat nilai  $\log P$ .

Interaksi terbaik senyawa aktif temu kunci dengan protein target *Arabinosyltransferase C Enzyme* didapatkan pada *octanal (2,4-dinitrophenyl) hydrazine* dengan nilai *binding affinity* dan RMSD secara berturut-turut -6,6 kcal/mol dan 1,370 Å, *pinostrobin chalcone* (-6,2 kcal/mol dan 1,950 Å), *hemanthidine* (-5,9 kcal/mol dan 1,729 Å), dan *furan 3-carboxamide 2-methyl-N-(4-morpholyl)-* (-5,8 kcal/mol dan 1,909 Å). Interaksi terbaik senyawa aktif temu kunci dengan protein target *InhA* ditunjukkan oleh *pinostrobin chalcone* dengan nilai *binding affinity* -8,1 kcal/mol dan RMSD 1,398 Å, *hemanthidine* (-7,9 kcal/mol dan 2,105 Å), *trans-methyl cinnamate* (-7,3 kcal/mol dan 1,437 Å), *octanal (2,4-dinitrophenyl) hydrazine* (-6,6 kcal/mol dan 2,553 Å), *nerol* (-6,4 kcal/mol dan 1,591 Å), *cis-p-metha-2,8-dien-1-ol* (-6,2 kcal/mol dan 2,308 Å), dan *furan-3-carboxamide2-methyl-N-(5-morpholyl)-* (-6,2 kcal/mol dan 2,128 Å).

Senyawa yang paling berpotensi sebagai antibakteri *M. tuberculosis* dengan protein target *Arabinosyltransferase C Enzyme* adalah *octanal (2,4-dinitrophenyl) hydrazine*, *pinostrobin chalcone*, *hemanthidine*, dan *furan 3-carboxamide 2-methyl-N-(4-morpholyl)-*. Senyawa yang paling berpotensi sebagai antibakteri *M. tuberculosis* dengan protein target *InhA* adalah *pinostrobin chalcone*, *hemanthidine*, *trans-methyl cinnamate*, *octanal (2,4-dinitrophenyl) hydrazine*, *nerol*, *cis-p-metha-2,8-dien-1-ol*, *furan-3-carboxamide2-methyl-N-(5-morpholyl)-*.

Senyawa aktif terpilih dari temu kunci memiliki potensi antibakteri yang lebih kuat dengan protein target *Arabinosyltransferase C Enzyme* dibandingkan protein InhA, yang ditunjukkan dengan nilai *binding affinity* yang lebih negatif daripada *native ligand* dan isoniazid.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adigun R dan Sigh R, 2021. *Tuberculosis*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.
- Agwom FM, Afolabi EO, Bot KJ, Yakubum NS, Olaitan IJ, dan Kindala JT, 2019. In Silico Studies, Comparative Synthesis and Antibacterial Activity of Some Imine Derivatives of Isonicotinic Hydrazide. *Organic & Medicinal Chem IJ*; 8(5): 001-009. DOI: 10.19080/OMCIJ.2019.08.555747.
- Ambrosio CMS, Diaz-Arenas GL, Agudelo LPA, Stashenko E, Contreras-Castillo CJ, dan da Gloria EM, 2021. Chemical Composition and Antibacterial and Antioxidant Activity of a Citrus Essential Oil and Its Fractions. *Molecules*; 26 (2888): pp 1-16. DOI: 10.3390/molecules26102888.
- Baharudin MKA, Hamid dan Susanti D, 2015. Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential Oils from Three Aromatic Plants of the Zingiberaceae Family in Malaysia. *Journal of Physical Science*; 26(1): 71-81.
- Baptista R, Bhowmick S, Shen J, dan Mur LAJ, 2021. Molecular Docking Suggest the Targets of Anti-Mycobacterial Natural Products. *Molecules*; 26(475): 1-14. DOI: 10.3390/molecules26020475.
- Bhalani DV, Nutan B, Kumar A, dan Chandel AKS, 2022. Bioavailability Enhancement Techniques for poorly Aqueous Soluble and Therapeutics. *Biomedicines*; 10(9): 1-33. DOI: <https://doi.org/10.3390/biomedicines10092055>.
- Bhamarapravati S, Juthapruth S, Machachai W, dan Mahady G, 2006. Antibacterial Activity of *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. and *Myristica fragrans* Houtt. Against *Helicobacter pylori*. *Songklanakarinn J Sci Technol*; 28(1): 157-163.
- Bhattacharya L, Schuber S, Sheehan S, dan William R, 2006. *Excipients: Background / Introduction*, In: Katdare, A., Chaubal, M.V., Eds., *Excipients Development for Pharmaceutical, Biotechnology, and Drug Delivery System*. New York: Informa Health Care.
- Chahyadi A, Hartati R, Wirasutisna KR, dan Elfahmi, 2014. *Boesenbergia pandurata* Roxb., An Indonesian Medical Plant: Phytochemistry, Biological Activity, Plant Biotechnology. *Procedia Chemistry*; 13: 13-37. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.proche.2014.12.003>.
- Chen J, Jiang QJ, Chai YP, Zhang H, Peng P, Yang XY, 2016. Natural Terpenes as Penetration Enhancers for Transdermal Drug Delivery. *Molecules*; 21(12): 1709. DOI: 10.3390/molecules21121709.
- Chen J, Tang C, Zhang R, Ye S, Zhao Z, Huang Y, Xu X, Lan W, dan Yang D, 2020. Metabolomics Analysis to Evaluate The Antibacterial Activity of The Essential Oil from The Leaves of *Cinnamomum camphora* (Linn.) Presl. *Journal of Ethnopharmacol*; 10(253): 112652. DOI: 10.1016/j.jep.2020.112652.
- Curie CA, Darmawan MA, Dianursanti D, Budhijanto W, dan Gozan M, 2022. The Effect of Solvent Hydrophilicity on the Enzymatic Ring-Opening Polymerization of L-Lactide by *Candida rugosa* Lipase. *Polymer*; 14(3856): 1-15. DOI: 10.3390/polym14183856.
- Daina A, Michielin O, dan Zoete V, 2017. SwissADME: A Free Web Tool to Evaluate Pharmacokinetics, Drug Likeness and Medicinal Chemistry. *Nature - Scientific Reports*; 7(42717): 1-13. DOI: 10.1038/srep42717.
- Das N, Jena PK, dan Pradhan SK, 2019. Arabinosyltransferase C Enzyme of *Mycobacterium tuberculosis*, A Potential Drug Target: An Insight from Molecular Docking Study. *Heliyon*; 5: e02693. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02693>.
- De Azevedo Jr WFD, 2019. *Docking Screens for Drug Discovery*. New York: Humana Press.
- El-Kattan AF, 2017. *Oral Bioavailability Assesment: Basics and Strategies for Drug Discovery and Development*. New York: John Wiley & Sons, Inc. DOI: 10.1002/9781118916926.
- Gordon SV dan Parish T, 2018. Microbe Profile: *Mycobacterium tuberculosis*: Humanity's Deadly Microbial Foe. *Microbiology*; 164(4): 437-439. DOI: 10.1099/mic.0.000601.
- Górniak I, Bartoszewski R, dan Króliczewski J, 2019. Comprehensive Review of Antimicrobial Activities of Plant Flavonoids. *Phytochem Rev*; 18: 241-272. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11101-018-9591-z>.
- Handayani S, Mursiti S, dan Wijayanti N, 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Flavonoid dari Rimpang Temu Kunci (*Kaempferia pandurata* Roxb.) terhadap *Streptococcus mutans*. *Indo J Chem Sci*; 7(2): 146-152.
- Huang QS, Zhum YJ, Li HL, Zhuang JX, Zhang CL, Zhou JJ, Li WG, dan Chen QX, 2009. Inhibitory Effects of Methyl trans-Cinnamate on Mushroom Tyrosinase and Its Antimicrobial Activities. *J Agric Food Chem*; 57(6): 2565-2569. DOI: 10.1021/jf8036227.
- Idrees M, Mohammad AR, Karodia N, dan Rahman A, 2020. Multimodal Role of Amino Acids in Microbial Control and Drug Development. *Antibiotics*; 9(6): 330. DOI: 10.3390/antibiotics9060330.
- Irwan I, Hajrah dan Sastyarina Y, 2021. Simulasi *Docking* Senyawa Napthoquinones Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine americana* Merr.) terhadap Bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conference*; 13(1): 92-98. DOI: <https://doi.org/10.25026/mpc.v13i1.449>.
- Julianus J dan Putra LWA, 2013. Sintesis Laktogenin dari Tetrahidrofuran-3-Karboksaldehida dan 2-Asetil- $\gamma$ -Butirolakton dengan Katalis Natrium Metoksida. *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*; 10(1): 43-50. DOI: 10.24071/jpsc.10189.
- Kemenkes, 2021. *Jadikan Penerus Bangsa Bebas TBC, Dimulai dari Diri Sendiri dan Keluarga*. (Online), (<https://www.kemkes.go.id/article/view/21032500001/jadikan-penerus-bangsa-bebas-tbc-dimulai-dari>

- diri-sendiri-dan-keluarga.html, diakses tanggal 6 September 2021).
- Khan SR, Manialawy Y, dan Siraki AG, 2019. Isoniazid and Host Immune System Interactions: A Proposal for a Novel Comprehensive Mode of Action. *Br J Pharmacol*; 176(24): 4599–4608. DOI: 10.1111/bph.14867.
- Kumar D, dan Dureja H, 2013. Pharmaceutical Excipients: Global Regulatory Issues. *Indonesian J Pharm*; 24(4): 215-221. DOI: 10.14499/indonesianjpharm24iss4pp215.
- Laurent F, Hillery AM, dan Mrsny R, 2016. *Drug Delivery: Fundamentals and Applications, Second Edition. Section 1 Fundamental Issues: Chapter 4 Overview of Epithelial Barriers*. United States: CRC Press.
- Lee K, Jang J, Seo S, Lim J, dan Kim WY, 2022. Drug-likeness Scoring Based on Unsupervised Learning. *Chem Sci*; 13(2): 554-565. DOI: 10.1039/d1sc05248a.
- Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, dan Feeney PJ, 2001. Experimental and Computational Approaches to Estimate Solubility and Permeability in Drug Discovery and Development Settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*; 46(3): 3–26. DOI: 10.1016/s0169-409x(00)00129-0.
- López- Camacho E, García-Godoy MJ, García-Nieto J, Nebro AJ, and Aldana-Montes JF. 2016. *A New Multi-objective Approach for Molecular Docking Based on RMSD and Binding Energy*. In: Botón-Fernández, M., Martín-Vide, C., Santander-Jiménez, S., Vega-Rodríguez, M. (eds) *Algorithms for Computational Biology*. AICoB 2016. Lecture Notes in Computer Science vol 9702. Switzerland: Springer, Cham. DOI:10.1007/978-3-319-38827-4\_6.
- Marliyana SD, Mujahidin D, dan Syah YM, 2019. Transformation Reaction of Prenylated Chalcone of Pinostrobin Derivative and Their Antibacterial Activity. *OP Conf Series: Materials Science and Engineering*; 349(1): 012057. DOI:10.1088/1757-899X/509/1/012133.
- Ndombera FT, Maiyoh GKK, Twei VC, 2019. Pharmacokinetic, Physicochemical and Medicinal Properties of N-glycoside Anti-cancer Agent More Potent than 2-Deoxy-D-Glucose in Lung Cancer Cells. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*; 17(4): 165-176. DOI:10.17265/2328-2150/2019.04.003.
- Padalia RC, Verma RS, Chauhan A, Goswami P, Singh VR, Verma SK, Darokar MP, Kurmi A, Singh N, Saikia D, dan Chanotiya S, 2017. Essential Oil Compotision and Antimicrobial Activity of Methyl Cinnamate-Linlool Chemovariant of *Ocimum basilicum* L. from India. *Rec Nat Prod*; 11(2): 193-204.
- Patil R, Das S, Stanley A, Yadav L, Sudhakar A, dan Varma AK, 2010. Optimized Hydrophobic Interactions and Hydrogen Bonding at the Target-Ligand Interface Leads the Pathways of Drug-Designing. *Plos One*; 5(8): e12029. DOI: 10.1371/journal.pone.0012029.
- Pike A dan Storer RI, 2021. *The Medicinal Chemist's Guide to Solving ADMET Challenges, Chapter 3: Optimisation of Passive Permeability for Oral Absorption*. United Kingdom: Royal Society of Chemistry. DOI: <https://doi.org/10.1039/9781788016414-00036>.
- Pratama MRF, Suratno dan Mulyani E, 2018. Antibacterial Activity of Akar Kuning (*Arcangelisia flava*) Secondary Metabolites: Molecular Docking Approach. *Asian J Pharm Clin Res*; 11(11): 447-451. DOI: <http://dx.doi.org/10.22159/ajpcr.2018.v11i11.29189>.
- Purnama ER, Sanora GD, Mastura EY, dan Handoyo MOM. 2020. *Pengenalan dan Pelatihan Software Bioinformatika "Molecular Docking"*. Surabaya: Delle Nurul Utama.
- Purnomo H, 2011. *Kimia Komputasi: Molecular Docking Plants, Penambatan Molekul Plants [Protein-Ligand-ant-system]*. Yogyakarta: Penerbit Pustaka Pelajar.
- Rachmania RA, Supandi S, dan Cristina FAD, 2016. Analisis Penambatan Molekul Senyawa Flavonoid Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Shieff.) Boerl.) pada Reseptor A-Glukosidase Sebagai Antidiabetes. *Jurnal Pharmacy*; 13 (2): hal. 239-251.
- Rashid M, Afzal O, dan Altamimi ASA, 2021. Benzimidazole Molecule Hydrid with Oxadiazole Ring as Antiproliferative Agents: *In-Silico* Analysis, Synthesis and Biological Evaluation. *J Chil Chem Soc*; 66(2): 5164-5182. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-97072021000205164>.
- Raval K dan Ganatra T, 2022. Basics, Types and Applications of Molecular Docking: A Review. *IP International Journal of Comprehensive and Advanced Pharmacology*; 7(1): 12-16. DOI:10.18231/j.ijcaap.2022.003.
- Ridzali AMI, 2018. *Daya Antibakteri Ekstrak Rimpang Temu Kunci (Boesenbergia rotunda) terhadap Bakteri Enterococcus faecalis*. Undergraduate Thesis. Palembang: Universitas Sriwijaya.
- Rollando, 2017. *Pengantar Kimia Medisinal*. Malang: CV Seribu Bintang.
- Ruswanto, Mardhiaha, Mardianingrum R, dan Novitriani K, 2015. Sintesis dan Studi In Silico Senyawa 3-Nitro-N'-(Pyridin-4-Yl) Carbonyl Benzohidrazide sebagai Kandidat Antituberkulosis. *Chimica et Natura Acta*; 3(2): 54-61. DOI:10.24198/cna.v3.n2.9183.
- Sastrahidayat IK, 2016. *Penyakit pada Tumbuhan Obat-Obatan, Rempah-Bumbu dan Stimulan*. Malang: UB Press.
- Sen DJ, Nandi K, dan Saha D, 2021. Rule of Five: The Five Men Army to Cross The Blood Bran Barrier for Therapeutically Potent. *World J Adv Healthc Res*; 5(3): 206-211.
- Shargel L dan Yu ABC., 2016. *Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics, 7<sup>th</sup> Ed*. New York: Mc Graw-Hill Education.
- Sopitthummakhun K, Rattanasunganchan P, Nimmanee P, Paungmoung P, Moolthiya P, dan Thitapakorn V, 2021. Antioxidant Capacity, Antibacterial Activity, and Cell Cytotoxicity in Cholangiocarcinoma (CCA) from *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. *Asia-Pacific Journal of Science and Technology*; 26(2): 1-9. DOI: <https://doi.org/10.14456/apst.2021.16>.
- Syahputra G, Ambarsari L, dan Sumaryada, T, 2014. Simulasi *Docking* Kurkumin Enol, Bisdemetoksikurkumin

- dan Analognya Sebagai Inhibitor Enzim 12-Lipoksigenase. *Jurnal Biofisika*; 10(1): 55-67.
- Vnučec D, Kutnar A, dan Goršek A, 2016. Soy-Based Adhesives for Wood-Bonding - A Review. *Journal of Adhesion Sciences and Technology*; 31(8): 1-22. DOI: 10.1080/01694243.2016.1237278.
- Wang B, Hu L, dan Siahaan TJ, 2016. *Drug Delivery Principle and Applications*. Germany: Wiley.
- Wang CY, Chen YW, Hou CY, 2019. Antioxidant and Antibacterial Activity of Seven Predominant Terpenoids. *International Journal of Food Properties*; 22(1): 230-238.
- WHO, 2020. *Global Tuberculosis Report 2020*. Geneva: World Health Organization.
- Xia Y, Zhou Y, Carter DS, McNeil MB, Choi W, Halladay J, Berr, PW, Mao W, Hernandez V, O'Malley T, Korkegian A, Sunde B, Flint L, Woolhiser L, Scherman MS, Gruppo V, Hastings C, Robertson G, Iorger TR, Sacchettini J, Tonge PJ, Lenaerts AJ, Parish T, dan Alley MRK, 2018. Discovery of a Cofactor-Independent Inhibitor of *Mycobacterium tuberculosis* InhA. *Life Science Alliance*; 1(3): 1-12. DOI: <https://doi.org/10.26508/lsa.201800025>.
- Zengin H dan Baysal A, 2014. Antibacterial and Antioxidant Activity of Essential Oil Terpenes Against Pathogenic and Spoilage-Forming Bacteria and Cell Structure-Activity Relationships Evaluated by SEM Microscopy. *Molecules*; 19(11): 17773-17798. DOI: 10.3390/molecules191117773.

**Article History:**

Received: 31 Januari 2023

Revised: 23 Februari 2023

Available online: 2 Maret 2023

Published: 31 Mei 2023

**Authors:**

Hidayatul Lailiyah, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Surabaya, Jalan Ketintang Gedung C3 Lt. 2 Surabaya 60231, Indonesia, e-mail: [hidayatullailiyah@gmail.com](mailto:hidayatullailiyah@gmail.com)

Lisa Lisdiana, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Surabaya, Jalan Ketintang Gedung C3 Lt. 2 Surabaya 60231, Indonesia, e-mail: [lisalisdiana@unesa.ac.id](mailto:lisalisdiana@unesa.ac.id)

**How to cite this article:**

Lailiyah H, Lisdiana L, 2023. Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Aktif Temu Kunci (*Boesenbergia rotunda*) terhadap *Mycobacterium tuberculosis* Secara *In Silico*. *LenteraBio*; 12(2): 132-149.