

Kajian In Silico Senyawa Turunan Pirazolina terhadap Bakteri Eschericia coli

In Silico Study of Pyrazoline Derivative Compounds against Eschericia coli Bacteria

Tri Wulan Novi*, Wisnu Cahyo Prabowo, Fajar Prasetya

Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia

* Corresponding author: triwulanovi3456@gmail.com

Abstract

The development of antibiotics is needed to overcome drug resistance. Penicillin binding protein 5 (PBP5) Eschericia coli bacteria is one of the targets because it plays a role in maintaining cell shape. Pyrazolina is a compound that contains two nitrogen atoms where the two nitrogen atoms are close together and are responsible as an antibacterial agent that can disrupt the cell wall. The target molecule was downloaded from the Protein Data Bank (www.rcsb.org) (PDB ID: 6NTZ). The grid used is 20 Å x 26Å x 32Å with a center of 29,731Å, -9,112 Å and 35,821 Å. Based on the results of the docking that has been carried out from 10 pyrazoline derivative test compounds, the resulting binding energy varies. There are 5 pyrazoline derivative compounds having binding energy lower than the natural ligands - 6.27 kcal / mol. Compound P8 has the lowest value compared to other test compounds with a binding energy value of -7.69 kcal / mol. Based on the interaction, P2 and P3 compounds have interactions that are similar to the original ligands due to the presence of Pi-Donor hydrogen bonds with the amino acids SER 73 and SER 139. The results of molecular docking studies show that pyrazoline derivatives play a role in Eschericia coli bacteria.

Key words: Docking molecular, Eschericia coli, PBP5, Pirazolina derivatives

Abstrak

Pengembangan antibiotik sangat diperlukan untuk mengatasi resistensi obat. Pirazolina merupakan senyawa yang mengandung dua atom nitrogen yang diketahui memiliki banyak manfaat. Molekul target diunduh dari Protein Data Bank (www.rcsb.org) (PDB ID: 6NTZ). Grid yang digunakan yaitu 20 Å x 26Å x 32Å dengan center 29.731Å, -9,112 Å dan 35.821 Å dengan spacing 0,75. Berdasarkan hasil docking yang telah dilakukan dari 10 senyawa uji turunan pirazolina, binding energy yang dihasilkan beranekaragam. Terdapat 5 senyawa turunan pirazolina memiliki binding energy yang lebih rendah dari ligan alaminya yaitu -6,27 kkal/mol. Senyawa P8 memiliki nilai paling rendah dibandingkan

senyawa uji lainnya yaitu dengan nilai *binding energy* -7,69 kkal/mol. Berdasarkan interaksinya senyawa P2 dan P3 memiliki interaksi yang mirip dengan ligan aslinya karena adanya ikatan Pi-Donor ikatan hidrogen dengan asam amino SER 73 dan SER 139. Studi *docking molecular* menunjukkan bahwa senyawa turunan pirazolina berperan terhadap bakteri *Escherichia coli*.

Kata kunci: *Docking molecular, Escherichia coli, PBP5, Turunan Pirazolina*

DOI: <https://doi.org/10.25026/mpc.v13i1.467>

1. Pendahuluan

Pada bidang kesehatan selalu dipelukan senyawa baru dengan aktivitas tinggi, lebih selektif, lebih stabil dengan toksisitas lebih rendah. Sintesis dilakukan dengan metode pendekatan dan secara *try and error*, yang membuat biaya penelitian membengkak dan membutuhkan waktu yang lama sehingga diperlukan sebuah pendekatan lainnya, salah satunya dengan kimia komputasi seperti *molecular docking*.

Pendekatan *In silico* merupakan metode eksperimen menggunakan perangkat lunak untuk mempelajari sifat fisikokimia dari struktur senyawa [1]. Metode ini digunakan untuk memprediksi efek farmakologi senyawa terhadap target [2]. Pendekatan ini memiliki beberapa kelebihan dibandingkan pendekatan *in vivo* maupun *in vitro* diantaranya yaitu waktu penelitian yang lebih sedikit dan biaya yang jauh lebih murah. Dalam menghambat atau membunuh suatu bakteri dibutuhkan senyawa memiliki aktivitas yang terbaik, salah satunya yaitu senyawa pirazolina.

Pirazolina (golongan azol) merupakan senyawa dengan struktur heterosiklik lima yang mengandung dua nitrogen [3] dalam posisi 1(N-pyrrolic) dan 2(N-pyridine dari cincin beranggota lima. Dua atom nitrogen yang saling berdekatan ini bertanggung jawab sebagai agen antibakteri [4]. Banyak penelitian yang membuktikan bahwa senyawa ini memiliki banyak aktivitas biologis. Penelitian Sadiah [5] melaporkan senyawa pirazolina diketahui memiliki beragam kegiatan biologis diantaranya agen antimikroba, antikanker, antiinflamasi, agen antioksidan, analgesik, dan antitumor. Pendekatan secara *in silico* dapat menjadi langkah awal yang paling tepat agar diketahui senyawa pirazolina yang lebih

potensial sehingga dapat dilanjutkan ke pendekatan *invivo* dan *invitro* dan didapatkan obat baru yang lebih efektif.

2. Metode Penelitian

2.1. Aplikasi untuk Molecular Docking

Molecular docking dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak AutoDock Tools.

2.2. Preparasi Ligan

Sepuluh Senyawa turunan pirazolina digambar menggunakan ChemDraw Pro 15, kemudian dikonversi menjadi 3D dan diminimasi menggunakan medan gaya MMFF94 dan selanjutnya disimpan dalam bentuk .pdb.

2.3. Preparasi Protein

Simulasi *docking* dilakukan pada struktur kristal protein 2.20 Å (PDB: 6NTZ) yang diunduh melalui <https://www.rcsb.org>, kemudian dilakukan preparasi menggunakan AutoDock Tools dengan dihilangkan molekul air dan diprotonasi. Selanjutnya dilakukan *running* AutoGrid, hasil validasi terbaik selanjutnya dilanjutkan *docking*.

2.4. Molecular Docking

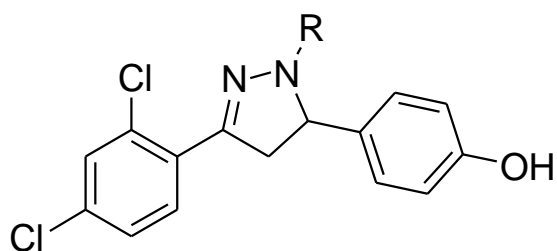
Molecular docking adalah salah satu metode yang paling sering digunakan dalam mendesain obat berbasis struktur karena mampu memprediksi konformasi pengikatan molekul ke lokasi pengikatan target yang sesuai [6]. *Docking* dilakukan antara senyawa turunan pirazolina dengan protrin dinding sel bakteri. Aktivitas antibakteri dilihat dari perbandingan *binding energy* dan jenis ikatan yang terbentuk ligan alami dengan senyawa turunan

pirazolina. Hasil *docking* divisualisasikan untuk melihat interaksi yang terjadi.

3. Hasil dan Pembahasan

Pengujian dilakukan secara *molecular docking* antara senyawa turunan pirazolina protein dari bakteri (PDB ID: 6NTZ). Sistem *docking* divalidasi dengan melakukan *re-docking* ligan dari kristal protein menjadi masing-masing situs yang mengikat. Hasil *re-*

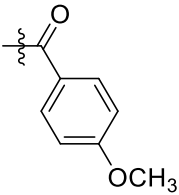
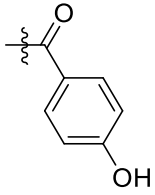
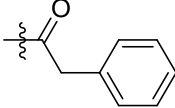
docking didapatkan nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) yaitu 1,79 (<2). Peptidoglikan terdiri dari rantai untaian glikan yang terpolimerisasi dari beta-1,4 terkait asam N-asetil -glukosamin-N-asetil-muramat yang mengikat silang, dimana pada *E.coli* reaksi ini dilakukan oleh *penicillin-binding proteins* (PBPs) PBP5 *E.coli* sangat berpartisipasi dalam konstruksi maupun perawatan dinding sel bakteri [7]. Ketika PBP5 ini diganggu maka akan menyebabkan dinding bakteri tidak stabil.



Gambar 1. Struktur Dasar Pirazolina. Gugus R dapat dilihat pada table 1.

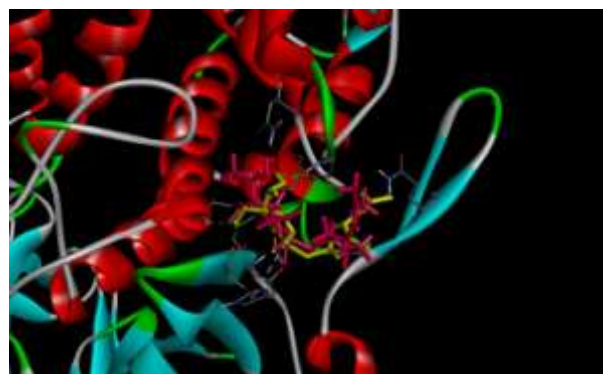
Tabel 1. Gugus substituen R hasil modifikasi dari struktur Dasar Senyawa Pirazolina pada Gambar 1

No.	Kode Senyawa	Substituent (R)
1.	P1	H
2.	P2	
3.	P3	
4.	P4	
5.	P5	
6.	P6	
7.	P7	

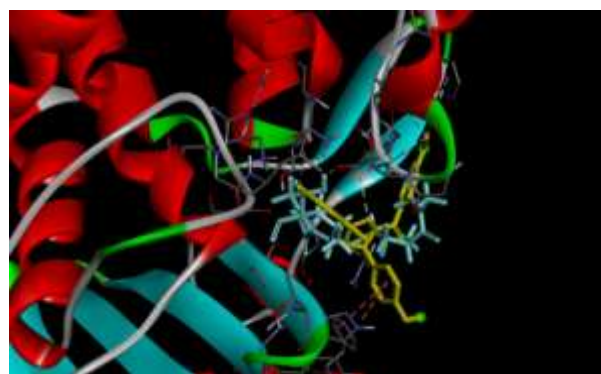
8.	P8	
9.	P9	
10.	P10	

Tabel 2. Data binding energy, konstanta inhibisi dan interaksi senyawa turunan pirazolina dengan protein target

Senyawa Ligan	ΔG (Kkal/mol)	Ki (μm)	Residu interaksi
P_1	-7,50	279.94	HIS245, ASN141, HIS245, SER73, LYS76
P_2	-7,50	3,2	THR243, SER116, LEU182, SER73, SER139, HIS245
P_3	-6,26	25.76	THR243, ASN141, SER116, LYS76, GLY114, SER73, SER139, HIS245
P_4	-5,07	191.11	HIS245, THR243, ARG227, SER115, SER116, HIS245
P_5	-6,73	11.62	SER116, SER73, HIS245, LEU182, ARG227, ASN141, ARG277, SER115
P_6	-6,18	29,7	HIS245, ARG277, LEU182, ARG227, SER115, SER116, SER73
P_7	-5,18	159.83	SER116, PHE119, LEU117, LEU182, HIS245
P_8	-7,69	383,06	HIS245, SER116, SER115, PHE119, LEU117, LEU182
P_9	-6,20	28,64	HIS245, SER73, ASN141, ARG227, LEU182, ARG277, SER115, LYS76, SER116
P_10	-6,44	19,09	SER73, HIS245, ARG277, LEU182, ARG227



(A)



(B)

Gambar 2. Visualisasi (A) Hasil *Re-docking*, dan (B) Hasil *Docking* dengan Senyawa Turunan Pirazolina (P8).

Pada gambar 2 terlihat bahwa posisi antara ligan asli (kuning) dengan hasil *re-docking* (merah muda) tidak signifikan berbeda (A). Selanjutnya dilakukan *molecular docking* antara 10 senyawa turunan pirazolina dengan protein hasil validasi tersebut. Visualisasi hasil *docking* dengan senyawa P8, dimana dapat

terlihat posisi ligan asli (biru) dan senyawa turunan pirazolina P8 (kuning) (gambar 2B).

Skor *docking* dinyatakan dalam energi negatif (Kcal/ mol) dimana semakin rendah total energi negatif maka semakin kuat interaksi yang terjadi antara ligan dengan protein. Hasil *molecular docking* menunjukkan

nilai *binding energy* yang berbeda beda. *Binding energy* (ΔG) menunjukkan kecocokan antara ligan dengan senyawa target, dimana semakin rendah nilainya menandakan semakin stabil interaksi ligan-reseptor sehingga afinitas ligan terhadap reseptor semakin kuat [8]. Dari sepuluh senyawa turunan pirazolina, senyawa uji P10, P5, P1, P2 dan P8 lebih rendah dibandingkan dengan ligan alami dengan masing-masing nilainya -6,44; -6,73; -7,50; 7,50; dan 7,69 sedangkan senyawa uji P3, P9, P6, P7, P4 memiliki nilai *binding energy* lebih tinggi dengan nilai masing-masing -6,26; -6,20; -6,18; -5,18; -5,07. Senyawa pirazolina dengan gugus metoksi dan halogen memiliki aktivitas yang baik [9]. Senyawa P8 memiliki nilai paling rendah dibandingkan senyawa turunan pirazolina yang lainnya, senyawa ini memiliki substituent OCH_3 , dimana gugus halogen seperti OH, OCH_3 , dan NO_2 mempengaruhi sifat antibakteri [10]. Berdasarkan analisis *docking*, terdapat dua senyawa uji yang memiliki kemiripan dengan ligan alami dalam mengikat *binding site* reseptor yaitu senyawa P2 dan P3 berikatan dengan asam amino SER73 dan SER139.

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil *docking* yang telah dilakukan dari 10 senyawa uji turunan pirazolina, *binding energy* yang dihasilkan beraneka ragam. Terdapat 5 senyawa turunan pirazolina memiliki *binding energy* yang lebih rendah dari ligan alaminya -6,27 kkal/mol. Senyawa P8 memiliki nilai paling rendah dibandingkan senyawa uji lainnya yaitu dengan nilai *binding energy* -7,69 kkal/mol. Berdasarkan interaksinya senyawa P2 dan P3 memiliki interaksi yang mirip dengan ligan aslinya karena adanya ikatan Pi-Donor ikatan hidrogen dengan asam amino SER 73 dan SER 139. Hasil yang diperoleh dari Studi *docking molecular* ini menunjukkan bahwa senyawa turunan pirazolina berperan dalam mengikat target dari bakteri Eschericia coli dan dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

Daftar Pustaka

[1] Nursamsiar, A. T. Toding, and A. Awaluddin, "Studi In Silico Senyawa Turunan Analog

- Kalkon dan Pirimidin sebagai Antiinflamasi: Prediksi Absorpsi, Distribusi, dan Toksisitas," *Pharmacy*, vol. 13, no. 01, pp. 92–100, 2016.
- [2] Y. Bare, A. Maulidi, D. R. T. Sari, and S. S. N. D. Tiring, "Studi in Silico Prediksi Potensi 6-Gingerol sebagai inhibitor c-Jun N-terminal kinases (JNK)," *J. Jejaring Mat. dan Sains*, vol. 1, no. 2, pp. 59–63, 2019, doi: 10.36873/jjms.v1i2.211.
- [3] A. D. Bhojar, Va. G. N., and R. P. R., "Selection of parent trees for Rubber (*Hevea brasiliensis*) breeding based on RAPD analysis," *Nusant. Biosci.*, vol. 3, no. 3, pp. 118–123, 1970, doi: 10.13057/nusbiosci/n030303.
- [4] A. A. Siddiqui and M. A. Rahman, "Synthesis And Anticonvulsant Activity Of Some Substituted 3,5-Diphenyl-2-Pyrazoline-1-Carboxamide Derivatives," *Chem. Sci. J.*, vol. 1, no. 1, pp. 1–10, 2010, doi: 10.4172/2150-3494.1000006.
- [5] J. Sriatun Sadiyah¹, Yuharmen², "SINTESIS DAN Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Analog Pirazoli Turunan³ bromokalkon Inti Naftalen," *E-Journal Chem.*, vol. 6, pp. 183–188, 2009.
- [6] K. P. Safna Hussan, M. Shahin Thayyil, V. K. Rajan, and K. Muraleedharan, "DFT studies on global parameters, antioxidant mechanism and molecular docking of amlodipine besylate," *Comput. Biol. Chem.*, vol. 80, no. March, pp. 46–53, 2019, doi: 10.1016/j.compbiolchem.2019.03.006.
- [7] E. Sauvage *et al.*, "Crystal Structures of Complexes of Bacterial dd-Peptidases with Peptidoglycan-Mimetic Ligands: The Substrate Specificity Puzzle," *J. Mol. Biol.*, vol. 381, no. 2, pp. 383–393, 2008, doi: 10.1016/j.jmb.2008.06.012.
- [8] E. Lukitaningsih, A. Wisnusaputra, and B. S. A. Sudarmanto, "Scringing In Silico Active Compound Of Pachyrrhizus Erosus As Antitirosinase On Aspergillus Oryzae (Computattional Study With Homology Modeling And Molecular Docking)," *Maj. Obat Tradis. (Traditional Med. Journal)*, vol. 20, no. 1, pp. 7–15, 2009.
- [9] S. . Jadhav, S. R.A, G. K.W, and S. . GAIKWAD, "Synthesis and antimicrobial studies of some novel pyrazolines," *Der Pharma Chem.*, vol. 3, no. 1, pp. 167–171, 2011.
- [10] P. T. Chovatia, J. D. Akabari, P. K. Kachhadia, P. D. Zalavadia, and H. S. Joshi, "Synthesis and selective antitubercular and antimicrobial inhibitory activity of 1-acetyl-3,5-diphenyl-4,5-dihydro-(1H)-pyrazole derivatives," *J. Serbian Chem. Soc.*, vol. 71, no. 7, pp. 713–720, 2006, doi: 10.2298/JSC0607713C.