

IDENTIFIKASI SENYAWA POTENSIAL DARI *Rhoeo spathacea* SEBAGAI INHIBITOR MUTAN KatG *Mycobacterium tuberculosis* SECARA IN SILICO

Fitriyani Fitriyani^{1*}, Cesa Ilham Akbar², Zaza Eza Muslimah², Asmiyenti Djaliasrin Djajil¹

¹Departemen Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Purwokerto, Indonesia

²Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Purwokerto, Indonesia

*Email: fy.fitriyani19@gmail.com

Received: 18/07/2024, Revised: 26/12/2024, Accepted: 19/02/2025, Published: 24/02/2025

ABSTRAK

Resistensi *Mycobacterium tuberculosis* terhadap isoniazid (INH) akibat mutasi pada gen katG menjadi tantangan besar dalam penanganan *multidrug-resistant tuberculosis* (TB-MDR). Mutasi ini menyebabkan penurunan aktivitas enzim katalase-peroksidase, sehingga INH kehilangan efektivitasnya. Oleh karena itu, diperlukan pengembangan agen terapi baru yang mampu berinteraksi dengan mutan katG untuk mengatasi resistensi INH. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa bioaktif potensial dari nanas kerang (*Rhoeo spathacea*) sebagai inhibitor mutan katG menggunakan pendekatan komputasi. PASS Online digunakan untuk penyaringan senyawa, dimana senyawa dengan nilai $P_a > 0,5$ akan dilanjutkan ke studi penambatan molekul dengan AutoDock Vina-PyRx. Pemodelan struktur 3D mutan katG (T271I, G279R, E340Q, dan R373G) dilakukan menggunakan SWISS-MODEL dan hasil interaksi antara ligan dengan protein target dianalisis menggunakan Biovia Discovery Studio. Hasil dari PASS Online menunjukkan empat senyawa (*tradecantoside*, *rutin*, *peltatoside*, dan *ferulic acid*) memiliki potensi aktivitas antituberculosis dengan nilai $P_a > 0,5$. Hasil penambatan molekul menunjukkan keempat senyawa memiliki afinitas lebih baik terhadap semua mutan katG dibandingkan dengan INH. *Tradecantoside* menunjukkan afinitas tertinggi terhadap empat mutan katG kecuali R373G, menjadikannya kandidat potensial untuk pengembangan terapi TB-MDR yang lebih efektif dalam mengatasi resistensi *M. tuberculosis*.

Kata kunci : *in silico*, katG, *Rhoeo spathacea*, tuberculosis.

ABSTRACT

Resistance of *Mycobacterium tuberculosis* to isoniazid (INH) due to mutations in the katG gene is a major challenge in the treatment of multidrug-resistant tuberculosis (TB-MDR). These mutations lead to a decrease in the activity of the catalase-peroxidase enzyme, rendering INH ineffective. Therefore, the development of new therapeutic agents capable of interacting with katG mutants is necessary to overcome INH resistance. This study aims to identify potential bioactive compounds from *Rhoeo spathacea* as inhibitors of katG mutants using a computational

approach. PASS Online was used for compound screening, and compounds with a P_a value > 0.5 were selected for molecular docking studies with AutoDock Vina-PyRx. 3D structural modeling of *katG* mutants (T271I, G279R, E340Q, and R373G) was performed using SWISS-MODEL, and the interaction results between the ligands and the target protein were analyzed using Biovia Discovery Studio. The results from PASS Online indicated that four compounds (tradecantoside, rutin, peltatoside, and ferulic acid) exhibited potential antituberculosis activity with P_a values > 0.5 . The molecular docking results showed that all four compounds had better affinity for all *katG* mutants compared to INH. Tradecantoside exhibited the highest affinity for all four *katG* mutants, except for R373G, making it a potential candidate for the development of more effective TB-MDR therapies to address *M. tuberculosis* resistance.

Keywords: *in silico*, *katG*, *Rhoeo spathacea*, tuberculosis.

PENDAHULUAN

Tuberculosis (TB) masih menjadi masalah kesehatan di dunia, termasuk di Indonesia. Berdasarkan *Global TB Report 2023*, Indonesia menempati posisi kedua di dunia dengan jumlah kasus TB terbanyak setelah India, dengan estimasi 1,03 juta kasus baru pada tahun 2022 dan angka kematian yang mencapai 134.000 jiwa (World Health Organization, 2023).

Permasalahan TB di Indonesia semakin diperparah akibat adanya kekebalan ganda (*multidrug resistance*, MDR) dari bakteri *M. tuberculosis* terhadap obat antituberkulosis (OAT). Di Indonesia, prevalensi MDR-TB diperkirakan mencapai 2,4% pada kasus TB baru dan 13% pada kasus TB yang sebelumnya telah menjalani pengobatan (Depkes RI, 2023). Resistensi pada tuberculosis seringkali terjadi pada obat isoniazid (INH) dan rifampisin (RIF), yang merupakan OAT lini pertama. Resistensi terhadap isoniazid disebabkan karena adanya mutasi pada gen *katG* dari *M.*

tuberculosis yang mengkode enzim katalase-peroksidase (Kumar & Jena, 2014). Enzim ini berperan dalam mengaktifkan isoniazid menjadi bentuk aktifnya. Resistensi ini menyebabkan *tuberculosis* lebih sulit untuk diobati daripada *tuberculosis* yang belum bermutasi (Nunn et al., 2019).

Mutasi pada gen *katG* ditemukan secara luas di berbagai negara, dengan mutasi S315T dilaporkan menjadi mutasi yang paling sering dijumpai mencapai 90% pada kasus resistensi TB (Jaiswal et al., 2017) (Torres et al., 2015). Di Indonesia, mutasi S315T juga sering ditemukan, namun dengan prevalensi yang lebih rendah. Prevalensi mutasi S315T di Sumatera Selatan sekitar 48% (RA Linda, 2020), Makasar mencapai 70% (Umar et al., 2020) pada kasus TB MDR. Di Indonesia, beberapa mutasi lain seperti T271I, G279R, E340Q, dan R373G juga telah berhasil diidentifikasi (Umar et al., 2020). Berbeda dengan Taiwan, mutasi yang paling banyak

ditemukan yaitu R463L (Tseng et al., 2015), ini serupa dengan yang dilaporkan di Zimbabwe (Takawira et al., 2017).

Seiring dengan meningkatnya kasus TB-MDR di Indonesia, di mana prevalensi resistensi terhadap obat lini pertama terus meningkat, pengembangan obat baru yang efektif dan aman menjadi kebutuhan yang mendesak. Salah satu pendekatan yang menjanjikan adalah eksplorasi senyawa bioaktif dari tanaman yang telah terbukti mengandung berbagai komponen dengan aktivitas antimikroba. *Rhoeo spathacea*, yang di Indonesia disebut dengan nanas kerang atau adam hawa diketahui mengandung berbagai senyawa golongan fenolik, glikosida, saponin, tanin dan antosianin (Tan et al., 2015). Butnariu et al. (2022) telah melaporkan 25 senyawa bioaktif yang terkandung dalam tanaman ini, termasuk rutin, *peltatoside*, *tradecantoside* dan *ferulic acid*. Rutin sendiri telah diketahui memiliki aktivitas yang baik terhadap *M. tuberculosis* H37Rv (Sasikumar et al., 2018).

Ekstrak air dari *Rhoeo spathacea* menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap beberapa jenis bakteri (Tan et al., 2015) dan penghambatan terhadap *M. tuberculosis* strain H37Rv dan strain *multi-drug resistant* (MDR) dengan proporsi penghambatan masing-masing sebesar 100% (Radji et al.,

2015). Dengan demikian, *Rhoeo spathacea* menunjukkan aktivitas antimikobakteri yang baik terhadap strain MDR dan berpotensi sebagai terapi alternatif dalam mengatasi masalah TB-MDR. Namun, belum diketahui secara pasti terkait senyawa spesifik dan mekanisme kerja dari senyawa kandungan *Rhoeo spathacea*.

Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menskrining dan menentukan senyawa aktif dalam nanas kerang yang berpotensi sebagai antituberculosis dalam kasus TB-MDR, khususnya sebagai inhibitor mutan katG *Mycobacterium tuberculosis* melalui pendekatan *in silico*. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan tambahan informasi ilmiah terkait potensi senyawa aktif dalam nanas kerang untuk dikembangkan lebih lanjut dalam penemuan dan pengembangan obat antituberculosis untuk mengatasi masalah TB-MDR.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu satu set laptop dengan spesifikasi Intel(R) Core (TM) i5-9300H dan perangkat lunak seperti PyRx Python Prescription 0.8, Biovia Discovery Studio 2020, Marvin sketch version 22.22, PubChem, dan Pass Online, SWISS-MODEL, ProSA-Web.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu struktur 25 senyawa aktif dalam *Rhoeo spathacea* yang diperoleh dari literatur (Butnariu et al., 2022) dan struktur 3D dari katG (PDB ID : 2CCA) dari website <https://www.rcsb.org/> yang mengikat HEM sebagai ligan alami.

Jalannya Penelitian

1. Pengumpulan senyawa dalam *Rhoeo spathacea*. Struktur senyawa diunduh dari Pubchem dan digambarkan menggunakan Marvin Sketch bagi struktur yang tidak tersedia di Pubchem <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>.
2. Prediksi aktivitas biologis senyawa yang dilakukan melalui website PASS Online <http://www.pharmaexpert.ru/passonline/predict.php>. Analisis dilakukan untuk aktivitas antituberculosis dan antimikobakterium. Nilai Pa 0,5–0,7 termasuk kategori sedang dan > 0,7 termasuk kategori tinggi (Filimonov et al., 2014). Senyawa dengan nilai Pa>0,5 akan dilanjutkan untuk studi penambatan molekul.
3. Pemodelan dan validasi struktur mutan KatG. Struktur *template* KatG (PDB ID: 2CCA) yang telah diunduh dilakukan perubahan pada bagian sekuens asam aminonya secara manual sesuai mutasi yang terjadi. Sekuens asam amino yang telah dimutasi lalu dimodelkan menggunakan website SWISS-MODEL (<https://swissmodel.expasy.org/>). Urutan asam amino akan terjadi penyelarasan antara target dan *template* (Waterhouse et al., 2018). Struktur yang diperoleh dilakukan validasi menggunakan ProSA-Web pada [situs \(https://ProSA.services.came.sbg.ac.at/ProSA.php\)](https://ProSA.services.came.sbg.ac.at/ProSA.php) dengan melihat nilai Z-score yang diperoleh (Wiederstein & Sippl, 2007).
4. Validasi metode penambatan molekul dilakukan pada protein katG *wildtype* dengan melihat nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) hasil penambatan ulang ligan alami yang terdapat dalam struktur kristal. Ukuran *gridbox* yang digunakan 30x30x30 dengan *grid center* x=84,753; y=38,653; z= 49,178.
5. Penentuan *binding site* struktur mutan katG. *Binding site* dari mutan katG hasil pemodelan struktur diidentifikasi dengan cara membuat *superimpose* dari struktur hasil pemodelan dengan struktur *wildtype* menggunakan Discovery Studio lalu ligan alami juga

dimasukkan ke dalamnya. Posisi ligan alami pada protein *wildtype* menjadi acuan *binding site* dari protein mutan sehingga penambatan molekul dilakukan pada posisi yang sama seperti pada protein *wildtype*.

6. Penambatan molekul senyawa terbaik hasil prediksi aktivitas dan Isoniazid. Penambatan molekul dilakukan terhadap protein KatG *wildtype* dan mutan menggunakan Autodock Vina yang terintegrasi dalam PyRx. Penambatan molekul dilakukan pada gridbox yang sama seperti pada saat validasi.
7. Analisis hasil penambatan molekul dilakukan dengan melihat pose ligan dengan energi ikatan yang paling rendah, yang selanjutnya divisualisasikan menggunakan Discovery Studio untuk mengetahui jenis interaksi dan residu asam amino yang terbentuk antara ligan dengan protein katG.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sebanyak 25 senyawa yang terkandung dalam *Rhoeo spathacea* yang diperoleh dari literatur (Butnariu et al., 2022) dilakukan prediksi aktivitas biologis menggunakan PASS online. Tahapan ini bertujuan untuk menskrining secara

komputasi berbagai senyawa bioaktif untuk mendapatkan senyawa yang paling potensial sebagai antituberculosis dan antimikobakterium. Hasil dari tahapan ini adalah informasi nilai Pa (*Probability "to be active"*) dari setiap aktivitas yang dicari. Pada penelitian ini semua kandungan kimia dari *Rhoeo spathacea* dilihat prediksi aktivitas sebagai antituberculosis dan antimikobakterium.

Nilai Pa merupakan nilai yang memperkirakan peluang bahwa senyawa yang diteliti termasuk dalam subkelas senyawa aktif. Jika nilai Pa pada suatu senyawa memiliki angka $> 0,7$ maka senyawa tersebut memiliki aktivitas yang tinggi dalam skala laboratorium. Jika nilai Pa memiliki angka antara 0,5 sampai 0,7 maka senyawa tersebut memiliki aktivitas sedang dalam skala laboratorium. Jika nilai Pa pada senyawa tersebut memiliki angka $< 0,5$ maka senyawa tersebut memiliki aktivitas yang rendah pada skala laboratorium (Filimonov et al., 2014).

Berdasarkan Tabel 1 kandungan kimia *Rhoeo spathacea* termasuk dalam kategori sedang dan rendah. Empat senyawa yang diprediksi memiliki aktivitas sedang dalam skala laboratorium yaitu *tradecantoside*, *rutin*, *peltatoside*, dan *ferulic acid* dilanjutkan untuk tahapan penambatan molekul terhadap *wildtype* dan mutan katG.

Dari keempat senyawa, tradecantoside menjadi senyawa dengan nilai Pa yang paling tinggi.

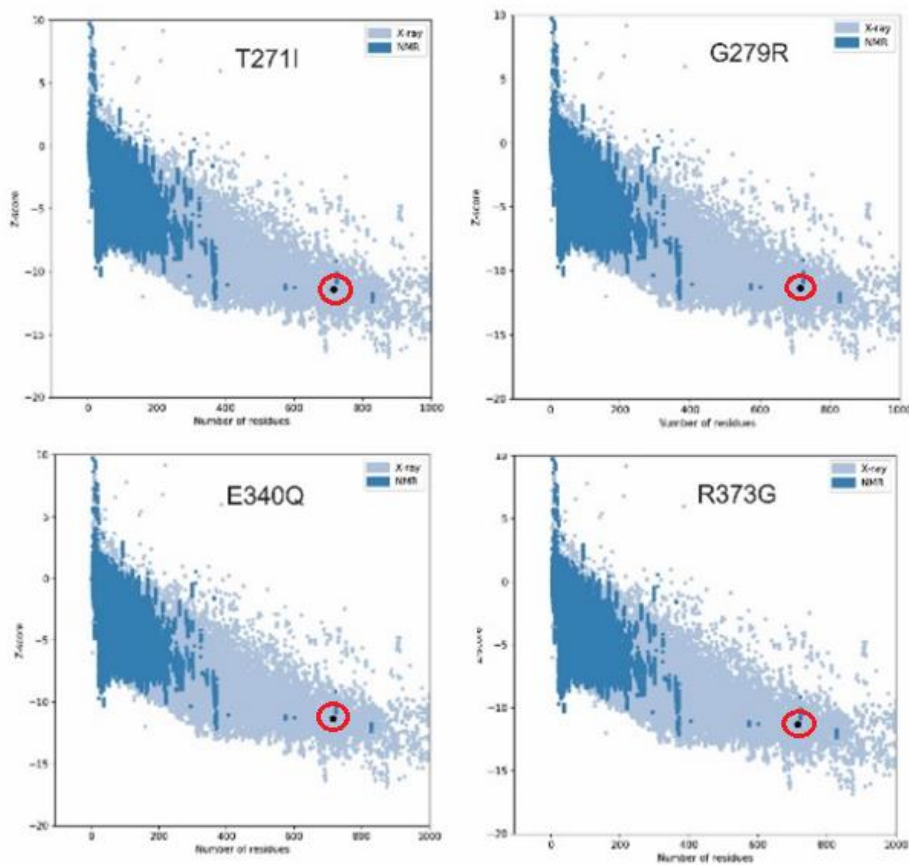
Pengetahuan struktur 3D suatu protein sangat penting karena dapat memberikan detail tentang fungsi dan mekanisme biologis yang terjadi. Sayangnya tidak semua struktur 3D dapat diperoleh secara

eksperimental, termasuk struktur protein yang telah mengalami mutasi. Dengan kemajuan teknologi, struktur 3D dari protein yang belum diketahui strukturnya dapat dimodelkan dengan bantuan metode komputasi melalui pemodelan homologi (Saudale, 2020).

Tabel 1. Hasil prediksi aktivitas menggunakan PASS online

Senyawa	Aktivitas	Pa
Tradecantoside*	antimikobakterium	0,627
Rutin*	antimikobakterium	0,605
Peltatoside*	antimikobakterium	0,507
Ferulic acid*	antituberculosis	0,501
	antimikobakterium	0,496
p-coumaric acid	antituberculosis	0,483
Protocatechuic acid	antituberculosis	0,482
Vanillic acid	antimikobakterium	0,449
Protocatechuic acid	antimikobakterium	0,438
Kaempferol	antimikobakterium	0,427
Kaempferol	antituberculosis	0,421
Glycosylated vanillic acid	antituberculosis	0,367
Rutin	antituberculosis	0,366
(±)-tradesantinn	antituberculosis	0,361
Hydroxytyrosol	antituberculosis	0,361
2-hydroxy-3',4'-dihydroxyacetophenone	antituberculosis	0,350
Glycosylated vanillic acid	antimikobakterium	0,330
(±)-tradesantinn	antimikobakterium	0,328
2-hydroxy-3',4'-dihydroxyacetophenone	antimikobakterium	0,323
Hydroxytyrosol	antimikobakterium	0,302
Peltatoside	antituberculosis	0,295
(2R,3R)-2,3-dihydroxy-2-methylbutyrolactone	antimikobakterium	0,283
Epigallocatechin	antimikobakterium	0,257
Epigallocatechin	antituberculosis	0,246
Chlorogenic acid	antituberculosis	0,243
Bracteanolide A	antimikobakterium	0,242
Rhoeonin	antimikobakterium	0,231
Chlorogenic acid	antimikobakterium	0,229
(2R,3R)-2,3-dihydroxy-2-methylbutyrolactone	antituberculosis	0,216
(S)-2-hydroxy-3-(4'-hydroxyphenyl) propanoic acid	antituberculosis	0,213
(R)-2-hydroxy-3-(4'-hydroxyphenyl) propanoic acid	antituberculosis	0,213
Latifolicinin B	antituberculosis	0,198
4-(3',4'-dihydroxyphenyl)furan-2(5H)-one	antituberculosis	0,196

Keterangan : * menunjukkan senyawa dengan kategori sedang



Gambar 1. Hasil validasi protein mutan katG (Lingkaran merah menunjukkan *Z-score*)

Penelitian ini melakukan pemodelan struktur 3D protein mutan katG yang dilaporkan ditemukan di Indonesia, seperti T271I, G279R, E340Q, dan R373G. Sedangkan struktur mutan katG S315T telah tersedia pada database PDB sehingga tidak perlu dimodelkan. Mutasi S315T merupakan mutasi yang sering dijumpai di berbagai negara seperti India Selatan (Unissa et al., 2015), Taiwan (Tseng et al., 2015), dan termasuk Indonesia (Umar et al., 2020).

Bentuk mutasi yang berbeda dijumpai di berbagai negara karena berkaitan dengan

keragaman genetik. Penelitian ini berfokus pada mutasi yang terjadi di Indonesia, karena mengarah pada pengembangan obat dengan pendekatan farmakogenetik untuk mendapatkan terapi yang lebih efektif dan relevan pada populasi Indonesia.

Struktur katG yang dijadikan template dalam pemodelan struktur mutan adalah struktur dengan PDB ID:2CCA yang merupakan struktur katG *wildtype* dari *M. Tuberculosis*. Hasil pemodelan struktur mutan katG diperoleh dalam format .pdb

yang selanjutnya diunggah ke PROSA untuk validasi model yang diperoleh.

Validasi model protein bertujuan untuk mengetahui kualitas dari struktur 3D protein yang diperoleh dari hasil pemodelan. Nilai *Z-score* dalam ProSA menunjukkan kualitas model struktur protein yang dibandingkan dengan struktur referensi yang tersedia di *Protein Data Bank*. Nilai *Z-score* yang berada dalam rentang struktur referensi menandakan kualitas model yang baik dan dapat digunakan untuk analisis lebih lanjut (Wiederstein & Sippl, 2007).

Tabel 2. Hasil validasi protein dengan ProSA web

Mutan katG	<i>Z-score</i>
T271I	-11,41
G279R	-11,34
E340Q	-11,33
R373G	-11,29

Nilai *Z-score* dalam ProSA ditunjukkan dengan titik hitam yang berada di daerah yang berwarna biru muda atau biru tua (Gambar 1). Semakin negatif nilai *Z-score*, semakin stabil model protein. Hasil validasi mutan katG (Tabel 2) diperoleh nilai *Z-score* berkisar antara -11,41 sampai -11,29 dan berada di daerah yang berwarna biru muda. Hal ini berarti bahwa nilai tersebut berada pada rentang *Z-score* untuk protein yang telah divalidasi secara eksperimental melalui kristalografi sinar-X. Dengan demikian, model struktur 3D

protein mutan katG yang diperoleh memiliki kualitas struktur yang baik dan dapat digunakan dalam analisis selanjutnya yaitu penambatan molekul.

Validasi penambatan molekul dilakukan untuk memastikan bahwa metode dapat digunakan dalam penambatan molekul. Hasil penambatan ulang ligan alami terhadap *wildtype* katG diperoleh nilai RMSD 1,17 Å, artinya posisi ligan hasil penambatan molekul tidak jauh berbeda dengan hasil kristalografi (Fitriyani et al., 2020). Posisi ligan alami pada protein *wildtype* menjadi acuan dalam menentukan *binding site* dari struktur protein mutan yang diperoleh dari SWISS-MODEL. Dengan demikian, penambatan molekul dilakukan pada posisi yang sama baik terhadap protein *wildtype* maupun mutan katG terhadap ligan alaminya.

Penambatan molekul dilakukan untuk empat senyawa terbaik hasil prediksi aktivitas, yaitu senyawa yang memiliki nilai $P_a > 0,5$; karena kemungkinan untuk menjadi senyawa yang aktif ada dalam skala sedang (Filimonov et al., 2014). Hal ini menjadi skrining awal, sehingga tidak semua senyawa dilakukan penambatan molekul. Hasil penambatan molekul dapat dilihat pada Tabel 3. Parameter yang diperoleh yaitu *binding affinity*, yang menunjukkan kemampuan suatu ligan untuk

berikatan dengan protein target. Jika nilai *binding affinity* yang dihasilkan semakin kecil maka afinitas ligan terhadap protein targetnya semakin baik. Sebaliknya jika nilai *binding affinity* suatu senyawa tinggi, maka kemampuan ikatan ligan terhadap protein targetnya lemah (Grottesi et al., 2020).

Afinitas isoniazid terhadap *wildtype* katG relatif rendah hanya sekitar -5,8 kkal/mol. Ini terjadi karena isoniazid perlu diubah menjadi bentuk aktifnya sehingga menghasilkan efek antituberculosis dan ketika ikatan antara isoniazid dan protein terlalu kuat, maka isoniazid tidak dapat berubah menjadi bentuk aktifnya sehingga

tidak bisa menimbulkan efek antituberculosis (Purohit et al., 2011).

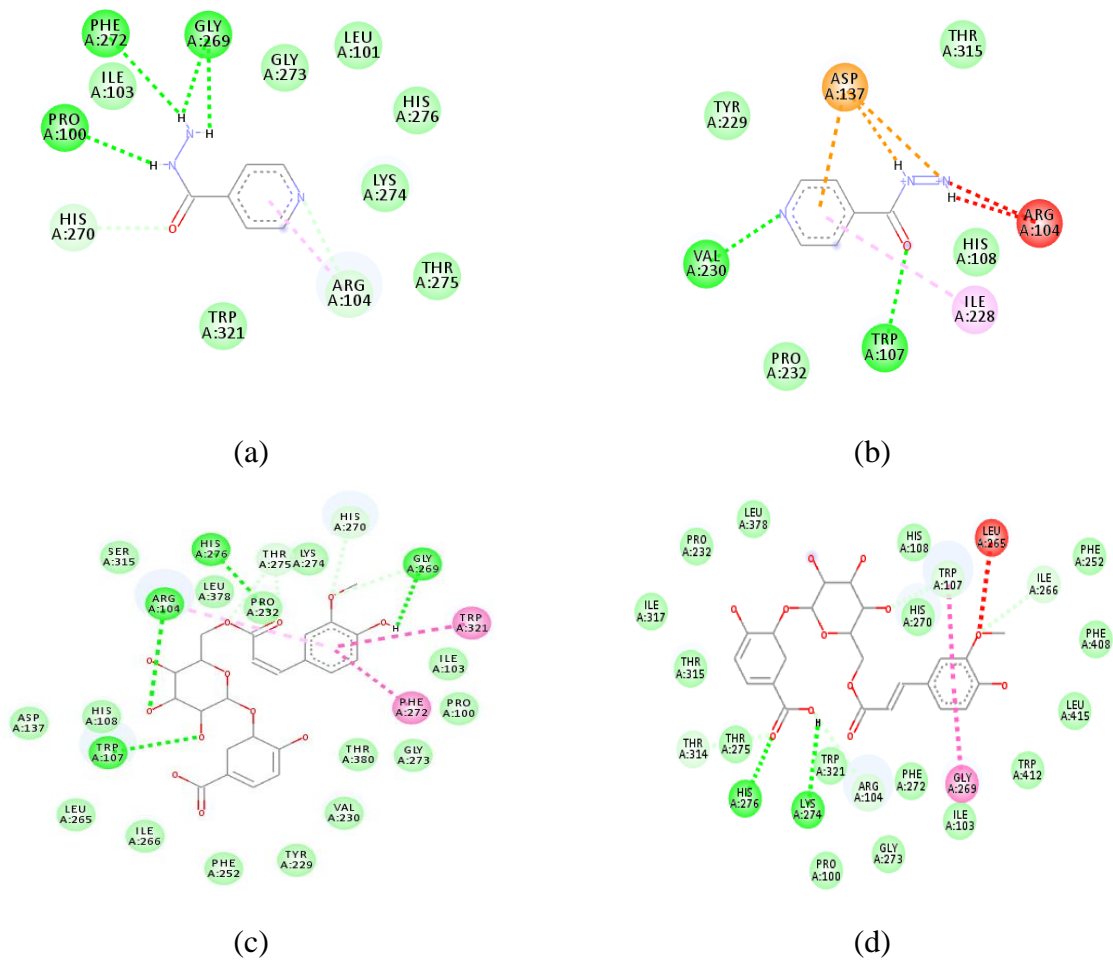
Pada penelitian ini menunjukkan bahwa terjadi peningkatan nilai *binding affinity* dari isoniazid terhadap mutan katG dibandingkan dengan *wildtype* katG. Peningkatan ini menunjukkan bahwa afinitas isoniazid terhadap mutan katG menjadi lebih rendah dibandingkan dengan afinitasnya terhadap *wildtype*. Hasil ini tidak jauh berbeda dengan penelitian Srivastava et al. (2017), dimana pada penelitian tersebut dilakukan penambatan molekul isoniazid terhadap mutan katG S315T dan *wildtype*, hasilnya terjadi kenaikan nilai *binding affinity* dari -5,69 kkal/mol pada *wildtype* menjadi -4,72 kkal/mol pada mutan katG.

Tabel 3. Hasil penambatan molekul

Ligan	<i>Wildtype</i> (kkal/mol)	Mutan KatG (kkal/mol)				
		T271I	G279R	S315T	E340Q	R373G
Ferulic acid	-7,2	-7,0	-7,0	-7,7	-7,0	-6,2
Peltatoside	-5,7	-10,2	-10,2	-9,9	-10,1	-9,1
Rutin	-6,4	-9,2	-9,3	-10,5	-9,4	-8,4
Tradecantoside	-8,0	-10,8	-10,8	-11,5	-10,8	-8,5
Isoniazid	-5,8	-5,6	-4,4	-4,3	-4,2	-4,8

Gambar 2 memperlihatkan interaksi yang terjadi antara isoniazid terhadap katG *wildtype* dan mutan. Jenis interaksi yang terjadi antara isoniazid dengan katG *wildtype* melibatkan interaksi hidrogen dan hidrofobik, sedangkan pada mutan S315T meliputi ikatan hidrogen, hidrofobik, dan elektrostatis. Jumlah interaksi yang terjadipun lebih sedikit pada mutan sehingga

ini berkorelasi terhadap nilai *binding affinity* isoniazid terhadap mutan menjadi lebih besar (dari -5,8 kkal/mol menjadi -4,3 kkal/mol). Hal ini menunjukkan bahwa mutasi yang terjadi mengakibatkan perubahan konformasi pada *binding site* protein sehingga interaksi antara ligan dengan protein berubah yang menyebabkan perubahan pada ikatan antar molekulnya.



Gambar 2. Visualisasi hasil penambatan molekul (a) isoniazid terhadap katG *wildtype* (b) isoniazid terhadap mutan S315T (c) *tradecantoside* terhadap katG *wildtype* (d) *tradecantoside* terhadap mutan S315T

Jika dilihat dari hasil penambatan molekul ligan ke katG *wildtype* pada Tabel 3, keempat senyawa memiliki afinitas yang lebih baik dibandingkan dengan isoniazid. Demikian juga pada mutan katG, keempat senyawa dalam *Rhoeo spathacea* menunjukkan nilai *binding affinity* yang lebih rendah dibandingkan dengan isoniazid. Secara umum, nilai *binding affinity* dari empat senyawa *Rhoeo spathacea* terhadap mutan katG semakin rendah kecuali *ferulic*

acid. Hal ini menunjukkan bahwa afinitas dari senyawa dalam *Rhoeo spathacea* terhadap protein mutan katG lebih besar dibandingkan dengan isoniazid.

Hasil penambatan molekul sejalan dengan beberapa penelitian yang melaporkan bahwa senyawa ferulic acid (Park et al., 2019) dan peltatoside (Kim et al., 2022) menunjukkan aktifitas sebagai antibakteri. Selain itu, senyawa rutin juga menunjukkan aktifitas sebagai

antituberculosis karena mampu menghambat pertumbuhan *M. tuberculosis* (Sasikumar et al., 2018). Sedangkan penelitian yang secara spesifik mengkaji aktivitas *tradecantoside* sebagai antimikroba atau antimikobakterial masih terbatas hingga saat ini.

Tradecantoside menjadi senyawa dengan afinitas paling baik terhadap empat mutan katG kecuali mutan R373G. Hal ini sesuai dengan hasil prediksi menggunakan PASS Online, dimana *tradecantoside* menjadi senyawa dengan nilai Pa paling tinggi dibandingkan senyawa lain dalam *Rhoeo spathacea*.

Interaksi antara *tradecantoside* dengan salah satu katG yaitu mutan S315T dapat dilihat pada Gambar 3, di mana melibatkan ikatan hidrogen dan hidrofobik. Ikatan hidrogen terbentuk antara *tradecantiside* dengan residu asam amino HIS276, LYS274, ARG104, TRP107, ILE266, THR314. Sedangkan interaksi hidrofobiknya melibatkan TRP107 dan GLY269. Ikatan hidrogen memiliki peran penting dalam stabilitas kompleks protein-ligan, jadi semakin banyak ikatan yang terbentuk maka afinitas ligan terhadap protein semakin meningkat (Chen et al., 2016).

Ikatan hidrogen pada *tradecantoside* lebih banyak dibandingkan dengan isoniazid, baik pada mutan dan *wildtype*,

inilah yang memberikan dampak pada peningkatan afinitasnya. Jumlah ikatan hidrogen yang terbentuk lebih banyak pada *tradecantoside* karena struktur senyawa ini memiliki banyak gugus hidroksil dan kemungkinan konfigurasi struktur *tradecantoside* lebih sesuai dengan *binding site* dari mutan katG. Dengan demikian, *tradecantoside* memiliki interaksi yang lebih baik terhadap mutan katG.

KESIMPULAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa *tradecantoside* memiliki afinitas tertinggi terhadap mutan katG, menjadikannya kandidat potensial untuk terapi TB-MDR. Pendekatan *in silico* yang digunakan memberikan wawasan awal dalam pengembangan obat baru berbasis senyawa alami untuk mengatasi resistensi terhadap isoniazid. Penelitian lanjutan diperlukan untuk mengevaluasi aktivitas biologisnya secara eksperimental melalui uji *in vitro* dan *in vivo*.

DAFTAR PUSTAKA

Butnariu, M., Quispe, C., Herrera-Bravo, J., Fernández-Ochoa, Á., Emamzadeh-Yazdi, S., Adetunji, C. O., Memudu, A. E., Otlewska, A., Bogdan, P., Antolak, H., Tamimi, K., Baghalpour, N., Bakhtiyari, J. M., Sen, S.,

- Acharya, K., Segura-Carretero, A., de la Luz Cádiz-Gurrea, M., Lim, S. H. E., Pentea, M., ... Sharifi-Rad, J. (2022). A Review on Tradescantia: Phytochemical Constituents, Biological Activities and Health-Promoting Effects. *Frontiers in Bioscience - Landmark*, 27(6). <https://doi.org/10.31083/j.fbl2706197>
- Chen, D., Oezguen, N., Urvil, P., Ferguson, C., Dann, S. M., & Savidge, T. C. (2016). Regulation of protein-ligand binding affinity by hydrogen bond pairing. *Science Advances*, 2(3). <https://doi.org/10.1126/sciadv.1501240>
- Depkes RI. (2023). Laporan Program Penanggulangan Tuberkulosis Tahun 2022. *Kemenkes RI*, 1–147. https://tbindonesia.or.id/pustaka_tbc/laporan-tahunan-program-tbc-2021/
- Filimonov, D. A., Lagunin, A. A., Glorizova, T. A., Rudik, A. V., Druzhilovskii, D. S., Pogodin, P. V., & Poroikov, V. V. (2014). Prediction of the biological activity spectra of organic compounds using the pass online web resource. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, 50(3), 444–457. <https://doi.org/10.1007/s10593-014-1496-1>
- Fitriyani, Fakhri, T. M., & Tjahjono, D. H. (2020). In silico studies of green tea catechins against her-2 receptor in breast cancer. *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy*, 14(5), 194–199. <https://doi.org/10.5530/ctbp.2020.4s.23>
- Grottesi, A., Bešker, N., Emerson, A., Manelfi, C., Beccari, A. R., Frigerio, F., Lindahl, E., Cerchia, C., & Talarico, C. (2020). Computational studies of SARS-CoV-2 3clpro: Insights from md simulations. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(15), 1–18. <https://doi.org/10.3390/ijms21155346>
- Jaiswal, I., Jain, A., Singh, P., Verma, S. K., Prakash, S., Dixit, P., Suryakant, & Singh, M. (2017). Mutations in katG and inhA genes of isoniazid-resistant and -sensitive clinical isolates of Mycobacterium tuberculosis from cases of pulmonary tuberculosis and their association with minimum inhibitory concentration of isoniazid. *Clinical Epidemiology and Global Health*, 5(3), 143–147. <https://doi.org/10.1016/j.cegh.2016.08.008>
- Kim, Y., Lim, D. J., Song, J. S., Kim, J. A., Lee, B. H., & Son, Y. K. (2022). Identification and Comparison of

- Bioactive Components of Two Dryopteris sp. Extract Using LC-QTOF-MS. *Plants*, 11(23), 1–11. <https://doi.org/10.3390/plants11233233>
- Kumar, S., & Jena, L. (2014). *Understanding Rifampicin Resistance in Tuberculosis through a Computational Approach*. 12(4), 276–282.
- Nunn, A. J., Phillips, P. P. J., Meredith, S. K., Chiang, C.-Y., Conradie, F., Dalai, D., van Deun, A., Dat, P.-T., Lan, N., Master, I., Mebrahtu, T., Meressa, D., Moodliar, R., Ngubane, N., Sanders, K., Squire, S. B., Torrea, G., Tsogt, B., & Rusen, I. D. (2019). A Trial of a Shorter Regimen for Rifampin-Resistant Tuberculosis. *New England Journal of Medicine*, 380(13), 1201–1213. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1811867>
- Park, C. H., Yeo, H. J., Baskar, T. B., Park, Y. E., Park, J. S., Lee, S. Y., & Park, S. U. (2019). In vitro antioxidant and antimicrobial properties of flower, leaf, and stem extracts of Korean mint. *Antioxidants*, 8(3), 1–12. <https://doi.org/10.3390/antiox8030075>
- Purohit, R., Rajendran, V., & Sethumadhavan, R. (2011). Relationship between mutation of serine residue at 315th position in M. tuberculosis catalase-peroxidase enzyme and Isoniazid susceptibility: An in silico analysis. *Journal of Molecular Modeling*, 17(4), 869–877. <https://doi.org/10.1007/s00894-010-0785-6>
- RA Linda, Z. A. (2020). FREKUENSI MUTASI GEN katG S315T M. Tuberculosis PADA PASIEN MDR TB DI SUMATERA SELATAN RA Linda Andriani, Zen Ahmad. 7(2).
- Radji, M., Kurniati, M., & Kiranasari, A. (2015). Comparative antimycobacterial activity of some Indonesian medicinal plants against multi-drug resistant Mycobacterium tuberculosis. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5(1), 019–022. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2015.50104>
- Sasikumar, K., Ghosh, A. R., & Dusthacker, A. (2018). Antimycobacterial potentials of quercetin and rutin against Mycobacterium tuberculosis H37Rv. 3 *Biotech*, 8(10), 1–6. <https://doi.org/10.1007/s13205-018-1450-5>
- Saudale, F. Z. (2020). Pemodelan Homologi

- Komparatif Struktur 3d Protein dalam Desain dan Pengembangan Obat. *Al-Kimia*, 8(1), 93–103. <https://doi.org/10.24252/al-kimia.v8i1.9463>
- Srivastava, G., Tripathi, S., Kumar, A., & Sharma, A. (2017). Molecular investigation of active binding site of isoniazid (INH) and insight into resistance mechanism of S315T-MtKatG in *Mycobacterium tuberculosis*. *Tuberculosis*, 105, 18–27. <https://doi.org/10.1016/j.tube.2017.04.002>
- Takawira, F. T., Mandishora, R. S. D., Dhlamini, Z., Munemo, E., & Stray-Pedersen, B. (2017). Mutations in *rpoB* and *katG* genes of multidrug resistant *Mycobacterium tuberculosis* undetectable using genotyping diagnostic methods. *Pan African Medical Journal*, 27. <https://doi.org/10.11604/pamj.2017.27.145.10883>
- Tan, J. B. L., Lim, Y. Y., & Lee, S. M. (2015). Antioxidant and antibacterial activity of *Rhoeo spathacea* (Swartz) Stearn leaves. *Journal of Food Science and Technology*, 52(4), 2394–2400. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-1236-z>
- Torres, J. N., Paul, L. V., Rodwell, T. C., Victor, T. C., Amallraja, A. M., Elghraoui, A., Goodmanson, A. P., Ramirez-Busby, S. M., Chawla, A., Zadorozhny, V., Streicher, E. M., Sirgel, F. A., Catanzaro, D., Rodrigues, C., Gler, M. T., Crudu, V., Catanzaro, A., & Valafar, F. (2015). Novel *katG* mutations causing isoniazid resistance in clinical *M. Tuberculosis* isolates. *Emerging Microbes and Infections*, 4(7), e42. <https://doi.org/10.1038/emi.2015.42>
- Tseng, S. T., Tai, C. H., Li, C. R., Lin, C. F., & Shi, Z. Y. (2015). The mutations of *katG* and *inhA* genes of isoniazid-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates in Taiwan. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 48(3), 249–255. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2013.08.018>
- Umar, F. F., Husain, D. R., Hatta, M. M., Natzir, R. R., Sjahril, R. S., Dwiyantri, R. R., Junita, A. R., & Primaguna, M. R. (2020). Molecular characterisation of mutations associated with resistance to first- and second-line drugs among Indonesian patients with tuberculosis. *Journal of Taibah University Medical Sciences*, 15(1), 54–58.

<https://doi.org/10.1016/j.jtumed.2019.12.003>

- Unissa, A. N., Selvakumar, N., Narayanan, S., Suganthi, C., & Hanna, L. E. (2015). Investigation of Ser315 substitutions within katG gene in isoniazid-resistant clinical isolates of mycobacterium tuberculosis from South India. *BioMed Research International*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/257983>
- Waterhouse, A., Bertoni, M., Bienert, S., Studer, G., Tauriello, G., Gumienny, R., Heer, F. T., Beer, T. A. P. De, Rempfer, C., Bordoli, L., Lepore, R., & Schwede, T. (2018). SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes. *Nucleic Acids Research*, 46, 296–303. <https://doi.org/10.1093/nar/gky427>
- Wiederstein, M., & Sippl, M. J. (2007). ProSA-web : interactive web service for the recognition of errors in three-dimensional structures of proteins. *Nucleic Acids Research*, 35, 407–410. <https://doi.org/10.1093/nar/gkm290>
- World Health Organization. (2023). Report 2023. In *January* (Issue March).