

SIMULASI PENAMBATAN MOLEKULER SENYAWA KOMPLEKS BESI TERHADAP PROTEIN HEMOFOR SEBAGAI KANDIDAT FOTOSENSITIZER PADA TERAPI FOTODINAMIKA

TAUFIK MUHAMMAD FAKIH^{1*}, ANGGI ARUMSARI¹, MENTARI LUTHFIKA DEWI¹, NURFADILLAH HAZAR¹, DAN TANISA MAGHFIRA SYARZA¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Jalan Ranggagading No. 8, Tamansari, Bandung Wetan, Bandung, 40116

*alamat email korespondensi: taufikmuhammadf@gmail.com

Informasi Artikel	Abstrak/Abstract
<p>Riwayat Naskah : Diterima pada 12 Desember 2020 Diterima setelah direvisi pada 26 Juni 2021 Diterbitkan pada 30 Juni 2021</p>	<p>Resistensi antibiotika muncul sebagai polemik yang dapat mempengaruhi kesehatan manusia. Kemajuan teknologi membuka peluang dalam penemuan molekul senyawa baru yang mampu mencegah perkembangan mikroba patogen, seperti <i>Pseudomonas aeruginosa</i> yang resisten terhadap beberapa jenis antibiotika. Terapi fotodinamika dengan memanfaatkan penggunaan fotosensitizer yang berasal dari senyawa yang membentuk kompleks dengan besi merupakan salah satu pendekatan alternatif untuk mengatasi penyakit infeksi dengan risiko resistensi mikroba yang lebih rendah. Penelitian yang dilakukan secara <i>in silico</i> ini bertujuan untuk mengamati, mengeksplorasi, dan mengevaluasi mekanisme aksi berbasis struktural dari molekul senyawa yang membentuk kompleks dengan besi, yaitu besi-ftalosianina dan besi-salofen terhadap protein hemofor HasAp serta pengaruh molekularnya terhadap bagian situs aktif pengikatan dari protein hemofor HasR. Identifikasi interaksi molekuler dan afinitas antara molekul senyawa besi-ftalosianina dan besi-salofen terhadap protein hemofor HasAp dilakukan dengan simulasi ligan-protein <i>docking</i> menggunakan <i>software</i> MGLTools 1.5.6 yang dilengkapi dengan AutoDock 4.2. Di samping itu, dilakukan juga simulasi protein-protein <i>docking</i> terhadap sistem kompleks ligan-protein untuk memastikan pengaruh molekularnya terhadap bagian situs aktif pengikatan dari protein hemofor HasR dengan mempergunakan <i>software</i> PatchDock. Berdasarkan simulasi ligan-protein <i>docking</i> diperoleh hasil bahwa senyawa besi-ftalosianina memiliki afinitas paling baik terhadap kedua protein hemofor HasAp, dengan nilai energi bebas pengikatan masing-masing sebesar $-68,45$ kJ/mol dan $-65,23$ kJ/mol. Menariknya, hasil simulasi protein-protein <i>docking</i> antara kompleks molekul senyawa besi-ftalosianina dan protein hemofor HasAp-besi-ftalosianina terhadap protein hemofor HasR memiliki nilai energi kontak atom yang positif sebesar $556,56$ kJ/mol. Dari penelitian ini dapat diprediksikan bahwa perbedaan struktur molekul senyawa yang membentuk kompleks dengan besi mampu mempengaruhi mekanisme aksi berbasis structural terhadap protein hemofor target.</p>
<p>Kata Kunci: Fotosensitizer; Terapi fotodinamika; <i>Pseudomonas aeruginosa</i>; Protein hemofor; Besi-ftalosianina; Besi-salofen; Studi <i>in silico</i>.</p>	<p><i>Antibiotic resistance appears as a polemic that can affect human health. Technological advances open up opportunities in the discovery of new molecular compounds that can prevent the development of pathogenic microbes, such as Pseudomonas aeruginosa which are resistant to several types of antibiotics. Photodynamic therapy by utilizing the use of photosensitizers derived from compounds that form complexes with iron is an alternative approach to dealing with infectious diseases with a lower risk of microbial resistance. This research conducted in silico study aims to observe, explore, and evaluate the structural-based mechanisms of action of the compound molecules that form complexes with iron, namely iron-phthalocyanine and iron-salophen on HasAp hemophore protein macromolecules and their molecular effects on the active binding site of the hemophore protein macromolecule HasR. Identification of molecular interactions and affinity between iron-phthalocyanine and iron-salophen compounds against HasAp hemophore protein macromolecules was carried out by simulating ligand-protein docking using MGLTools 1.5.6 with AutoDock 4.2 software. In addition, protein-protein docking were simulated against the ligand-protein complex system to ensure their molecular effect on the binding site of the HasR hemophore protein macromolecules using PatchDock software. Based on the docking ligand-protein simulation, the results showed that the iron-phthalocyanine compound had the best affinity for the two HasAp hemophore protein macromolecules, with binding free energy values of -68.45 kJ/mol and -65.23 kJ/mol, respectively. Interestingly, the simulation results of protein-protein docking between the molecular complexes of the iron-phthalocyanine compound and the HasAp-iron-phthalocyanine hemophore protein macromolecules against the HasR hemophore protein macromolecules had a positive atomic contact energy value of</i></p>
<p>Keywords: Photosensitizer; Photodynamic therapy; <i>Pseudomonas aeruginosa</i>; Hemophore protein; Iron-phthalocyanine; Iron-salophen; In silico study.</p>	

556.56 kJ/mol. From this research, it can be predicted that differences in the molecular structure of the compounds that form complexes with iron can affect the structural-based mechanism of action on the macromolecules of the target hemophore protein.

PENDAHULUAN

Resistensi terhadap antibiotika hingga saat ini diperkirakan telah mencapai sekitar 45% dari jumlah total kematian yang disebabkan oleh mikroba patogen. Oleh karena itu resistensi antibiotika merupakan salah satu masalah penting yang menjadi ancaman kesehatan yang serius [1]. Salah satu metode alternatif yang digunakan untuk melawan mikroba patogen adalah kombinasi fotosensitizer dan cahaya pada terapi fotodinamika. Pemancaran cahaya pada panjang gelombang tertentu terhadap molekul fotosensitizer akan menghasilkan partikel dengan reaktivitas tinggi yang dapat menghancurkan sel mikroba patogen [2]. Terdapat beberapa molekul fotosensitizer yang saat ini banyak diteliti dan dikembangkan untuk menghambat pertumbuhan mikroba patogen yaitu ftalosianina dan salofen [3].

Salah satu protein hemofor yang dapat dijadikan sebagai target dalam desain dan pengembangan molekul fotosensitizer adalah protein hemofor HasA. Protein hemofor HasA ini dihasilkan melalui proses sekresi oleh beberapa bakteri patogen yang dapat menyebabkan penyakit seperti *Pseudomonas aeruginosa* [4]. Pada kondisi rendah, protein hemofor HasA mampu diproduksi oleh bakteri patogen untuk menangkap Protoporfirin-IX (heme) dari sel inang yang berfungsi sebagai sumber zat besi [5]. Heme yang ditangkap oleh protein hemofor HasA selanjutnya akan berpindah ke protein hemofor membran terluar yang spesifik yaitu protein hemofor HasR [6]. Selain itu, protein hemofor HasA berfungsi untuk mentransfer heme dari protein hemofor HasA menuju protein hemofor HasR sehingga mampu mencapai target hemoprotein seperti hemoglobin [7].

Penelitian yang telah dilakukan oleh Arnoux *et al.* pertama kali menemukan adanya struktur kristal berbentuk protein hemofor yang terikat dengan heme dalam bentuk holoprotein dari bakteri patogen *Serratia marcescens* (HasAsm). Secara keseluruhan, struktur HasAsm yang terikat pada molekul heme tersebut memiliki kemiripan dengan “seekor ikan yang menggigit molekul heme” [8]. Selanjutnya, penelitian lain yang dilakukan oleh Alontaga *et al.* melaporkan bahwa telah tersedia juga struktur kristal berbentuk protein hemofor dari bakteri patogen *Pseudomonas aeruginosa* (HasAp). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh kedua peneliti tersebut terdapat

kemiripan yaitu kedua struktur protein hemofor bakteri patogen ini identik secara signifikan [9].

Dalam upaya desain dan pengembangan molekul fotosensitizer maka diperlukan studi awal untuk membandingkan interaksi molekuler dan afinitas antara senyawa ftalosianina dengan salofen terhadap protein hemofor HasAp pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* serta pengaruhnya pada bagian situs aktif pengikatan dari protein hemofor HasR. Melalui penelitian ini akan dilakukan pengamatan, eksplorasi, dan evaluasi mekanisme aksi struktur molekul besi-ftalosianina dan besi-salofen terhadap protein hemofor HasAp serta protein hemofor HasR mempergunakan studi *in silico*. Dari penelitian ini, diharapkan diperoleh struktur molekul acuan dalam desain kandidat fotosensitizer pada terapi fotodinamika.

EKSPERIMEN

Material

Dua jenis struktur kristal protein hemofor HasAp yang membentuk kompleks dengan besi-ftalosianina dan besi-salofen merupakan makromolekul yang digunakan dalam penelitian ini. Kemudian dalam penelitian ini juga digunakan struktur kristal protein hemofor HasR. Ketiga protein hemofor tersebut didapatkan dari website Protein Data Bank (PDB) (<http://www.rcsb.org/pdb>) dengan kode PDB masing-masing adalah 3CSL (protein hemofor HasR) [7], 3W8O (protein hemofor HasAp-besi-ftalosianina) [10], dan 3W8M (protein hemofor HasAp-besi-salofen) [10]. Molekul senyawa yang membentuk kompleks dengan besi yang digunakan sebagai senyawa uji dalam penelitian ini adalah besi-ftalosianina dan besi-salofen yang telah terbukti memiliki aktivitas terhadap protein hemofor HasAp pada penelitian sebelumnya.

Instrumentasi

Terdapat beberapa *software* yang digunakan dalam penelitian ini antara lain Sistem Operasi Linux Ubuntu 18.10 dan Windows 10, MGLTools 1.5.6 yang dilengkapi dengan AutoDock 4.2, BIOVIA Discovery Studio 2020, PatchDock, VMD 1.9.3, dan Chimera 1.14. Kemudian dalam penelitian ini fasilitas *hardware* yang digunakan meliputi *personal computer* (PC) dengan spesifikasi *processor* Intel (R) Core i3-6100 CPU

@ 2.30GHz (4 CPUs), *harddisk* 320GB, *memory* 4096 MB RAM, dan VGA Intel HD Graphics 520.

Prosedur

Persiapan protein hemofor HasAp

Terlebih dahulu dilakukan persiapan terhadap kedua struktur kristal protein hemofor HasAp yang sebelumnya telah didapatkan dari website Protein Data Bank (PDB) (<http://www.rcsb.org/pdb>). Tahapan persiapan protein hemofor ini dilakukan dengan mempergunakan *software* BIOVIA Discovery Studio 2020 dengan cara menghapus molekul air dan ligan asli. Selanjutnya dilakukan penambahan atom hidrogen yang bersifat polar dan perhitungan muatan parsial Kollman *charge* dengan mempergunakan *software* MGLTools 1.5.6 yang dilengkapi dengan AutoDock 4.2 [11,12].

Persiapan molekul senyawa kompleks besi

Struktur molekul senyawa yang membentuk kompleks dengan besi yang digunakan sebagai senyawa uji dalam penelitian ini adalah besi-ftalosanina dan besi-salofen yang sebelumnya telah dilakukan proses pemisahan dari masing-masing protein hemofor HasAp. Tahapan persiapan molekul senyawa yang membentuk kompleks dengan besi ini dilakukan dengan mempergunakan *software* MGLTools 1.5.6 yang dilengkapi dengan AutoDock 4.2 dengan cara menambahkan atom hidrogen yang bersifat polar dan menghitung muatan parsial Gasteiger *charge* [13,14].

Simulasi ligan-protein docking

Simulasi ligan-protein *docking* dilakukan dengan mempergunakan *software* MGLTools 1.5.6 yang dilengkapi dengan AutoDock 4.2. Jarak bagian permukaan antara protein hemofor HasAp dengan molekul senyawa yang membentuk kompleks dengan besi dibatasi berdasarkan radius maksimum 0,375 Å. Keseluruhan simulasi ligan-protein *docking* dilakukan dengan mempergunakan ukuran *grid box* 64 x 60 x 60. Algoritma perhitungan yang digunakan dalam simulasi ini adalah *Lamarckian Genetic Algorithm* dengan jumlah pencarian sebanyak 100 konformasi [15,16]. Simulasi ligan-protein *docking* ini dilakukan dengan tujuan untuk mengamati, mengeksplorasi, dan mengevaluasi serta membandingkan interaksi molekuler dan afinitas yang terbentuk antara protein hemofor HasAp terhadap molekul senyawa besi-ftalosanina dan besi-salofen.

Persiapan protein hemofor HasR

Struktur kristal protein hemofor HasR yang telah didapatkan dari website Protein Data Bank (PDB) (<http://www.rcsb.org/pdb>) selanjutnya dilakukan persiapan terlebih dahulu. Tahapan persiapan protein hemofor HasR ini dilakukan dengan cara menghapus molekul air dan ligan asli dengan mempergunakan *software* BIOVIA Discovery Studio 2020. Kemudian dilanjutkan dengan penambahan atom hidrogen yang bersifat polar dan perhitungan muatan parsial Kollman *charge* dengan mempergunakan *software* MGLTools 1.5.6 yang dilengkapi dengan AutoDock 4.2 [11,12].

Simulasi protein-protein docking

Simulasi protein-protein *docking* dilakukan dengan tujuan untuk mengamati, mengeksplorasi, dan mengevaluasi serta membandingkan interaksi molekuler dan afinitas yang terbentuk antara kompleks ligan-protein yang sebelumnya diperoleh dari hasil simulasi ligan-protein *docking* terhadap protein hemofor HasR dengan mempergunakan *software* PatchDock. Jarak bagian permukaan antara protein hemofor HasR dengan kompleks ligan-protein dibatasi berdasarkan radius maksimum 2.0 Å. Simulasi protein-protein *docking* ini dilakukan dengan memanfaatkan beberapa parameter yang didasarkan pada bagian situs aktif pengikatan protein hemofor HasR, representasi bentuk kedua makromolekul, serta pemilihan dan penilaian dari hasil simulasi protein-protein *docking*. Pada simulasi protein-protein *docking* ini juga dilakukan tahapan yang bersifat efisien dan efektif dengan tidak memperhitungkan ikatan antar molekul yang bersifat rigid [17,18].

Analisis afinitas dan konformasi simulasi docking

Hasil yang telah diperoleh dari simulasi ligan-protein *docking* maupun protein-protein *docking* selanjutnya diamati, dieksplorasi, dan dievaluasi serta dibandingkan afinitasnya masing-masing berdasarkan nilai energi bebas pengikatan (untuk ligan-protein *docking*) dan energi kontak atom (untuk protein-protein *docking*) [19,20]. Interaksi molekuler yang terbentuk kemudian diamati, dieksplorasi, dan dievaluasi residu asam amino yang bertanggung jawab pada bagian situs aktif protein hemofor dengan mempergunakan *software* BIOVIA Discovery Studio 2020, VMD 1.9.3, Chimera 1.14.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian berbasis *in silico* ini dilakukan dengan tujuan untuk mengamati, mengeksplorasi, dan mengevaluasi mekanisme aksi secara struktural dari dua molekul senyawa yang membentuk kompleks dengan besi, yaitu besi-ftalosanina dan besi-salofen terhadap protein hemofor HasAp, serta mengidentifikasi kemampuan senyawa tersebut dalam berinteraksi pada bagian situs aktif pengikatan dari protein hemofor HasR. Tahapan penting dari penelitian ini diantaranya meliputi simulasi ligan-protein *docking* (antara protein hemofor HasAp dengan molekul senyawa besi-ftalosanina dan besi-salofen) dan simulasi protein-protein *docking* (antara kompleks protein-ligan yang telah terbentuk dari hasil simulasi ligan-protein *docking* dengan protein hemofor HasR).

Makromolekul protein target yang digunakan untuk molekul senyawa besi-ftalosanina dan besi-salofen merupakan struktur protein hemofor HasAp. Protein hemofor HasAp tersebut dipersiapkan terlebih dahulu dengan cara menghapus molekul air dan ligan asli yang sebelumnya telah membentuk kristal. Selanjutnya dilakukan proses penambahan atom hidrogen yang bersifat polar dan perhitungan muatan parsial Kollman *charge* dengan mempergunakan *software* MGLTools 1.5.6 yang dilengkapi dengan AutoDock 4.2 [21]. Tahapan persiapan protein hemofor HasAp ini bertujuan untuk memastikan pembentukan interaksi molekuler yang mampu mencapai kestabilan optimum pada bagian situs aktif pengikatan dari protein hemofor HasAp pada saat tahapan simulasi ligan-protein *docking* [22].

Molekul senyawa besi-ftalosanina dan besi-salofen yang telah dilakukan proses pemisahan dari protein hemofor HasAp terlebih dahulu dipersiapkan dengan cara melakukan penambahan atom hidrogen yang bersifat polar dan perhitungan muatan parsial Gasteiger *charge* dengan mempergunakan *software* MGLTools 1.5.6 yang dilengkapi dengan AutoDock 4.2 [23]. Tahapan persiapan molekul senyawa yang membentuk kompleks dengan besi ini dilakukan dengan tujuan supaya molekul senyawa besi-ftalosanina maupun besi-salofen memiliki kemampuan mendekati bentuk aslinya dan dapat membentuk ikatan kompleks yang mampu mencapai kestabilan optimum dengan bagian situs aktif pengikatan dari protein hemofor HasAp pada saat tahapan simulasi ligan-protein *docking* [24].

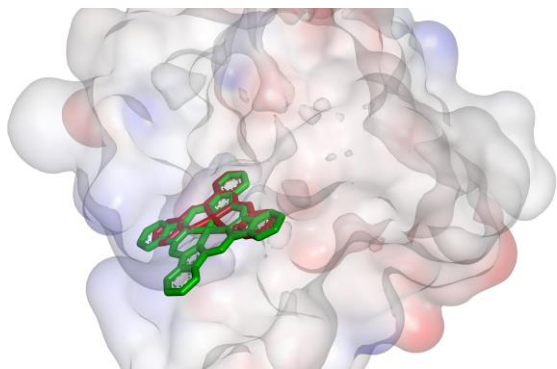
Simulasi ligan-protein *docking* dilakukan dengan mempergunakan *software* MGLTools 1.5.6 yang dilengkapi dengan AutoDock 4.2 untuk mengamati, mengeksplorasi, dan mengevaluasi

serta membandingkan afinitas paling baik diantara kedua molekul senyawa yang membentuk kompleks dengan besi. Di samping itu, dilakukan juga identifikasi, eksplorasi, dan evaluasi terhadap interaksi molekuler yang terbentuk pada bagian situs aktif pengikatan dari protein hemofor HasAp. Model afinitas pengikatan ligan-protein dengan konformasi terbaik dipilih berdasarkan nilai energi bebas pengikatan [25]. Berdasarkan data yang diperoleh dari hasil simulasi ligan-protein *docking* yang terdapat pada **Tabel 1**, senyawa besi-ftalosanina memiliki afinitas yang paling baik terhadap kedua protein hemofor HasAp (HasAp-besi-ftalosanina dan HasAp-besi-salofen), dengan nilai energi bebas pengikatan masing-masing sebesar $-68,45$ kJ/mol dan $-65,23$ kJ/mol. Fenomena ini dapat diprediksikan bahwa area pengikatan senyawa besi-ftalosanina terdapat pada bagian situs aktif pengikatan dari protein hemofor HasAp, karena mampu mengikat sebagian besar residu asam amino yang paling bertanggung jawab [26].

Tabel 1. Nilai energi bebas pengikatan hasil simulasi ligan-protein *docking*.

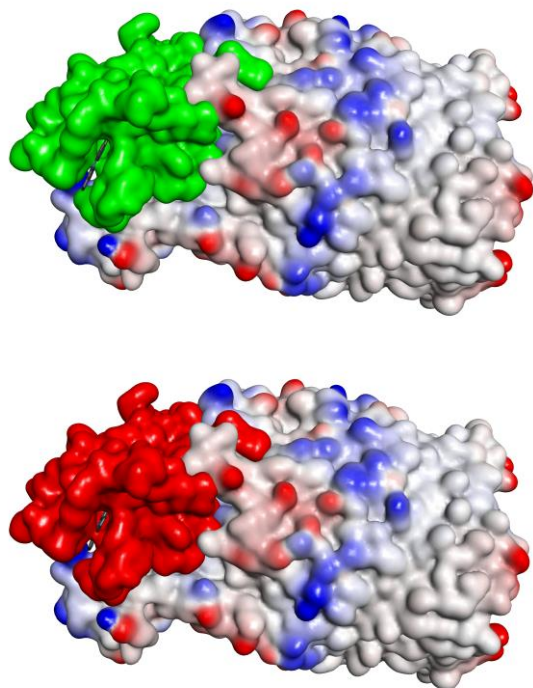
Senyawa uji	Energi bebas pengikatan (kJ/mol)	
	HasAp-besi-ftalosanina	HasAp-besi-salofen
besi-ftalosanina	-68,45	-65,23
besi-salofen	-48,91	-50,88

Identifikasi lebih lanjut dilakukan terhadap visualisasi konformasi dari kompleks molekul senyawa besi-ftalosanina dan besi-salofen terhadap protein hemofor HasAp-besi-ftalosanina. Seperti yang ditunjukkan oleh **Gambar 1**, dapat diamati bahwa kedua senyawa yang membentuk kompleks dengan besi memiliki kemiripan konformasi pada bagian situs aktif pengikatan dari protein hemofor HasAp-besi-ftalosanina. Selanjutnya, apabila diidentifikasi, dieksplorasi, dan dievaluasi berdasarkan interaksi molekuler yang mampu terbentuk, senyawa besi-ftalosanina dapat menghasilkan interaksi yang lebih dominan apabila dibandingkan senyawa besi-salofen [27]. Interaksi molekuler yang terbentuk antara senyawa besi-ftalosanina dengan protein hemofor HasAp-besi-ftalosanina terdiri dari dua puluh empat interaksi yang meliputi dua ikatan hidrogen (terhadap residu asam amino Tyr75), delapan belas interaksi hidrofobik (terhadap residu asam amino His32, Pro34, Val37, Tyr75, Phe78, His83, Leu85, Val137, Tyr138, dan Met141), satu interaksi elektrostatis (terhadap residu asam amino Arg129), dan dua ikatan logam (terhadap residu asam amino His32 dan Tyr75).



Gambar 1. Konformasi senyawa besi-ftaloasianina (hijau) dan besi-salofen (merah) pada situs aktif protein hemofor HasAp-besi-ftaloasianina.

Sementara itu, interaksi molekuler yang mampu terbentuk antara senyawa besi-salofen dengan protein hemofor HasAp-besi-ftalosanina hanya dapat membentuk sepuluh interaksi yang terdiri dari dua ikatan hidrogen (terhadap residu asam amino His32 dan Tyr75), lima interaksi hidrofobik (terhadap residu asam amino Tyr75, His83, Leu85, Val137, dan Tyr138), dan dua ikatan logam (terhadap residu asam amino His32 dan Tyr75). Fenomena dari hasil simulasi ligan-protein *docking* ini perlu dikonfirmasi lebih lanjut lagi untuk mengamati, mengeksplorasi, dan mengevaluasi kemampuan kedua sistem kompleks ligan-protein terhadap kemampuannya dalam berinteraksi dengan protein hemofor HasR [28].



Gambar 2. Pose pengikatan kompleks besi-ftalosanina + HasAp-besi-ftalosanina (merah) dan besi-salofen + HasAp-besi-ftalosanina (hijau) pada area pengikatan protein hemofor HasR.

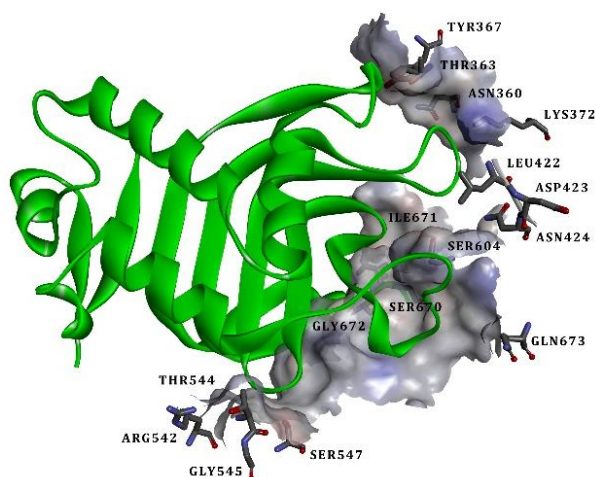
Tahapan selanjutnya dilakukan simulasi protein-protein *docking* antara kedua kompleks ligan-protein terhadap protein hemofor HasR menggunakan *software* PatchDock. Simulasi protein-protein *docking* ini dilakukan untuk mengamati, mengeksplorasi, dan mengevaluasi serta membandingkan kemampuan senyawa yang membentuk kompleks dengan besi dalam mencegah pelekatan antara protein hemofor HasAp terhadap protein hemofor HasR. Konformasi pengikatan protein-protein dengan model terbaik hasil protein-protein *docking* dipilih berdasarkan nilai energi kontak atom [29]. Berdasarkan data yang diperoleh dari hasil simulasi protein-protein *docking* yang terdapat pada **Tabel 2** menunjukkan bahwa kompleks besi-ftalosanina dan HasAp-besi-ftalosanina memiliki nilai energi kontak atom yang positif sebesar 556,56 kJ/mol, sementara kompleks besi-salofen dan HasAp-besi-ftalosanina memiliki nilai energi kontak atom sebesar -1912,88 kJ/mol. Fenomena yang terjadi mampu memprediksikan bahwa senyawa besi-ftalosanina mampu memicu penghambatan pada proses pengikatan terhadap protein hemofor HasR karena memiliki nilai energi kontak atom positif [30]. Hal tersebut menunjukkan bahwa proses persinyalan yang terjadi pada bakteri patogen *Pseudomonas aeruginosa* tidak dapat diteruskan [31].

Tabel 2. Nilai energi kontak atom hasil simulasi protein-protein *docking*.

Kompleks protein-ligan	Energi kontak atom (kJ/mol)
besi-ftalosanina + HasAp-besi-ftalosanina	556,56
besi-salofen + HasAp-besi-ftalosanina	-1912,88

Kemudian, apabila diidentifikasi, dieksplorasi, dan dievaluasi berdasarkan model pengikatan pada bagian situs aktif dari protein hemofor HasR, kedua kompleks ligan-protein memiliki konformasi yang identik (**Gambar 2**). Akan tetapi, kompleks besi-ftalosanina dan HasAp-besi-ftalosanina justru membentuk interaksi yang tidak diinginkan (*unfavorable interaction*) terhadap beberapa residu asam amino pada area pengikatan dari protein hemofor HasR, yaitu meliputi residu asam amino Asn360, Thr363, Tyr367, Lys372, Leu422, Asp423, Asn424, Gln473, Arg542, Thr544, Gly545, Ser547, Ser604, Ser670, Ile671, dan Gly672 (**Gambar 3**) [32]. Fenomena ini menunjukkan bahwa nilai energi kontak atom positif dari kompleks besi-ftalosanina

dan protein hemofor HasR dapat disebabkan karena adanya interaksi tersebut [33].



Gambar 3. Interaksi yang tidak diinginkan (*unfavorable interaction*) pada situs aktif protein hemofor HasR.

Oleh karena itu, berdasarkan hasil simulasi ligan-protein *docking* maupun protein-protein *docking* menunjukkan bahwa dengan adanya perbedaan pada struktur molekul senyawa yang membentuk kompleks dengan besi yang terikat pada protein hemofor HasAp akan mampu mempengaruhi interaksi molekuler dan afinitas yang akan terbentuk dengan protein hemofor HasR [34].

SIMPULAN

Dalam penelitian secara *in silico* ini telah berhasil dilakukan identifikasi, eksplorasi, dan evaluasi terhadap mekanisme aksi secara struktural dari senyawa besi-ftalosanina dan besi-salofen terhadap protein hemofor HasAp serta pengaruh molekularnya terhadap bagian situs aktif pengikatan dari protein hemofor HasR. Perbedaan struktur molekul senyawa yang membentuk kompleks dengan besi terbukti mampu mempengaruhi afinitasnya sehingga akan mampu mempengaruhi terhadap kemampuan protein hemofor HasAp dalam melakukan interaksi molekuler dengan protein hemofor HasR yang memiliki peran dalam pengaturan sinyal sel pada bakteri patogen *Pseudomonas aeruginosa*. Dengan demikian, studi *in silico* berperan penting dalam mendesain dan mengembangkan kandidat senyawa fotosensitizer pada terapi fotodinamika.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada LPPM (Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat), Universitas Islam Bandung, atas dukungan finansial yang diberikan melalui

skema hibah Penelitian Dosen Muda tahun 2019, No.137/B.04/LPPM/XI/2019.

REFERENSI

- [1] E. Tacconelli, E. Carrara, A. Savoldi, S. Harbarth, M. Mendelson, D.L. Monnet, *et al.*, "Discovery, research, and development of new antibiotics: The WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis," *The Lancet Infectious Diseases*, vol. 18, no. 3, pp. 318-327, 2018.
- [2] T.G.S. Denis, and M.R. Hamblin, "An introduction to photoantimicrobials: photodynamic therapy as a novel method of microbial pathogen eradication," *Science against Microbial Pathogens: Communicating Current Research and Technological Advances*, pp. 675-683, 2011.
- [3] A. Staicu, A. Pascu, A. Nuta, A. Sorescu, V. Raditoiu, and M.L. Pascu, "Studies about phthalocyanine photosensitizers to be used in photodynamic therapy," *Romanian Reports in Physics*, vol. 65, no. 3, pp. 1032-1051, 2013.
- [4] S. Letoffe, V. Redeker, and C. Wandersman, "Isolation and characterization of an extracellular haem-binding protein from *Pseudomonas aeruginosa* that shares function and sequence similarities with the *Serratia marcescens* HasA haemophore," *Molecular Microbiology*, vol. 28, no. 6, pp. 1223-1224, 1998.
- [5] S. Letoffe, J.M. Ghigo, and C. Wandersman, "Iron acquisition from heme and hemoglobin by a *Serratia marcescens* extracellular protein," *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.*, vol. 91, no. 21, pp. 9876-9880, 1994.
- [6] S. Letoffe, C. Deniau, N. Wolff, E. Dassa, P. Delepelaire, A. Lecroisey, and C. Wandersman, "Haemophore-mediated bacterial haem transport: evidence for a common or overlapping site for haem-free and haem-loaded haemophore on its specific outer membrane receptor," *Molecular Microbiology*, vol. 41, no. 2, pp. 439-450, 2001.
- [7] S. Krieg, F. Huche, K. Diederichs, N. Izadi-Pruneyre, A. Lecroisey, C. Wandersman, P. Delepelaire, and W. Welte, "Heme uptake across the outer membrane as revealed by crystal structures of the receptor-hemophore complex," *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.*, vol. 106, no. 4, pp. 1045-1050, 2009.

- [8] P. Arnoux, R. Haser, N. Izadi, A. Lecroisey, M. Delepierre, C. Wandersman, and M. Czjek, "The crystal structure of HasA, a hemophore secreted by *Serratia marcescens*," *Nature Structural and Molecular Biology*, vol. 6, no. 6, pp. 516-520, 1999.
- [9] A.Y. Alontaga, J.C. Rodriguez, E. Schonbrunn, A. Becker, T. Funke, E.T. Yukl, T. Hayashi, J. Stobaugh, P. Moenne-Loccoz, and M. Rivera, "Structural characterization of the hemophore HasAp from *Pseudomonas aeruginosa*: NMR spectroscopy reveals protein-protein interactions between HoloHasAp and hemoglobin," *Biochemistry*, vol. 48, no. 1, pp. 96-109, 2009.
- [10] C. Shirataki, O. Shoji, M. Terada, S. Ozaki, H. Sugimoto, Y. Shiro, and Y. Watanabe, "Inhibition of heme uptake in *Pseudomonas aeruginosa* by its hemophore (HasAp) bound to synthetic metal complexes," *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 53, no. 11, pp. 2862-2866, 2014.
- [11] F. Kurniawan, Y. Miura, R.E. Kartasasmita, N. Yoshioka, A. Mutalib, and D.H. Tjahjono, "In silico study, synthesis, and cytotoxic activities of porphyrin derivatives," *Pharmaceuticals*, vol. 11, no. 1, pp. 8, 2018.
- [12] M.S. Engler, B. Caron, L. Veen, D.P. Geerke, A.E. Mark, and G.W. Klau, "Automated partial atomic charge assignment for drug-like molecules: a fast knapsack approach," *Algorithms for Molecular Biology*, vol. 14, no. 1, pp. 1-10, 2019.
- [13] S. Forli, R. Huey, M.E. Pique, M. Sanner, D.S. Goodsell, and A.J. Olson, "Computational protein-ligand docking and virtual drug screening with the AutoDock suite," *Nature Protocols*, vol. 11, no. 5, pp. 905-919, 2016.
- [14] S. Geidl, T. Bouchal, T. Racek, R.S. Varekova, V. Hejret, A. Krenek, R. Abagyan, and J. Koca, "High-quality and universal empirical atomic charges for cheminformatics applications," *Journal of Cheminformatics*, vol. 7, no. 59, pp. 1-10, 2015.
- [15] G.M. Morris, D.S. Goodsell, R.S. Halliday, R. Huey, W.E. Hart, R.K. Belew, and A.J. Olson, "Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function," *Journal of Computational Chemistry*, vol. 19, no. 14, pp. 1639-1662, 1998.
- [16] B. Guan, C. Zhang, and J. Ning, "EDGA: A population evolution direction-guided genetic algorithm for protein-ligand docking," *Journal of Computational Biology*, vol. 23, no. 7, pp. 585-596, 2016.
- [17] R.T. Aruleba, T.A. Adekiya, B.E. Oyinloye, and A. P. Kappo, "Structural studies of predicted ligand binding sites and molecular docking analysis of Slc2a4 as a therapeutic target for the treatment of cancer." *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 19, no. 2, pp. 386, 2018.
- [18] J. Zhao, Y. Cao, and L. Zhang, "Exploring the computational methods for protein-ligand binding site prediction." *Computational and Structural Biotechnology Journal*, vol. 18, no. 2020, pp. 417-426, 2020.
- [19] D.S. Prabhu, and V.D. Rajeswari, "In silico docking analysis of bioactive compounds from Chinese medicine *Jinqi Jiangtang* Tablet (JQJTT) using Patch Dock," *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, vol. 5, no. 8, pp. 15-21, 2016.
- [20] O.O. Bakare, A.O. Fadaka, M. Keyster, and A. Pretorius, "Structural and molecular docking analytical studies of the predicted ligand binding sites of cadherin-1 in cancer prognostics," *Advances and Applications in Bioinformatics and Chemistry*, vol. 13, no. 2020, pp. 1-9, 2020.
- [21] J.C. Wang, J.H. Lin, C.M. Chen, A.L. Perryman, and A. J. Olson, "Robust scoring functions for protein-ligand interactions with quantum chemical charge models," *Journal of Chemical Information and Modeling*, vol. 51, no. 10, pp. 2528-2537., 2011.
- [22] G. Chen, A.J. Seukep, and M. Guo, "Recent advances in molecular docking for the research and discovery of potential marine drugs," *Marine Drugs*, vol. 18, no. 11, pp. 545., 2020.
- [23] C. Shivanika, D. Kumar, V. Rangunathan, P. Tiwari, A. Sumitha, and P.B. Devi, "Molecular docking, validation, dynamics simulations, and pharmacokinetic prediction of natural compounds against the SARS-CoV-2 main-protease," *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, vol. 38, no. 2, pp. 1-28, 2020.
- [24] W.P. Feinstein and M. Brylinski, "Calculating an optimal box size for ligand docking and virtual screening against experimental and predicted binding pockets," *Journal of Cheminformatics*, vol. 7, no. 18, pp. 1-10, 2015.
- [25] D. Mondal, J. Florian, and A. Warshel, "Exploring the effectiveness of binding free energy calculations," *The Journal of Physical*

- Chemistry*, vol. 123, no. 42, pp. 8910-8915, 2019.
- [26] Y. Fu, J. Zhao, and Z. Chen, "Insights into the molecular mechanisms of protein-ligand interactions by molecular docking and molecular dynamics simulation: a case of oligopeptide binding protein," *Computational and Mathematical Methods in Medicine*, vol. 2018, no. 3502514, pp. 1-12, 2018.
- [27] S.G. Ramakrishnan, M. Sivaramakrishnan, D. Chenthamara, R. Kothandan, S. Krishnaswami, and S. Subramaniam, "Modelling, docking and simulation analysis of Bisphenol A interaction with laccase from *Trichoderma*," *Bioinformation*, vol. 16, no. 4, pp. 323-331, 2020.
- [28] A.D. Smith, and A. Wilks, "Differential contributions of the outer membrane receptors PhuR and HasR to heme acquisition in *Pseudomonas aeruginosa*," *Journal of Biological Chemistry*, vol. 290, no. 12, pp. 7756-7766, 2015.
- [29] D.A.E. Pitaloka, D.S.F. Ramadhan, Arfan, L. Chaidir, and T.M. Fakhri, "Docking-based virtual screening and molecular dynamics simulations of quercetin analogs as enoyl-acyl carrier protein reductase (InhA) inhibitors of *Mycobacterium tuberculosis*," *Scientia Pharmaceutica*, vol. 89, no. 2, pp. 20, 2021.
- [30] S. Hiremath, H.D.V. Kumar, M. Nandan, M. Mantesh, K.S. Shankarappa, V. Venkataravanappa, C.R.J. Basha, and C.N.L. Reddy, "In silico docking analysis revealed the potential of phytochemicals present in *Phyllanthus amarus* and *Andrographis paniculata*, used in ayurveda medicine in inhibiting SARS-CoV-2," *3 Biotech*, vol. 11, no. 2, pp. 44, 2021.
- [31] C. Curutiu, F. Iordache, V. Lazar, A.M. Pisoschi, A. Pop, M.C. Chifiriuc, and A.M. Hoban, "Impact of *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing signaling molecules on adhesion and inflammatory markers in endothelial cells," *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, vol. 14, pp. 2580-2588, 2018.
- [32] W. Ali and N.A. Shar, "Molecular docking analysis of timepidium with acetylcholine and lumacaftor with GABA(A) activator," *Bioinformation*, vol. 15, no. 11, pp. 832-837, 2019.
- [33] F. Darusman, T.M. Fakhri, and G.F. Nurfarida, "Identification of the glimepiride and metformin hydrochloride physical interaction in binary systems," *Borneo Journal of Pharmacy*, vol. 4, no. 2, pp. 110-116, 2021.
- [34] M.S. Rossi, J.D. Fetherston, S. Letoffe, E. Carniel, R.D. Perry, and J.M. Ghigo, "Identification and characterization of the hemophore-dependent heme acquisition system of *Yersinia pestis*," *Infection and Immunity*, vol. 69, no. 11, pp. 6707-6717, 2021.