

ANALISIS POTENSI DAUN TORBANGUN (*Plectranthus amboinicus*) SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP *Klebsiella pneumoniae* SECARA *IN SILICO*

Nabila Nur Nafiati¹, Rini Madyastuti Purwono^{2*}, Nurhidayat³, Laksmi Ambarsari⁴

¹Program Sarjana Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis, Institut Pertanian Bogor

²Sub-divisi Farmasi Veteriner, Departemen Klinik, Reproduksi, dan Patologi, Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis, Institut Pertanian Bogor

³Divisi Anatomi, Histologi, dan Embriologi, Departemen Anatomi, Fisiologi, dan Farmakologi, Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis, Institut Pertanian Bogor

⁴Departemen Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor

*Penulis Korespondensi: rinipurwono@gmail.com

ABSTRAK

Resisten antibiotik adalah masalah global. *Klebsiella pneumoniae* memiliki prioritas tinggi untuk dicari antibiotiknya karena memiliki enzim extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) yang membuat bakteri mudah kebal terhadap antibiotik. Kajian fitokimia pada tumbuhan obat merupakan salah satu upaya untuk menemukan antibiotik. Indrulizia merupakan salah satu tanaman obat empiris yang mengandung flavonoid yang digunakan untuk mengobati penyakit. Tujuan dari penelitian ini adalah menganalisis potensi borage sebagai antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae* in silico. Metode docking pada penelitian ini menggunakan AutoDock Vina. Ini adalah aplikasi untuk docking enzim ESBL dari *K. pneumoniae*, disebut sebagai SHV (variabel sulfhidril), dan metabolit kedua dari tumbuhan. Parameter yang dianalisa adalah energi bebas ikatan, konstanta inhibisi dan visualisasi 3D dan 2D. Energi bebas ikatan dan konstanta inhibisi ligan asli adalah -6,7 kkal/mol dan 12,118 μ M. Nilai energi bebas ikatan apigenin 7-glucuronide dan asam rosmarinic menunjukkan potensi yang lebih tinggi daripada ligan asli SHV-1 (1,4-thiazepine).

Kata Kunci: Resistensi Antibiotik, AutoDock Vina, Indian borage, *Klebsiella pneumoniae*

ABSTRACT

Antibiotic-resistant is a global issue. *Klebsiella pneumoniae* has high priority to find its antibiotic because it has extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) enzyme that makes the bacteria easy to resist the antibiotic. The study of phytochemicals in medicinal plants is one of the efforts to find antibiotics. Indrulizia is one of the empirical medicinal plants containing flavonoids used to treat disease. The aim of this study was to analyze the potential of borage as an antibacterial agent against *Klebsiella pneumoniae* in silico. Docking is the method for this study using AutoDock Vina. This is an application for docking the enzyme ESBL from *K. pneumoniae*, referred to as SHV (sulfhydryl variable), and the metabolite second from plants. The parameters analyzed were binding free energies, inhibition constants and visualization in 3D and 2D. The free energy of binding and the inhibition constant of the native ligand are -6.7 kcal/mol and 12.118 μ M. The binding free energy values of apigenin 7-glucuronide and rosmarinic acid show higher potencies than the native ligand of SHV-1 (1,4-thiazepine).

Keywords: Antibiotic resistant, docking, Indian borage, *Klebsiella pneumoniae*

PENDAHULUAN

Saat ini masalah resistensi antibiotik menjadi masalah global. *World Health Organization* (WHO) memberikan daftar bakteri prioritas untuk ditemukan antibiotiknya dengan 3 kelas prioritas. Bakteri yang termasuk di dalam prioritas 1 adalah *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan beberapa bakteri dalam famili Enterobacteriaceae seperti *Klebsiella*, *E. coli*, *Serratia*, dan *Proteus* (Tacconelli *et al.*, 2018). Resistensi antibiotik dapat terjadi karena penggunaan antibiotik yang kurang bijak dalam pengobatan seperti kurang patuhnya pasien untuk menghabiskan antibiotik yang diberikan, konsentrasi antibiotik yang diberikan dibawah dari yang dibutuhkan, dan kegagalan dalam pengobatan (Kitagawa *et al.*, 2018).

Klebsiella pneumonia merupakan bakteri gram-negatif yang mudah sekali mengalami resistensi karena adanya enzim *extended spectrum beta-lactamase* (ESBL) (Nirwati *et al.*, 2019). Salah satu varian ESBL yang banyak ditemukan pada bakteri *Klebsiella pneumoniae* adalah SHV (*Sulphydryl Variable*) (Rajasekharan *et al.*, 2017). SHV terletak pada plasmid bakteri, sehingga memudahkan penyebaran gen beta-laktamase yang

telah bermutasi ke bakteri lain (Chaves *et al.*, 2001).

Berbagai penelitian telah banyak dilakukan dalam upaya mencari senyawa antibiotik baru, salah satu upaya yang dilakukan adalah melakukan pengujian berbagai senyawa metabolit sekunder yang berasal dari tanaman dengan menggunakan teknik komputasi (Setzer *et al.*, 2016). Penggunaan senyawa tanaman berkhasiat obat banyak digunakan oleh masyarakat dengan keuntungan antara lain efek samping yang minimal, mudah didapat, dan praktis (Pane *et al.*, 2021). Walaupun begitu, Indonesia memiliki banyak tanaman obat yang masih belum dimanfaatkan secara optimal. Ada sekitar 9000 spesies tanaman yang diperkirakan memiliki kandungan obat dan baru 10% dari tanaman obat yang sudah dimanfaatkan sebagai bahan fitofarmaka (Munadi, 2017).

Penelitian terkait tanaman obat yang memiliki potensi sebagai antibakteri *K. pneumoniae* telah banyak dilakukan. Salah satu tanaman yang memiliki potensi tersebut adalah daun torbangun (*Plectranthus amboinicus*). Daun torbangun memiliki aroma yang cukup kuat, tanaman aromatik seperti ini sering digunakan sebagai obat herbal

karena manfaatnya yang dapat membunuh bakteri patogen (Nasution *et al.*, 2017; Gafur *et al.*, 2020). Penelitian yang telah dilakukan oleh Sivaranjani *et al.*, (2019) menunjukkan hasil bahwa daun torbangun memiliki hasil zona inhibisi bakteri *K. pneumoniae* sebesar 31 mm pada konsentrasi ekstrak metanol 50 mg/mL, sedangkan pada dosis 100 mg/mL menunjukkan zona inhibisi yang lebih besar, yaitu 35 mm. Saat ini belum ada informasi mengenai analisis dauntorbangun secara *in silico*, sehingga mekanisme penghambatan terhadap bakteri belum diketahui dengan jelas. Harapannya dengan dilakukan penelitian ini akan melengkapi data mekanisme daun torbangun dalam berperan sebagai antibakteri sehingga pemanfaatan tanaman dalam upaya menjaga kesehatan bisa berlandaskan kepada *scientific base medicine*.

METODE PENELITIAN

Preparasi Protein Reseptor

Struktur kimia beta-laktamase yang digunakan sebagai reseptor dengan kode protein SHV-1 diunduh pada laman <https://www.rcsb.org>. Reseptor yang telah diunduh dibuka menggunakan aplikasi *Discovery Studio*

Visualizer untuk memisahkan ligan alami dan menghilangkan molekul air. Hasil setelah ini protein disimpan dengan format *.pdb. Data ini kemudian dibuka dengan aplikasi *AutoDock Tools* untuk ditambahkan hidrogen polar, kemudian data ini disimpan dengan format *.pdbqt.

Preparasi Ligan

Struktur kimia dari tanaman daun torbangun (ligan uji) yaitu apigenin 7 – glucuronid, asam rosmarinat, dan karvakrol diunduh pada laman <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov> dalam bentuk 2D dengan format *.sdf. Ligan yang telah diunduh diubah strukturnya menjadi 3D menggunakan *Discovery Studio Visualizer* dan disimpan dalam format *.pdb. Ligan yang telah memiliki format *.pdb dimasukkan pada laman <http://www.scfbio-itt.res.in/software/drugdesign/lipinski.jsp> untuk diketahui bioavailabilitasnya. Selanjutnya semua ligan dibuka kembali pada aplikasi *AutoDock Tools* dan disimpan lagi dengan format *.pdbqt.

Validasi Metode Penambatan Molekuler

Ligan alami yang sebelumnya didapatkan dari pemisahan ligan pada

protein SHV-1 disimpan dalam *file* tersendiri dengan format *.pdb. Selanjutnya ligan alami, format penyimpanannya diubah menjadi *.pdbqt menggunakan aplikasi *AutoDock Tools*. Struktur reseptor dan ligan yang telah dipreparasi dibuka menggunakan aplikasi *AutoDock Tools* untuk membuat *gridbox* dengan menentukan titik koordinat yang disebut dengan *center point* serta ukuran dimensi (x, y, dan z). Penambatan molekuler dilakukan menggunakan ligan alami dan diulang sebanyak 20 kali hingga mendapatkan rata-rata *root mean standard deviation* (RMSD) kurang dari 3 Å.

Penambatan Molekuler

Reseptor dan ligan yang telah dipreparasi dipindahkan ke dalam *folder* yang sama dengan aplikasi *Autodock Vina* yang berada di *Drive C*, folder diberi nama *Vina*. Dokumen konfigurasi dibuat menggunakan aplikasi *notepad* dengan memasukkan data berupa nama reseptor dan ligan yang digunakan, nama dokumen hasil penambatan molekuler (*output*), dan *center point* serta dimensi yang sebelumnya sudah didapatkan melalui *grid box*. Penambatan molekuler dilakukan

menggunakan program *command prompt*, dengan perintah pemrograman yaitu “C:\vina --config (nama konfigurasi).txt --log (nama log).txt” kemudian tekan *enter*. Hasil penambatan molekuler didapatkan dokumen *output* dengan format *.pdbqt dan log dengan format *.txt. Dokumen *output* dibuka menggunakan aplikasi *Discovery Studio Visualizer*. Dokumen log berisi data nilai energi bebas ikatan (*binding affinity*) dan RMSD.

Analisis Energi Bebas Ikatan dan Konstanta Inhibisi

Hasil penambatan molekuler yang berupa nilai energi bebas ikatan ditabulasikan dan hasilnya digunakan untuk mencari nilai konstanta inhibisi (*Ki*) berdasarkan persamaan berikut:

$$\Delta G = RT \ln \ln Ki$$

Keterangan:

ΔG : Energi afinitas atau perubahan energy bebas Gibbs

R : Konstanta ideal gas (1,986 kal/molK)

T : Suhu (298 K)

Ki : Konstanta inhibisi

Visualisasi Ligan Hasil Penambatan Molekuler

Hasil yang diperoleh akan dilakukan visualisasi menggunakan

aplikasi *Discovery Studio Visualizer* untuk dilihat kompleks ligan uji-reseptor yang memiliki model interaksi paling mendekati reseptor dengan ligan alami. Model tersebut digabungkan dengan cara menyalin model terpilih pada layar tab “*ligand*” dan ditempelkan pada layar tab “*macromolecule*”. Ligan ditarik ke reseptor sehingga struktur keduanya menyatu. Hasil penggabungan disimpan dengan format *.pdb. Analisis dapat dilakukan dengan visualisasi 3D menggunakan *PyMol*.

Analisis Data

Data bioavailabilitas, *Root Mean Standard Deviation*, energi bebas ikatan, konstanta inhibisi, dan presentase *Binding Site Similarity* ditabulasikan dengan aplikasi *Microsoft excel* dan dianalisis dengan metode deskriptif. Visualisasi 3D dapat diperoleh dari aplikasi *PyMol* serta 2D dapat diperoleh dari aplikasi *Ligplot+ version v.2.2.5* dan dianalisis dengan metode deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini dilakukan beberapa persiapan untuk melakukan penambatan molekul atau *molecular docking* antara ligan uji dengan enzim

atau protein target. Ligan uji merupakan kandidat obat yang akan dikaji umumnya metabolit sekunder dari tanaman. Pada studi ini menggunakan ligan uji Apigenin 7 – glucuronide, asam rosmarinate, dan karvakrol. Setiap ligan uji yang akan digunakan umumnya dilakukan uji stabilitas dan bioavailabilitas dengan menggunakan prinsip aturan Lipinski (Tabel 1). Aturan/prinsip Lipinski harus memenuhi 5 aturannya yaitu berat molekul di bawah 500 Dalton, $\log P \leq 5$, donor ikatan hidrogen ≤ 5 , akseptor ikatan hidrogen ≤ 10 , dan refraktivitas molar di antara 40-130 (Lipinski, 2004). Aturan dari Lipinski dapat menentukan sifat fisikokimia suatu ligan yang dapat menentukan karakter hidrofobik atau hidrofilik suatu senyawa melalui membran sel oleh difusi pasif (Lipinski 2001).

Analisis Lipinski terhadap ligan uji menunjukkan hasil, asam rosmarinate dan karvakrol memenuhi lima aturan lipinski. Sementara ligan uji *apigenin 7-glucuronide* memiliki nilai donor dan akseptor ikatan hidrogen yang lebih besar, sehingga tidak memenuhi aturan Lipinski sebanyak 2 buah. Dua ligan uji yang memenuhi aturan Lipinski menunjukkan senyawa apabila

dijadikan obat dalam bentuk per oral maka proses absorpsinya cukup baik.

Setelah persiapan ligan uji dan protein maka dilanjutkan dengan tahap selanjutnya yaitu penambatan molekuler. Pada penelitian ini, penambatan molekul pada daerah atau yang biasa disebut dengan *grid box*

memiliki ukuran dimensi $x=10$, $y=12$, $z=14$ serta *center point* (pusat) $x=8,022$; $y=39,967$; $z=2,569$. Sebelum *grid box* dapat digunakan sebagai pedoman untuk penambatan molekuler terhadap ligan uji, perlu dilakukan validasi dengan melakukan penambatan ulang terhadap ligan alami.

Tabel 1. Bioavailabilitas Ligan Uji Menggunakan 5 Aturan Lipinski

Ligan	Berat Molekul (Dalton)	Donor ikatan hidrogen	Akseptor ikatan hidrogen	Log P	Refraktivitas Molar
Apigenin 7 – glucuronide	446	6	11	1,287	95,497
Asam Rosmarinat	360	5	8	1,534	81,959
Karvakrol	150	1	1	2,162	48,492

Validasi *Grid box* dapat dilihat melalui nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) dengan melakukan pengulangan proses penambatan molekuler pada ligan alami sebanyak 20 kali. Rata-rata nilai RMSD yang didapatkan dari penambatan ulang ligan alami dari enzim SHV-1 adalah 2,309 Å. Nilai RMSD yang baik adalah kurang dari 3Å, lebih dari nilai ini akan banyak terjadi ligan uji yang tidak menempel di situs yang diinginkan (situs katalitik) (Grosdidier *et al.*, 2007).

Energi bebas ikatan adalah energi yang dibutuhkan oleh ligan dan protein

target untuk saling berikatan, semakin negatif energi bebas ikatan tersebut maka ikatan hidrogen semakin kuat (Nusantoro dan Fadlan, 2020). Konstanta inhibisi merupakan konsentrasi yang dibutuhkan inhibitor untuk dapat menginaktifkan enzim (McWhirter, 2021).

Nilai konstanta inhibisi akan selaras dengan nilai energi bebas ikatan (Tabel 2). Ligan uji dengan nilai energi bebas ikatan dan konstanta inhibisi terkecil adalah asam rosmarinat yaitu - 8,1 kkal/mol dan 1,138 µM. Karvakrol merupakan ligan uji yang memiliki nilai energi bebas ikatan dan konstanta

inhibisi lebih tinggi daripada ligan alami. Menurut Vargas *et al.*, (2018), semakin kecil nilai dari energi bebas

ikatan dan konstanta inhibisi, maka afinitas ligan dengan protein target semakin tinggi.

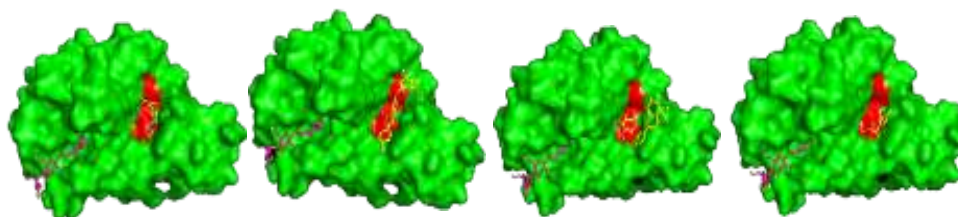
Tabel 2. Energi Bebas Ikatan dan Konstanta Inhibisi Ligan Alami, Ligan Kontrol, dan Ligan Uji Terhadap SHV-1

Ligan	Energi bebas ikatan (ΔG) (Kcal/mol)	Konstanta Inhibisi (Ki)(μM)
Ligan alami	-6,7	12,118
Apigenin 7-glucoronide	-7,3	4,397
Asam rosmarinat	-8,1	1,138
Karvakrol	-6,6	14,348

Visualisasi Penambatan Molekuler Ligan

Hasil dari penambatan molekuler yang dilakukan terhadap kelima ligan uji berada di situs katalitik yang divisualisasikan secara 3D dapat dilihat pada Gambar 1. Daerah merah (situs katalitik) merupakan daerah yang berperan aktif dalam proses enzimatis SHV-1. Situs katalitik terletak pada Ser70, Lys73, Ser130, Glu166, Asn170, dan Lys234 (Kuzin *et al.*, 1999). Hal ini menunjukkan bahwa seluruh ligan uji

memiliki peran dalam proses tersebut dengan berikatan pada situs katalitik. Namun, hal tersebut dapat dilihat lebih jelas menggunakan visualisasi 2D yang memperlihatkan ikatan yang terbentuk pada ligan uji dengan SHV-1. Visualisasi 2D menunjukkan ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik pada ligan uji dengan SHV-1 (Gambar 1). Hampir semua ligan uji memiliki ikatan dengan salah satu asam amino penting dalam SHV-1 kecuali karvakrol.

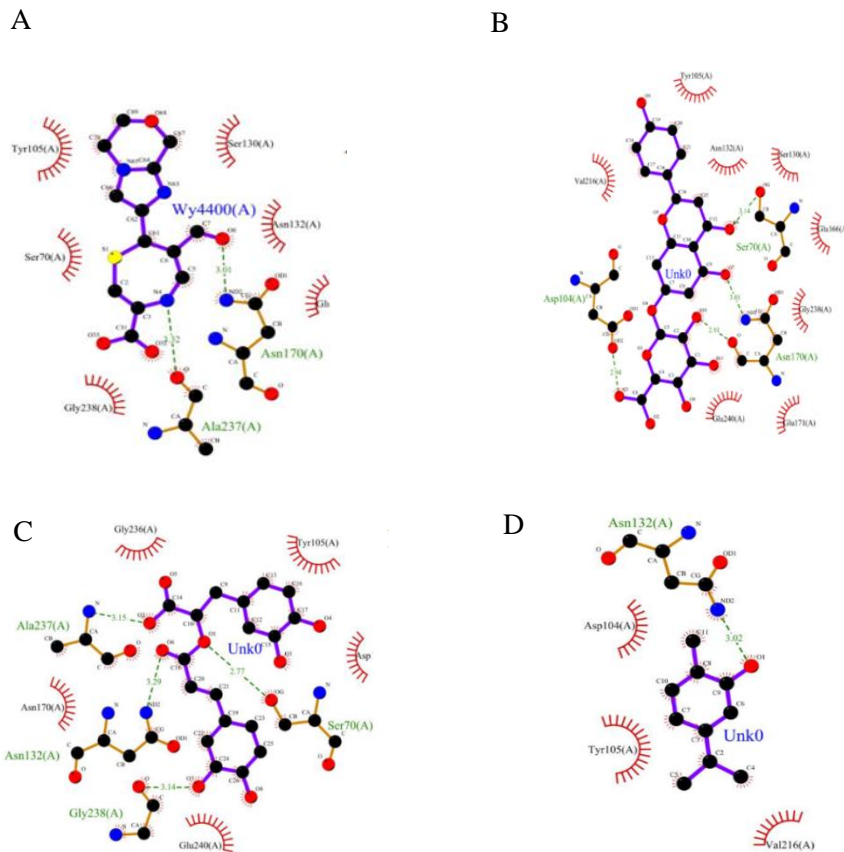


Gambar 1. Visualisasi 3D interaksi ligan dengan SHV-1. Ligan alami (paling kiri), apigenin 7-glucuronide (kiri kedua), asam rosmarinat (kanan kedua), dan karvakrol (paling kanan). Keterangan: Hijau = SHV-1; merah = situs katalitik; merah muda = CYMAL-6; kuning = ligan.

Visualisasi 2D antara ligan uji dengan enzim SHV-1 dapat dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak LigPlot+2.2 dapat dilihat pada (Gambar 2). Hasil visualisasi 2D ini dapat dianalisis bagaimana interaksi antara ligan uji dengan sisi katalitiknya bisa berupa interaksi hidrofobik atau ikatan hidrogen. Adanya ikatan hidrogen yang cukup banyak dengan jarak yang cukup dekat menunjukkan kekuatan ikatan antara ligan uji dengan asam amino pada sisi katalitik. Ligan uji Apigenin 7-glucuronide memiliki 4 ikatan hidrogen dengan asam amino Asp 104, Asn 170, dan Ser 70 pada sisi katalitiknya. Ikatan hidrogen terjadi antara ligan uji rosmarinate dengan asam amino Ala 237, Ser 70, dan Gly 238 pada enzim target. Sementara ligan alami (native ligan) hanya membentuk dua ikatan hidrogen pada asam amino Ala 237 dan Asn 170 dan untuk karvakrol menunjukkan 4 interaksi ikatan hidrogen pada asam amino Asn 132, Ser70, Asn17, dan Ala 237 pada

sisi katalitik enzim.

Analisis interaksi antara ligan uji dan enzim pada sisi katalitiknya ditunjukkan dengan presentase *Binding Site Similarity* (BSS) (Tabel 3). Walaupun struktur molekul dapat sangat berbeda, jika terikat di bagian yang sama, maka ligan uji berpeluang menjadi kandidat obat (Kellenberger *et al.*, 2008). Nilai ini melihat jumlah ikatan yang sama antara ligan uji dengan ligan alami. Nilai BSS tertinggi dimiliki oleh *apigenin 7- glucuronide* dengan nilai 87,5% dan nilai BSS terendah dimiliki oleh karvakrol dengan nilai 25%. Empat dari lima ligan uji memiliki presentase BSS lebih dari 50% yang menunjukkan bahwa empat ligan uji tersebut diperkirakan memiliki efek yang sama dengan ligan alami. Ligan alami yang digunakan adalah 1,4-thiazepine. 1,4-thiazepine merupakan obat golongan penem yang mekanisme kerjanya menghambat proses hidrolisis cincin beta laktam (Nukaga *et al.*, 2003).



Gambar 2. Visualisasi 2D interaksi ligan dengan SHV-1. Ligan alami (A), *apigenin 7-glucuronide* (B), asam rosmarinat (C), dan karvakrol (D). Keterangan: bulu mata berwarna merah menunjukkan interaksi hidrofobik dan garis putus-putus hijau menunjukkan ikatan hidrogen.

Tabel 3. Ikatan Hidrogen dan Interaksi Hidrofobik Ligan Alami dan Ligan Uji dan Persentase *Binding Site Similarity* Ligan Uji Terhadap Ligan Alami

Ligan	Ikatan hidrogen	Interaksi hidrofobik	%BSS
Ligan alami	Asn170*, Ala237	Ser70*, Tyr105, Ser130*, Asn132, Glu166*, Gly238	100%
<i>Apigenin 7-glucuronide</i>	Ser70* [#] Asp104, Asn170* [#]	Tyr105 [#] , Ser130* [#] , Asn132 [#] , Glu166 * [#] Glu171, Val216, Gly238, Glu240	87,5%
Asam rosmarinat	Ser70* [#] Asn132 [#] Ala237 [#] Gly238 [#]	Asp104, Tyr105 [#] , Gly236, Glu240	62,5%
Karvakrol	Asn132	Asp104, Tyr105 [#] , Val216	25%

Keterangan: * =Asam amino pada situs katalitik; [#] =Asam amino yang sama dengan ligan alami

Berdasarkan analisa interaksi antara ligan uji yang berasal dari ekstrak torbangun dan protein maka ligan uji yang memiliki potensi paling kuat sebagai antibakteri adalah asam rosmarinate dengan energi bebas ikatan paling besar dibandingkan ligan alami atau ligan uji lainnya. Asam rosmarinate memiliki interaksi ikatan hidrogen yang cukup dengan dekat residu asam amino Ser 70 dengan jarak ikatan sebesar 2,77 Å.

KESIMPULAN

Tanaman daun torbangun diduga memiliki potensi sebagai antibakteri berdasarkan nilai energi bebas ikatan dan konstanta inhibisi yang lebih lebih kecil daripada ligan alami yang diperoleh melalui pendekatan *in silico*.

DAFTAR PUSTAKA

- Chaves, J., Ladona, M.G., Segura, C., Coira, A., Reig, R., and Ampurdanés, C. SHV-1 β -Lactamase is Mainly a Chromosomally Encoded Species-Specific Enzyme in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2001, 45(10): 2856-2861.
- Gafur, A., Sukamdani, G.Y., Kristi, N., Maruf, A., Xu, J., Chen, X., et al.

From bulk to nano-delivery of essential phytochemicals: recent progress and strategies for antibacterial resistance. *J. Mater. Chem. B.* 2020, 8(43): 9825-9835.

- Grosdidier, A., Zoete, V., and Michielin, O. EADock: Docking of small molecules into protein active sites with a multiobjective evolutionary optimization. *Proteins Struct. Funct. Bioinforma.* 2007, 67(4): 1010-1025.
- Kellenberger, E., Schalon, C., and Rognan, D. How to measure the similarity between protein ligand-binding site? *Curr. Comput. Aided. Drug Des.* 2008, 4(3): 1-12.
- Kitagawa, K., Shigemura, K., Yamamichi, F., Alimsardjono, L., Rahardjo, D., Kuntaman, K., et al. International comparison of causative bacteria and antimicrobial susceptibilities of urinary tract infections between Kobe, Japan, and Surabaya, Indonesia. *Jpn. J. Infect. Dis.* 2018, 71(1): 8-13.
- Kuzin, A.P., Nukaga, M., Nukaga, Y., Hujer, A.M., Bonomo, R.A., and Knox, J.R. Structure of the SHV-1 β -lactamase. *Biochem.* 1999, 38(18): 5720-5727.
- Lipinski, C.A. Lead- and drug-like compounds: the rule-of-five revolution. *Drug Discov. Today Technol.* 2004, 1(4):337-341.
- Lipinski, C.A., Lombardo, F., Dominy, B.W., Feeney, P.J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and

- permeability in drug discovery and development q settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2001, 46(1-3): 3-26.
- McWhirter, C. 2021. Chapter One - Kinetic mechanisms of covalent inhibition. Di dalam: Ward, R.A., Grimster NPBT-AR in MC, editor. *The Design of Covalent-Based Inhibitors*. Vol. 56. Academic Press. Halaman. 1-31.
- Munadi, E. 2017. Tanaman obat, sebuah tinjauan singkat. Di dalam: Salim, Z., Munadi, E., editor. *Info Komoditi Tanaman Obat*. Jakarta: Badan Pengkajian dan Pengembangan Perdagangan. Halaman. 1-7.
- Nasution, N., Siregar, L.A., Bayu, E.S. Karakteristik pertumbuhan vegetatif dari beberapa aksesori tanaman Bangun-bangun (*Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng). *J. Agroekoteknologi FP USU*. 2017, 5(1): 26-32.
- Nirwati, H., Sinanjung, K., Fahrulnisa, F., Wijaya, F., Napitupulu, S., Hati VP, et al. Biofilm formation and antibiotic resistance of *Klebsiella pneumoniae* isolated from clinical samples in a tertiary care hospital, Klaten, Indonesia. *BMC Proc*. 2019, 13(S11): 1-8.
- Nukaga, M., Abe, T., Venkatesan, A.M., Mansour, T.S, Bonomo R.A, and Knox, J.R. Inhibition of class A and class C β -lactamases by penems: Crystallographic structures of a novel 1,4-thiazepine intermediate. *Biochem*. 2003, 42(45): 13152-13159.
- Nusantoro, Y.R., dan Fadlan, A. Analisis sifat mirip obat, prediksi ADMET, dan penambatan molekular isatinil-2-aminobenzoilhidrazon dan kompleks logam transisi Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II) Terhadap BCL2-XL. *Akta Kim. Indones*. 2020, 5(2): 114-126.
- Rajasekharan, S.K., Ramesh, S., Satish, A.S., and Lee, J. Antibiofilm and anti- β -lactamase activities of Burdock root extract and chlorogenic acid against *Klebsiella pneumoniae*. *J. Microbiol. Biotechnol*. 2017, 27(3): 542-551.
- Setzer, M.S., Sharifi-Rad, J., and Setzer, W. The search for herbal antibiotics: An in-silico investigation of antibacterial phytochemicals. *Antibiotics*. 2016, 5(3): 1-113.
- Sivaranjani, D., Saranraj, P., Manigandan, M., and Amala, K. Antimicrobial activity of *Plectranthus amboinicus* solvent extracts against human pathogenic bacteria and fungi. *J. Drug Deliv. Ther*. 2019, 9(3): 36-39.
- Tacconelli, E., Carrara, E., Savoldi, A., Harbarth, S., Mendelson, M., Monnet, D.L., et al. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *Lancet Infect. Dis*. 2018, 18(3): 318-327.
- Vargas, J.A.R., Lopez, A.G., Piñol, M.C., and Froeyen, M. Molecular docking study on the interaction between 2-substituted-4,5-difuryl

imidazoles with different protein target for antileishmanial activity. *J. Appl. Pharm. Sci.* 2018, 8(3):14-22.