

POTENSI ANTI BAKTERI SENYAWA *Cladophora* sp. TERHADAP PROTEIN TARGET PBP1b dan PBP2 PADA BAKTERI *Escherichia coli* MENGGUNAKAN STUDI *In Silico*

Muchammad Sulthon Yassar Tawasulloh, Yoni Rina Bintari, Reza Hakim*

*Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan : *Escherichia coli* bakteri komensal usus besar yang berpotensi menyebabkan infeksi. Lebih dari 50% kasus infeksi saluran kemih (ISK) bersumber dari *E. coli*. *Penicillin Binding Protein* seperti PBP1b dan PBP2 pada *E. coli* berfungsi sebagai enzim yang mengkatalisasi pembentukan dinding sel. Beberapa penelitian menunjukkan ekstrak dari *Cladophora* sp. memiliki efek antibakteri terhadap *E. coli* namun mekanismenya belum diketahui. Skrining fitokimia ekstrak kloroform memiliki ZOI yang lebih besar dibandingkan dekokta. Penelitian ini mencari senyawa fitokimia dari *Cladophora* sp. yang dapat berikatan dengan kedua protein melalui studi *in silico* agar memperoleh kandidat obat baru.

Metode : 44 senyawa *Cladophora* sp. dilakukan uji *In silico* dengan dilakukan penambatan pada protein PBP1b dan PBP2 menggunakan program *Pyrx Autodock Vina* dengan kontrol *Moenomycin* dan *CPD4*. Visualisasi protein dan ligan menggunakan *BIOVIA discovery studio*. Prediksi profil farmakokinetik dan sifat fisikokimia menggunakan *pkCSM online tools*.

Hasil : *Cladophora* sp. memiliki 14 senyawa yang memiliki nilai energi ikatan yang melebihi kontrol *Moenomycin* sebesar ΔG -7,4 kcal/mol dan pada kontrol *CPD4* sebesar ΔG -7,1 kcal/mol. Terdapat 5 senyawa terbaik yang dapat berikatan dengan PBP1b dan PBP2.

Kesimpulan : Senyawa fitokimia *Cladophora* sp. memiliki ikatan terhadap protein PBP1b dan PBP2 sehingga berpotensi menjadi calon obat antibakteri yang baru.

KataKunci : *Cladophora* sp., *Escherichia coli*, *PBP1b*, *PBP2*, *CPD4*, *Moenomycin*, *ADMET*, *In Silico*

*korespondensi:

Yoni Rina Bintari

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

Jl. MT Haryono 193 Malang, Jawa Timur Indonesia, 65145

Email: yonirinabintari@unisma.ac.id

ABSTRACT

Introduction : *Escherichia coli* is a commensal bacteria in the large intestine that has the potential to cause infection. More than 50% of cases of urinary tract infection (UTI) originate from *E. coli*. *Penicillin Binding Proteins* such as PBP1b and PBP2 in *E. coli* function as enzymes that catalyze the formation of cell walls. Several studies have shown that extracts from *Cladophora* sp. has an antibacterial effect against *E. coli* but the mechanism is unknown. Phytochemical screening of chloroform extract has a larger ZOI than decoct. This study looked for phytochemical compounds from *Cladophora* sp. which can bind to both proteins through *in silico* studies in order to obtain new drug candidates.

Method : 44 *Cladophora* sp. compounds were tested *in silico* by binding it to PBP1b and PBP2 proteins using the *Pyrx Autodock Vina* program with *Moenomycin* and *CPD4* controls. Protein and ligand visualization using *BIOVIA discovery studio*. Prediction of the pharmacokinetic profile and physicochemical properties using *pkCSM online tools*.

Result : *Cladophora* sp. has 14 compounds that have bond energy values that exceed the *Moenomycin* control by ΔG -7.4 kcal/mol and the *CPD4* control by ΔG -7.1 kcal/mol. There are 5 best compounds that can bind to PBP1b and PBP2.

Conclusion : The phytochemical compound *Cladophora* sp. has binding interaction to PBP1b and PBP2 proteins so that it has the potential to become a candidate for a new antibacterial drug.

Keyword : *Cladophora* sp., *Escherichia coli*, *PBP1b*, *PBP2*, *CPD4*, *Moenomycin*, *ADMET*, *In Silico*

*correspondence:

Yoni Rina Bintari

Faculty of Medicine, Islamic University of Malang

Jl. MT Haryono 193 Malang, East Java Indonesia, 65145

Email: yonirinabintari@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Escherichia coli menginfeksi manusia melalui konsumsi makanan terkontaminasi.¹ Bakteriemia *E. coli* sering terjadi pada orang dewasa, angka kejadiannya meningkat setelah usia 55-60 tahun.² Pada usia lanjut, infeksi saluran kemih (ISK) yang disebabkan *E. coli* terhitung lebih dari 50% kasus. ISK menjadi infeksi paling sering terjadi dengan tingkat kejadian 30-100 per 1000 orang/tahun di antara orang berusia 60–90 tahun.³ Pemilihan antibiotik bergantung pada agen penyebab, patofisiologi, bersama dengan farmakokinetik dan farmakodinamik obat. Masalah muncul dari peningkatan resistensi antibiotik sehingga protokol pengobatan yang optimal, terutama terhadap bakteri gram negatif menjadi sulit.⁴

Meningkatnya jumlah kasus penyakit oleh bakteri *E. coli* mendorong upaya penelitian untuk menemukan agen antibakteri baru berasal dari sumber alam. Salah satunya *Cladophora sp.*⁵ beberapa penelitian menunjukkan ekstrak dari *Cladophora sp.* memiliki efek antibakteri.⁶ Dekokta *Cladophora sp.* mengandung golongan metabolit sekunder seperti flavonoid, fenolik, terpenoid, dan alkaloid setelah dilakukan skrining fitokimia. Sementara itu, ekstrak kloroform dari *Cladophora sp.* mengandung tanin dan fenolik. Pada uji terhadap bakteri *E. coli*, ekstrak kloroform menunjukkan zona hambat (ZOI) yang lebih besar dibandingkan dengan dekokta.⁷ Penelitian Bintari dan Risandiansyah (2019) menyebutkan *Cladophora sp.* memiliki senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli* yang diteliti dengan pendekatan *in silico* dengan menambatkan pada *Peptide Deformylase* (Pdf). Namun belum dilakukan penambatan pada protein reseptor lain seperti *Penicillin Binding Proteins* (PBP).⁸

PBP *E. coli* diketahui sebagai enzim yang berperan dalam biosintesis dinding sel, pertumbuhan dan pembelahan sel serta target penting untuk antibiotik β -laktam.⁹ β -Laktam menargetkan dan menghambat aktivitas trans-peptidase dari enzim biosintesis dinding sel bakteri esensial PBP. PBP2 berlokasi di dinding lateral bakteri dan di sisi pembelahan dengan peran untuk inisiasi pembelahan sel. Namun, peran utama PBP2 adalah untuk proses elongasi.¹⁰ PBP1b adalah enzim transglukosilase bifungsional yang juga dikenal sebagai peptidoglikan glikosiltransferase atau murein sintase. Enzim ini terdiri dari heliks transmembran (TM) dan dua domain enzimatis, yaitu transglukosilase (TG) dan transpeptidase (TP).¹¹ Dalam penelitian ini, penting untuk mengetahui potensi antibakteri kandungan senyawa fitokimia *Cladophora sp.* dalam menghambat reseptor selain Pdf seperti PBP pada *E. coli*. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan pendekatan *In Silico* metode *molecular docking*.

Prediksi profil farmakokinetik dari senyawa fitokimia *Cladophora sp.* penting untuk menilai kemampuannya dalam adsorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi dan toksisitas. Hal ini bertujuan untuk memastikan bahwa obat baru dapat terikat secara optimal ke target terapeutik, sehingga dapat mencapai situs target dengan konsentrasi yang cukup. Sedangkan Analisa sifat fisikokimia menggunakan aturan Lipinski

rule of five yang digunakan untuk mengetahui sifat mirip obat (*drug likeness*). Oleh karena itu, kami menggunakan web *pkCSM Online Tools* untuk mengevaluasi profil farmakokinetik dan sifat fisikokimia dari senyawa *Cladophora sp.*¹²

METODE PENELITIAN

Desain, Tempat, dan Waktu Penelitian

Penelitian observasional dengan menggunakan metode *In silico*, dan prediksi profil farmakokinetik dan sifat fisikokimia dengan *pkCSM online tools* serta dikerjakan di Laboratorium Riset Kedokteran, Universitas Islam Malang dari bulan Juni hingga Juli 2023.

Alat dan Bahan

Bahan dan alat pada penelitian ini dengan koneksi internet, komputer spesifikasi RAM 12288 MB, Intel® core™ I7-4720, CPU @2.60 GHz, Microsoft Windows 10 Pro 64-bit, dan program *autodock PyRx*. Senyawa aktif *Cladophora sp.* didapatkan dari PubChem, dan struktur *native ligand Moenomycin* (CID PubChem: 137349720) dan *CPD4* (CID PubChem: 138376567) diunduh melalui PubChem (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Struktur protein target PBP1b (PDB ID: 3VMA) dan PBP2 (PDB ID: 6G9S) diunduh dari website *Protein Data Bank* (<https://www.uniprot.org/>). SMILES Online Translator dan Pembuat File Struktur (<https://cactus.nci.nih.gov/translate/>). Program berbasis web pada *pkCSM online tools* (<http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsml/prediction>), program *BIOVIA Discovery* dan program *Autodock Vina PyRx*.

Senyawa fitokimia yang digunakan pada penelitian ini tertulis pada tabel 1. seperti yang dituliskan pada Munir *et al*, 2019. CID pada tabel diambil dari website PubChem.

Tahapan *Molecular Docking*

Struktur senyawa fitokimia *Cladophora sp.* yang diunduh dari PubChem dan struktur *native ligand Moenomycin* (CID PubChem: 137349720) dan *CPD4* (CID Pubchem: 138376567) yang diunduh melalui PubChem (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Struktur tiga dimensi protein target PBP1b (PDB ID:3VMA) dan PBP2 (PDB ID: 6G9S) diunduh dari website *Protein Data Bank* (<https://www.uniprot.org/>). Protein di preparasi dengan mengilangkan molekul air dan ligan dengan program *BIOVIA Discovery*. Proses *docking* menggunakan program *Autodock Vina* pada *software pyRx*.

Tahapan Prediksi fisikokimia dan farmakokinetik (ADMET) senyawa aktif *Cladophora sp.*

Senyawa aktif *Cladophora sp.* dan *native ligand Moenomycin* dan *CPD4* diambil *Canonical SMILES* dari PubChem (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) kemudian di masukkan pada bidang data *Provide SMILES* pada *pkCSM tools* (<https://biosig.lab.uq.edu.au/pkcsml/prediction>). Pada *pkCSM online tools* ini akan didapatkan hasil prediksi yang digunakan untuk senyawa fitokimia *Cladophora sp.* yang diuji berpotensi menjadi obat atau tidak.

Tabel 1. Senyawa Fitokimia *Cladophora sp.*

No.	Kelas Senyawa	Senyawa Aktif	CID
1	Lipid	Glycolipids	44176376
2		Monogalactosyldiacyl glycerol	5327038
3		Digalactosyldiacyl glycerols	15991538
4	Fatty acid	Linolenic	5280934
5		Palmitic	985
6		Hexadecatetraenoic	11957734
7		Oleic acids	445639
8		Palmitoleic	445638
9		Myristic	11005
10		Hexadecanoic acid	985
11		9-methyl-10 hexadecenoic acid	21774888
12	Volatile fraction	Hexahydrofarnesyl acetone	10408
13		Phytol	5280435
14		Dihydroactinidiolide	27209
15		Myrtenal	61130
16		Nonan-2-one	13187
17	Terpense	Cycloartane triterpenes	160497
18		Dihydroactinidiolide	27209
19		Trans-phytol 30-nor-cyclopter-spermol	5280435
20		Dictintriol filican-3-one	100934189
21	Sterols	24-Ethylcholest-5-en-3b-ol	22012
22		24-methylcholesta-5	102298
23		24(28)-dien-3b-ol	101904451
24		Cholesterol	5997
25		β -sitosterol	521199
26		Ergosta-5	5326970
27		Ergosta-5,24(28)-dien-3 β -ol-7-one	6428671
28		Fucosterol	5281328
29		Saringosterol	14161394
30		24-epoxystigmast-5-dien-3 β -ol	440161
31	Hydrocarbons	Hexadec-1-ene	12395
32		Hexadecane	11006
33		Heptadecane	12398
34		Octadecane	11635
35		2,6,9,14 Tetramethylpentadecane	53440699
36	Alcohol	Xylosmacin	191742
37		Sucrose	5988
38	Phenols	Butane-2,3-diol	92527886
39		Benzyl alcohol	244
40	Aldehyde	2-Methylphenol	335
41		Hexanal	6184
42		Oct-2-enal	16900
43	Glycoside	Deca-2,4-dienal	16899
44		β -Sitosteryl-galactoside	102067765

Teknik Analisa Data

Perbandingan nilai energi ikatan bebas dan jumlah residu asam amino yang diikat dengan senyawa aktif *Cladophora* sp. dan native ligan kontrol (*Moenomycin*) dan (*CPD4*) telah diukur untuk protein target PBP1b dan PBP2. Hasil senyawa aktif *Cladophora* sp. diuji dalam pengujian tersebut.

Parameter fisikokimia menggunakan (*Lipinski Rule of Five*) yaitu berat molekul $BM < 500$, hidrogen donor (HBD) < 5 , hidrogen akseptor (HBA) < 10 , logaritma koefisien (LogP) < 5 , dan $PSA < 140 \text{ \AA}$. Data hasil farmakokinetik (ADMET) dinilai pada hasil kelarutan senyawa dalam air.¹³ Senyawa aktif diuji dengan menggunakan indikator absorpsi intestinal dan permeabilitas kulit, serta volume distribusi (VDss) untuk distribusinya. Selain itu, juga diukur kemampuan senyawa untuk menembus Blood Brain Barrier dan jumlah senyawa dalam bentuk tidak terikat (unbound). Untuk mengukur tingkat metabolisme, diindikasikan dengan aktivasi enzim P450, dan untuk ekskresi, diukur dengan total clearance. Indikator toksisitas yang digunakan adalah hepatotoksik.¹²

HASIL PENELITIAN

Hasil dan Analisa data Uji Molecular Docking Senyawa Fitokimia *Cladophora* sp. terhadap PBP1b

Moenomycin sebagai kontrol PBP1b dengan kekuatan -7,4 kcal/mol, memiliki residu asam amino ikatan hidrogen berupa ARG 404, ARG 200, ASP 448, GLU 129, GLN 494, ILE 202, LYS 126 dan ikatan hidrofobik berupa GLU 456, VAL 455, LYS 452, VAL 407, VAL 445, PRO 410, GLN 411, TYR 333, LEU 332, LEU 201, PRO 403, TYR 133, VAL 401, GLN 132, ALA 130 (Tabel 2 dan Gambar 1A). Ikatan terkuat dari senyawa fitokimia *Cladophora* sp. terhadap protein PBP1b adalah *Cycloartane triterpenes* dengan energi ikatan bebas sebesar -10,4 kcal/mol, sedangkan ikatan terlemah adalah *Butane-2,3-diol* dengan energi ikatan bebas sebesar -3,9 kcal/mol. Hasil yang didapatkan dari uji *molecular docking* ini tidak didapatkan residu asam amino yang sama dengan *Moenomycin*. Senyawa fitokimia yang memiliki kesetaraan residu asam amino yang paling mendekati kontrol adalah

Monogalactosyl diacyl glycerol yaitu ikatan hidrogen berupa ARG 200, ARG 404, GLN 132, GLU 129, TYR 133 dan ikatan hidrofobik berupa TYR 333, LEU 332, VAL 407 akan tetapi memiliki energi ikatan bebas sebesar -6,4 kcal/mol yang lebih lemah dari kontrol.

Selain *Cycloartane triterpenes* terdapat senyawa fitokimia yang memiliki kemiripan residu asam amino serta memiliki energi ikatan bebas lebih dari -7,4 kcal/mol yaitu *Dictintriol filican-3-one*, *24-methylcholesta-5*, *Ergosta-5*, *24-epoxystigmast-5-dien-3 β -ol*, *Cholesterol*, β -sitosterol, *24-Ethylcholest-5-en-3 β -ol*, *Ergosta-5,24(28)-dien-3 β -ol-7-one*, *Saringosterol*, β -Sitosteryl-galactoside, *Xylosmacin*.

Hasil dan Analisa data Uji Molecular Docking Senyawa Fitokimia *Cladophora* sp. terhadap PBP2

CPD4 sebagai kontrol PBP2 dengan kekuatan -7,1 kcal/mol, memiliki residu asam amino ikatan hidrogen berupa SER 330, SER 545, THR 547, GLN 455 dan ikatan hidrofobik berupa TRP 370 (Tabel 3 dan Gambar 2A). Ikatan terkuat dari senyawa fitokimia *Cladophora* sp. terhadap protein PBP2 adalah *Saringosterol* dan *24-epoxystigmast-5-dien-3 β -ol* dengan energi ikatan bebas sebesar -8,8 kcal/mol, sedangkan ikatan terlemah adalah *Hexadec-1-ene* dengan energi ikatan bebas sebesar -4,0 kcal/mol. Hasil yang didapatkan dari uji *molecular docking* ini tidak didapatkan residu asam amino yang sama dengan *CPD4*. Senyawa fitokimia yang memiliki kesamaan residu asam amino yang paling mendekati kontrol adalah *Glycolipids* yaitu ikatan hidrogen berupa GLN 455, SER 330, THR 547 dan ikatan hidrofobik berupa TRP 370 akan tetapi memiliki energi ikatan bebas sebesar -5,6 kcal/mol yang lebih lemah dari kontrol.

Selain *Saringosterol* dan *24-epoxystigmast-5-dien-3 β -ol* terdapat senyawa fitokimia yang memiliki kemiripan residu asam amino serta memiliki energi ikatan bebas lebih dari -7,1 kcal/mol yaitu β -sitosterol, *24-methylcholesta-5*, *Fucoesterol*, *Cholesterol*, *Ergosta-5,24(28)-dien-3 β -ol-7-one*, *Ergosta-5*, *24(28)-dien-3 β -ol*, *Dihydroactinidiolide*.

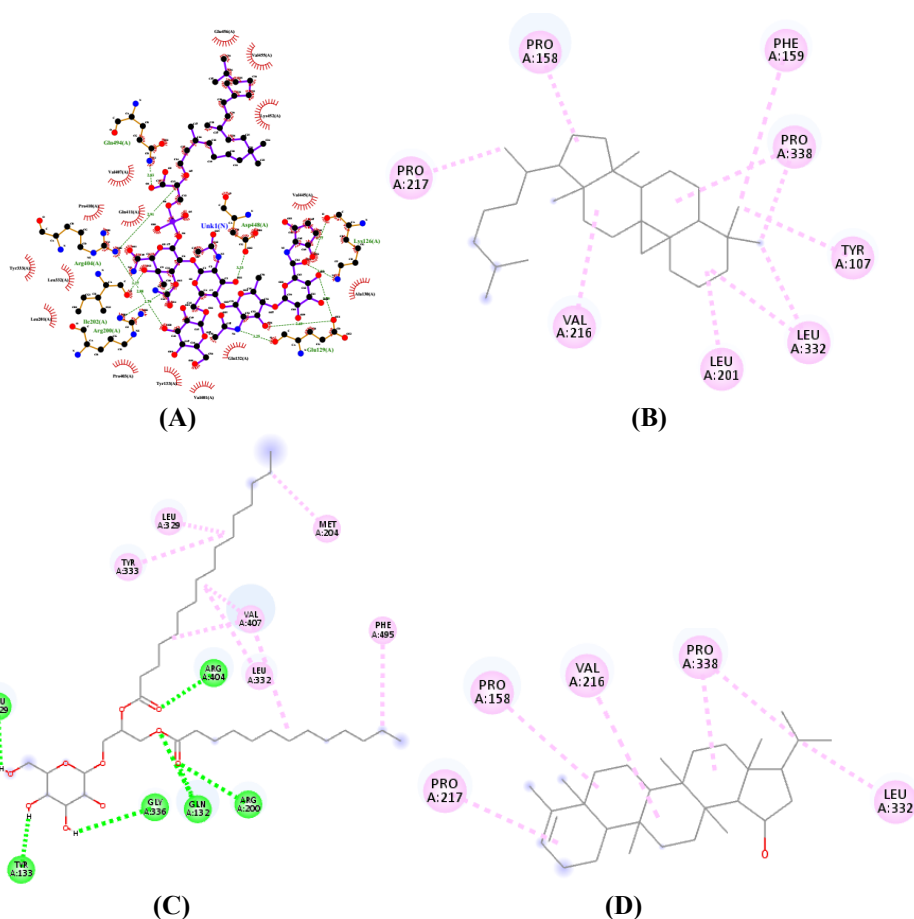
Tabel 2. Hasil Molecular Docking Senyawa Fitokimia *Cladophora* sp. Terhadap Protein Reseptor PBP1b

Ligan	Energi Ikatan Bebas (kcal/mol)	Residu Asam Amino	Jumlah Residu Asam Amino yang sama dengan kontrol	Kesamaan Residu Asam Amino yang terikat dengan <i>Moenomycin</i> (%)
<i>Moenomycin</i>	-7,4	Hidrogen R 404, R 200, D 448, E 129, Q 494, I 202, K 126 Hidrophobic E 456, V 455, K 452, V 407, V 445, P 410, Q 411, Y 333, L 332, L 201, P 403, Y 133, V 401, Q 132, A 130	0/22	0%
<i>Cycloartane triterpenes</i>	-10,4	Hidrophobic P 217, P 158, P 338, F 159, V 216, Y 107, L 201, L 332	2/22	9%
<i>Dictintriol filican-3-one</i>	-10,3	Hidrophobic P 217, P 158, P 338, V 216, L 332	1/22	4%
<i>24-methylcholesta-5</i>	-9,8	Hidrogen K 165 Hidrophobic P 217, P 158, P 338, P 328, V 339, V 216, L 214, L 332, Y 107, F 159	1/22	4%
<i>Ergosta-5</i>	-9,7	Hidrophobic P 158, P 338, P 328, V 339, V 216, L 214, L 332, L 201, Y 107, F 159	2/22	9%
<i>24-epoxystigmast-5-dien-3β-ol</i>	-9,6	Hidrogen R 200 Hidrophobic P 158, P 217, P 338, V 216, L 332, L 201, F 159, K 165, Y 107	3/22	13%

Ligan	Energi Ikatan Bebas (kcal/mol)	Residu Asam Amino	Jumlah Residu Asam Amino yang sama dengan kontrol	Kesamaan Residu Asam Amino yang terikat dengan <i>Moenomycin</i> (%)
Cholesterol	-9,4	Hidrogen K 165 Hydrophobic L 214, L 201, L 332 , P 338, P 158, V 216, V 339	2/22	9%
β -sitosterol	-9,4	Hydrophobic P 217, P 158, P 338, P 328, V 339, V 216, L 214, L 332 , Y 107, F 159	1/22	4%
24-Ethylcholest-5-en-3b-ol	-9,4	Hidrogen K 165 Hydrophobic P 217, P 158, P 338, P 328, V 339, V 216, L 214, L 332 , Y 107, F 159	1/22	4%
Ergosta-5,24(28)-dien-3 β -ol-7-one	-9,4	Hydrophobic P 158, P 338, P 328, V 339, V 216, L 214, L 332 , L 201, Y 107, F 159	1/22	4%
Saringosterol	-9,3	Hidrogen S 219, L 201 Hydrophobic R 200 , P 158, P 217, P 338, V 214, L 332 , L 214, F 159	3/22	13%
β -Sitosteryl-galactoside	-9,2	Hidrogen Q 168, G 167 Hydrophobic P 217, P 158, P 338, L 201, L 332 , V 216, F 159	2/22	9%
24(28)-dien-3b-ol	-8,8	Hidrogen G 97 Hydrophobic F 215, V 99	0/22	0%
Fucosterol	-8,8	Hydrophobic R 157, P 158, P 338, V 216, K 165, F 159	0/22	0%
Xylosmacin	-8,6	Hidrogen D 160, Y 107, V 436, L 201 Hydrophobic A 105, L 214, L 332 , K 437	2/22	9%
Digalactosyldiacyl glycerols	-6,9	Hidrogen N 574, N 703, D 553, T 701, S 572, K 513, Q 551, S 510 Hydrophobic A 613, A 608, R 571, P 550, M 573, L 611, W 548	0/22	0%
Dihydroactinidiolide	-6,7	Hydrophobic L 332, L 201 , L 329, Y 333, P 410, V 407	5/22	22%
Sucrose	-6,6	Hidrogen N 703, N 704, N 705, N 574, T 701	0/22	0%
Monogalactosyldiacyl glycerol	-6,4	Hidrogen R 200, R 404, Q 132 , G 336, E 129, Y 133 Hydrophobic Y 333 , L 329, L 332 , M 204, V 407 , F 495	8/22	36%
Dihydroactinidiolide	-6,4	Hydrophobic P 338, P 328, L 332 , L 214, V 339, V 216, F 159	1/22	4%
Myrtenal	-6,2	Hidrogen T 203 Hydrophobic L 201 , L 329, L 332 , M 204, V 407, Y 333 , I 324	4/22	18%
Palmitoleic	-6,1	Hidrogen R 200 Hydrophobic V 407, Y 333 , L 329, P 410	4/22	18%
Linolenic	-6,1	Hidrogen D 198, L 201, R 200 Hydrophobic L 332 , L 214, P 338, V 339, V 216, P 158	3/22	13%
Hexadecatetraenoic	-6,1	Hidrogen D 198, L 201 , P 199, R 200 Hydrophobic L 332 , L 214, P 338, V 339, V 216, F 159	3/22	13%
9-methyl-10 hexadecenoic acid	-6,0	Hidrogen N 322, I 408 Hydrophobic V 407, Y 333 , I 324, L 329, P 410, L 201 , M 204	4/22	18%
Glycolipids	-5,9	Hidrogen E 239, Y 238, Y 246, S 247, F 237, H 236 Hydrophobic A 294, L 295, I 248	0/22	0%
Deca-2,4-dienal	-5,6	Hidrogen N 322 Hydrophobic L 201 , L 329, L 332, Y 333, V 407	4/22	18%
Hexahydrofarnesyl acetone	-5,6	Hidrogen R 157 Hydrophobic V 216, V 339, P 328, L 214, F 159, L 332 , P 338	1/22	4%
Myristic	-5,5	Hidrogen D 198, L 201 Hydrophobic V 216, V 339, P 338, L 332 , F 159	2/22	9%
Oleic acids	-5,5	Hidrogen L 201 , T 131, R 200 Hydrophobic V 216, V 339, P 338, P 217, F 159	2/22	9%
2-Methylphenol	-5,5	Hidrogen S 319 Hydrophobic L 329, I 324, Y 333	1/22	4%
Phytol	-5,5	Hidrogen P 199 Hydrophobic P 158, F 159, V 216, P 338, L 332	1/22	4%
2,6,9,14 Tetramethylpentadecane	-5,5	Hydrophobic V 216, V 339, P 338, F 159, L 214	0/22	0%
Hexadecanoic acid	-5,4	Hydrophobic F 215, L 102, V 99	0/22	0%

Ligan	Energi Ikatan Bebas (kcal/mol)	Residu Asam Amino	Jumlah Residu Asam Amino yang sama dengan kontrol	Kesamaan Residu Asam Amino yang terikat dengan <i>Moenomycin</i> (%)
Palmitic	-5,3	Hidrogen Y 746, Q 750 Hydrophobic V 111, L 127, I 119, V 445	0/22	0%
Trans-phytol 30-nor-cyclopter-spermol	-5,2	Hidrogen N 289, Y 83 Hydrophobic A 288, I 80, F 76, Y 292, W 285	0/22	0%
Nonan-2-one	-5,1	Hidrogen M 204, T 203 Hydrophobic V 407, Y 333, I 324, L 329	2/22	9%
Octadecane	-5,0	Hydrophobic A 446, R 485, I 119, M 117, V 445, L 127, V 111	1/22	4%
Benzyl alcohol	-5,0	Hidrogen S 319 Hydrophobic L 329, I 324	0/22	0%
Hexadecane	-4,9	Hydrophobic I 80, A 288, Y 83	0/22	0%
Oct-2-enal	-4,8	Hidrogen N 322 Hydrophobic I 324, L 329, M 204, Y 333, V 407	2/22	9%
Heptadecane	-4,7	Hydrophobic L 201, L 332, V 339, V 216, P 338	2/22	9%
Hexadec-1-ene	-4,5	Hydrophobic V 216, F 159, P 338, L 332, L 214, L 201	2/22	9%
Hexanal	-4,1	Hidrogen T 203, M 204 Hydrophobic Y 333, L 329	1/22	4%
Butane-2,3-diol	-3,9	Hidrogen R 157, P 199 Hydrophobic P 338, L 332, F 159	1/22	4%

Keterangan: Data yang ditunjukkan merupakan hasil dari penelitian tentang pengikatan 44 senyawa Fitokimia *Cladophora sp.* terhadap PBP1b dengan kontrol *Moenomycin*.



Gambar 1. Struktur ligan yang berikatan dengan PBP1b

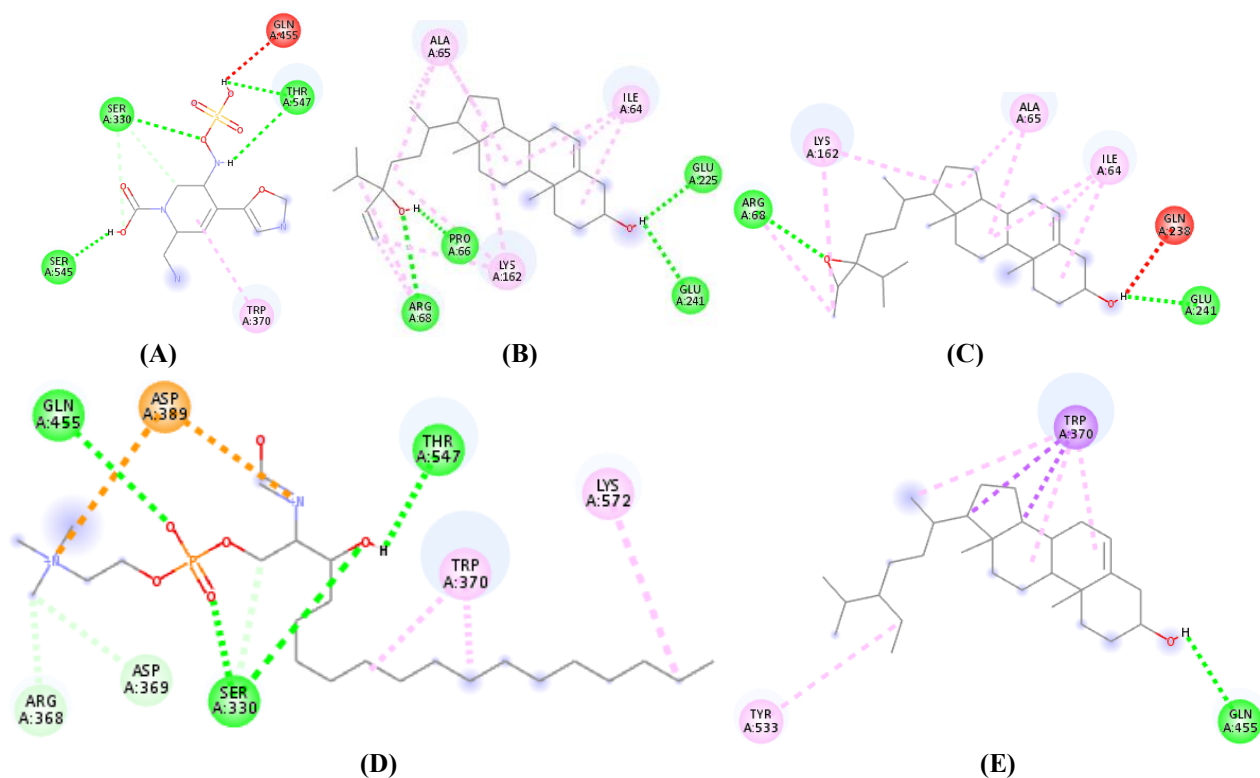
Keterangan : Hasil penambatan ligan *Cladophora sp.* terhadap *Penicillin Binding Protein1b* (A) *Moenomycin*, (B) *Cycloartane triterpenes*, (C) *Monogalactosyldiacyl glycerol*, dan (D) *Dictintriol filican-3-one*.

Tabel 3. Hasil *Molecular Docking* Senyawa Fitokimia *Cladophora sp.* Terhadap Protein Reseptor PBP 2

Ligan	Energi Ikatan Bebas (kcal/mol)	Residu Asam Amino	Jumlah Residu Asam Amino yang sama dengan kontrol	Kesamaan Residu Asam Amino yang terikat dengan CPD4 (%)
<i>CPD4</i>	-7,1	Hidrogen S 330, S 545, T 547, Q 455 Hidrophobic W 370	0/5	0%
Saringosterol	-8,8	Hidrogen E 225, E 241, P 66, R 68 Hidrophobic A 65, I 64, K 162	0/5	0%
24-epoxystigmast-5-dien-3 β -ol	-8,8	Hidrogen E 241, R 68 Hidrophobic K 162, A 65, I 64	0/5	0%
24-Ethylcholest-5-en-3 β -ol	-8,6	Hidrogen E 241 Hidrophobic R 68, A 65, K 162, I 64	0/5	0%
Xylosmacin	-8,6	Hidrogen H 203, A 201, K 162 Hidrophobic R 68, R 164	0/5	0%
β -Sitosteryl-galactoside	-8,6	Hidrogen H 219, P 66, T 202 Hidrophobic Y 161, K 162, I 64, A 65	0/5	0%
β -sitosterol	-8,5	Hidrogen Q 455 Hidrophobic Y 533, W 370	2/5	40%
24-methylcholesta-5	-8,5	Hidrophobic K 532, Y 533, W 370	1/5	20%
Fucosterol	-8,0	Hidrogen Q 455 Hidrophobic W 370	2/5	40%
Dictintriol filican-3-one	-8,0	Hidrophobic K 207, F 297	0/5	0%
Cholesterol	-7,9	Hidrogen Q 455 Hidrophobic W 370	2/5	40%
Ergosta-5,24(28)-dien-3 β -ol-7-one	-7,9	Hidrogen Q 455 Hidrophobic A 329, K 572, Y 533, W 370	2/5	40%
Cycloartane triterpenes	-7,9	Hidrogen V 600, K 572, M 574, W 370	0/5	0%
Ergosta-5	-7,6	Hidrogen Q 455 Hidrophobic W 370	2/5	40%
24(28)-dien-3 β -ol	-7,2	Hidrophobic W 370	1/5	20%
Dihydroactinidiolide	-7,1	Hidrogen S 330 , S 387 Hidrophobic W 370	2/5	40%
Monogalactosyldiacyl glycerol	-6,8	Hidrogen K 162, R 163, P 66 Hidrophobic A 65, K 159, I 64, A 201, H 203, Y 161	0/5	0%
Digalactosyldiacyl glycerols	-6,5	Hidrogen R 68, K 162, H 203, T 202, Y 161 Hidrophobic A 201, K 159, I 64, P 63, V 62, V 235, V 227	0/5	0%
Dihydroactinidiolide	-6,3	Hidrogen T 547 Hidrophobic W 370	2/5	40%
Sucrose	-6,3	Hidrogen S 330 , S 387, D 389, T 547	2/5	40%
Myrtenal	-6,3	Hidrogen R 68 Hidrophobic K 162, V 179	0/5	0%
Linolenic	-5,9	Hidrogen H 219 Hidrophobic H 203, Y 161, A 65, K 162	0/5	0%
Phytol	-5,9	Hidrogen P 66 Hidrophobic R 68, Y 161, A 65, K 162	0/5	0%
Hexadecatetraenoic	-5,8	Hidrogen S 545 , T 547 , K 572 Hidrophobic W 370 , I 453, A 329	3/5	60%
2,6,9,14 Tetramethylpentadecane	-5,8	Hidrophobic A 65, K 162, Y 161, V 179	0/5	0%
9-methyl-10 hexadecenoic acid	-5,7	Hidrogen I 64 Hidrophobic H 203, A 65, H 219, K 162, R 68	0/5	0%
Glycolipids	-5,6	Hidrogen Q 455 , S 330 , T 547 , D 369, R 368 Hidrophobic K 572, W 370	4/5	80%
Oleic acids	-5,5	Hidrogen H 219, T 202 Hidrophobic K 162, A 65, Y 161, H 203, R 68	0/5	0%
Palmitoleic	-5,5	Hidrogen S 545 , T 547 Hidrophobic W 370 , I 453	3/5	60%
2-Methylphenol	-5,4	Hidrogen D 204, H 219 Hidrophobic V 179, H 219	0/5	0%
Palmitic	-5,3	Hidrogen R 164, N 82 Hidrophobic A 65, K 162, H 203	0/5	0%
Heptadecane	-5,3	Hidrophobic R 68, R 164, V 179, K 162, A 65	0/5	0%
Benzyl alcohol	-5,3	Hidrogen H 219 Hidrophobic R 68, V 179	0/5	0%
Nonan-2-one	-5,2	Hidrogen T 202 Hidrophobic V 179, K 162, R 164, R 68	0/5	0%
Deca-2,4-dienal	-5,2	Hidrogen K 162	0/5	0%

Ligan	Energi Ikatan Bebas (kcal/mol)	Hydrophobic R 164, R 68, V 179		
		Residu Asam Amino	Jumlah Residu Asam Amino yang sama dengan kontrol	Kesamaan Residu Asam Amino yang terikat dengan CPD4 (%)
Hexadecane	-5,0	Hydrophobic L 352, P 355, W 357, W 358	0/5	0%
Octadecane	-5,0	Hydrophobic A 65, R 68, K 162	0/5	0%
Myristic	-4,9	Hydrogen K 162, R 164 A 65, Y 161, H 203	0/5	0%
Hexadecanoic acid	-4,9	Hydrogen T 202 Hydrophobic A 65, H 203, V 179, K 162, R 164, R 68	0/5	0%
Oct-2-enal	-4,7	Hydrogen R 68, H 219 Hydrophobic V 179, R 164	0/5	0%
Hexahydrofarnesyl acetone	-4,5	Hydrogen Q 455 Hydrophobic W 370	2/5	40%
Trans-phytol 30-nor-cyclopter-spermol	-4,4	Hydrophobic K 181, K 207, I 301, F 297, Y 306, Y 178	0/5	0%
Hexanal	-4,2	Hydrogen D 204, H 203 Hydrophobic R 164, R 68, V 179	0/5	0%
Butane-2,3-diol	-4,1	Hydrogen E 215 Hydrophobic H 219	0/5	0%
Hexadec-1-ene	-4,0	Hydrophobic I 453, W 370	1/5	20%

Keterangan: Data yang ditunjukkan merupakan hasil dari penelitian tentang pengikatan 44 senyawa Fitokimia *Cladophora sp.* terhadap PBP2 dengan kontrol CPD4.



Gambar 2. Struktur ligan yang berikatan dengan PBP2

Keterangan : Hasil penambatan ligan *Cladophora sp.* terhadap *Penicillin Binding Protein2* (A) CPD4, (B) Saringosterol, (C) 24-epoxystigmast-5-dien-3 β -ol, (D) Glycolipids, (E) β -sitosterol

Hasil dan Analisa sifat Fisikokimia senyawa Fitokimia *Cladophora sp.* menggunakan pkCSM

Prediksi fisikokimia senyawa fitokimia *Cladophora sp.* dilakukan pada web pkCSM, kemudian dideskripsikan hasil dengan indikator (Tabel 4) yaitu berat molekul (<500da), *Hydrogen Bond Donor* (HBD) tidak lebih dari 5, *Hydrogen Bond Acceptor* (HBA) tidak lebih dari 10, koefisien oktanol (LogP <5), dan luas permukaan area dibawah <140 PSA.¹³

Senyawa fitokimia yang berasal dari *Cladophora sp.* sebagian besar memenuhi kriteria *Lipinski rule of five* yang digunakan untuk memprediksi potensi senyawa sebagai kandidat obat. Data pada tabel 4 mengindikasikan bahwa senyawa-senyawa tersebut memiliki sifat fisikokimia yang sesuai dengan minimal tiga indikator atau lebih yang ditentukan oleh aturan *Lipinski* tersebut. Oleh karena itu, 40 senyawa fitokimia *Cladophora sp.* dapat dianggap sebagai calon obat yang potensial berdasarkan persyaratan *Lipinski rule of five*.¹⁴

Hasil dan Analisa profil Farmakokinetik senyawa Fitokimia *Cladophora sp.* menggunakan pkCSM

Senyawa fitokimia yang berasal dari *Cladophora sp.* memiliki absorpsi intestinal yang melebihi 30%. Senyawa yang memiliki nilai kurang dari 30% hanya terdapat 2 senyawa. Selain itu, nilai minimum yang baik untuk absorpsi permeabilitas kulit adalah ketika LogKp kurang dari -2,5. Terdapat 33 senyawa yang memiliki nilai LogKp kurang dari -2,5 dan 11 yang melebihi dari nilai tersebut.¹² Hal ini menunjukkan bahwa senyawa-senyawa tersebut memiliki potensi yang baik dalam penyerapan melalui kulit. Dengan demikian, sebagian besar senyawa fitokimia *Cladophora sp.* memenuhi persyaratan absorpsi intestinal dan juga memiliki potensi dalam penyerapan melalui kulit.

Jika nilai LogVD kurang dari -0,15, maka senyawa tersebut dianggap memiliki volume distribusi yang buruk. Namun, jika nilai LogVD lebih besar dari 0,45, maka senyawa tersebut dianggap memiliki volume distribusi yang bagus.¹² Tabel 5 menunjukkan terdapat 9 senyawa yang memenuhi nilai LogVD. Senyawa

fitokimia dapat dikatakan menembus sawar darah otak jika memiliki nilai LogBB >0,3 dan tidak dapat terdistribusi apabila LogBB <-1. Terdapat 24 senyawa yang dapat menembus sawar darah otak. Terdapat 8 senyawa yang memiliki nilai *unbound* lebih besar dari obat kontrol *CPD4* dan 9 senyawa yang memiliki nilai *unbound* yang lebih tinggi daripada obat kontrol *Moenomycin*. Jika nilai *unbound* senyawa aktif semakin besar, maka akan semakin berikatan dengan protein plasma.

Senyawa fitokimia *Cladophora sp. Linolenic* memiliki potensi untuk mengganggu metabolisme obat. Hal ini disebabkan oleh sifatnya sebagai inhibitor *CYP3A4*. *CYP3A4* adalah enzim yang bertanggung jawab dalam metabolisme obat di dalam tubuh.¹² Terdapat 23 senyawa yang memiliki nilai *total clearance* yang lebih tinggi daripada obat kontrol *CPD4* dan 33 senyawa yang memiliki nilai *total clearance* yang lebih tinggi daripada obat kontrol *Moenomycin*. obat kontrol *CPD4* memiliki efek hepatotoksik dan hanya 4 senyawa memiliki efek hepatotoksik.

Tabel 4. Data Hasil Prediksi sifat Fisikokimia dan Penerapan *Lipinski Rule of Five* dari Senyawa Aktif *Cladophora sp.*, *Moenomycin*, dan *CPD4*.

Senyawa Fitokimia	MW(Da)	HBD	HBA	LogP	PSA(Å)
<i>Moenomycin</i>	1.580,582	18	32	-22,517	627,504
<i>CPD4</i>	334,31	4	8	-0,9285	124,815
Glycolipids	493,646	3	5	4,559	201,490
Monogalactosyldiacyl glycerol	688,984	4	10	70,502	291,190
Digalactosyldiacyl glycerols	949,314	7	15	76,051	397,539
Linolenic	278,436	1	1	56,605	123,830
Palmitic	256,43	1	1	55,523	113,169
Hexadecatetraenoic	248,366	1	1	46,563	110,411
Oleic acids	282,468	1	1	61,085	125,209
Palmitoleic	254,414	1	1	53,283	112,480
Myristic	228,376	1	1	47,721	100,439
Hexadecanoic acid	256,43	1	1	55,523	113,169
9-methyl-10 hexadecenoic acid	268,441	1	1	55,743	118,844
Hexahydrofarnesyl acetone	268,485	0	1	60145	121,105
Phytol	296,539	1	1	63,641	133,778
Dihydroactinidiolide	180,247	0	2	24,384	78,962
Myrtenal	150,221	0	1	21,777	67,484
Nonan-2-one	142,242	0	1	29,359	63,820
Cycloartane triterpenes	412,746	0	0	9,278	188,293
Dihydroactinidiolide	180,247	0	2	24,384	78,962
Trans-phytol 30-nor-cyclopter-spermol	426,729	1	1	80,248	192,398
Dictintriol filican-3-one	414,718	1	1	80,248	187,039
24-Ethylcholest-5-en-3b-ol	398,675	1	1	74,107	179,984
24-methylcholesta-5	412,702	1	1	79,449	186,349
24(28)-dien-3b-ol	412,702	1	1	79,449	186,349
Cholesterol	386,664	1	1	73,887	174,309
β -sitosterol	456,755	0	2	85,956	204,250
Ergosta-5	398,675	1	1	75,548	179,984
Ergosta-5,24(28)-dien-3 β -ol-7-one	398,675	1	1	75,548	179,984
Fucosterol	412,702	1	1	79,449	186,349

Saringosterol	428,701	2	2	69,157	191,144
24-epoxystigmast-5-dien-3 β -ol	428,701	1	2	71,561	191,147
Hexadec-1-ene	224,432	0	0	62,636	103,524
Hexadecane	226,448	0	0	64,876	104,213
Heptadecane	240,475	0	0	68,777	110,578
Octadecane	254,502	0	0	72,678	116,943
2,6,9,14 Tetramethylpentadecane	268,529	0	0	70,815	123,308
Xylosmacin	406,387	5	9	-0,0721	165,876
Sucrose	342,297	8	11	-53,956	130,436
Butane-2,3-diol	378,312	2	2	450,344	145,260
Benzyl alcohol	108,14	1	1	11,789	48,591
2-Methylphenol	108,14	1	1	170,062	48,591
Hexanal	100,161	0	1	17,656	44,725
Oct-2-enal	126,199	0	1	23,218	56,766
Deca-2,4-dienal	152,237	0	1	2,878	68,806
β -Sitosteryl-galactoside	576,859	4	6	5,849	248,833

Keterangan: Polar Surface Activity (PSA), Logarithm of Octanol (Log P), Hydrogen Bond Acceptors (HBA), Hydrogen Bond Donors (HBD), Molecular Weight (MW).

Tabel 5. Data Hasil Prediksi profil Farmakokinetik dari senyawa aktif *Cladophora sp.* menggunakan website pkCSM.

Senyawa Fitokimia	Adsorpsi		Distribusi		Metabolisme		Ekskresi		Toksisitas
	Absorpsi intestinal (%)	Permeabilitas kulit (Log kp)	Volume Distribusi (logL/kg)	Permiabilitas BBB (log BB)	Fraction Unbond (FU)	CYP2D6	CYP3A4	Total Clereance (log ml/min/kg)	
<i>Moenomycin</i>	0	-2.735	-0.078	-4.255	0.378	x	x	0.533	x
<i>CPD4</i>	1.676	-2.735	-0.479	-1.725	0.46	x	x	0.676	v
Glycolipids	58.438	-2.735	-0.172	-1.491	0.28	x	x	1.067	v
Monogalactosyldiacyl glycerol	50.079	-2.735	-1.493	-2.221	0.202	x	x	2.092	x
Digalactosyldiacyl glycerols	36.579	-2.1735	-1.76	-2.854	0.3	x	x	2.203	x
Linolenic	92.836	-2.722	-0.617	-0.115	0.056	x	v	1.991	v
Palmitic	92.004	-2.717	-0.543	-0.111	0.101	x	x	1.763	x
Hexadecatetraenoic	93.999	-2.71	-0.64	-0.032	0.122	x	x	2.012	v
Oleic acids	91.823	-2.725	-0.558	-0.168	0.052	x	x	1.884	x
Palmitoleic	2.51	-2.715	-0.574	-0.084	0.104	x	x	1.817	x
Myristic	92.691	-2.705	-0.578	-0.027	0.171	x	x	1.6	x
Hexadecanoic acid	92.004	-2.717	-0.543	-0.111	0.101	x	x	1.763	x
9-methyl-10 hexadecenoic acid	92.878	-2.715	-0.546	-0.077	0.078	x	x	1.782	x
Hexahydrofarnesyl acetone	93.658	-2.331	0.501	0.802	0.018	x	x	1.52	x
Phytol	90.71	-2.576	0.468	0.806	0	x	x	1.686	x
Dihydroactinidiolide	97.255	-2.671	0.223	0.286	0.533	x	x	1.051	x
Myrtenal	96.869	-2.706	0.482	0.804	0.472	x	x	-0.004	x
Nonan-2-one	94.693	-1.358	0.206	0.657	0.432	x	x	1.502	x
Cycloartane triterpenes	97.498	-2.73	-0.264	1.03	0.068	x	x	0.187	x
Dihydroactinidiolide	97.255	-2.671	0.223	0.286	0.533	x	x	1.051	x
Trans-phytol 30-nor-cyclopter-spermol	96.007	-2.744	0.006	0.725	0	x	x	0.186	x
Dictintriol filican-3-one	94.464	-2.783	0.193	0.781	0	x	x	0.628	x
24-Ethylcholest-5-en-3 β -ol	95.05	-2.862	0.407	0.764	0	x	x	0.57	x
24-methylcholesta-5	95.691	-2.806	0.272	0.784	0	x	x	0.573	x
24(28)-dien-3 β -ol	95.691	-2.806	0.272	0.784	0	x	x	0.573	x
Cholesterol	93.723	-2.841	0.382	0.763	0	x	x	0.589	x
β -sitosterol	96.576	-2.792	0.066	0.749	0	x	x	0.551	x
Ergosta-5	94.691	-2.861	0.426	0.777	0	x	x	0.567	x
Ergosta-5,24(28)-dien-3 β -ol-7-one	94.691	-2.861	0.426	0.777	0	x	x	0.604	x
Fucosterol	94.642	-2.781	0.179	0.764	0	x	x	0.619	x
Saringosterol	92.963	-2.933	0.135	-0.296	0	x	x	0.668	v

24-epoxystigmast-5-dien-3 β -ol	96.277	-2.788	-0.099	-0.164	0	x	x	0.5	x
Hexadec-1-ene	91.522	-2.33	0.667	0.949	0.052	x	x	1.926	x
Hexadecane	91.046	-2.34	0.672	0.939	0.044	x	x	1.85	x
Heptadecane	90.702	-2.517	0.671	0.958	0.018	x	x	1.886	x
Octadecane	90.358	-2.644	0.661	0.977	0	x	x	1.924	x
2,6,9,14-Tetramethylpentadecane	92.842	-2.377	0.695	0.956	0	x	x	1.579	x
Xylosmacin	64.57	-2.735	0.956	-1.073	0.337	x	x	0.1	x
Sucrose	12.848	-2.735	0.193	-4.375	0.673	x	x	1.513	x
Butane-2,3-diol	88.626	-2.743	0.204	0.226	0	x	x	-0.24	x
Benzyl alcohol	89.834	-1.939	0.147	-0.165	0.522	x	x	0.242	x
2-Methylphenol	93.067	-1.835	0.271	0.348	0.482	x	x	0.217	x
Hexanal	95.788	-1.826	0.049	0.512	0.58	x	x	0.436	x
Oct-2-enal	95.588	-2.433	0.147	0.658	0.47	x	x	0.37	x
Deca-2,4-dienal	95.407	-2.316	0.233	0.685	0.362	x	x	0.42	x
β -Sitosteryl-galactoside	79.677	-2.748	-1.163	-0.785	0.078	x	x	0.689	x

Keterangan: Data yang diperlihatkan merupakan hasil uji prediksi ADMET dari Senyawa Fitokimia *Cladophora sp.*, *Moenomycin*, dan *CPD4*.

PEMBAHASAN

Analisa Uji Molecular Docking Senyawa Fitokimia *Cladophora sp.* terhadap PBP1b dan PBP2

Hasil dari penelitian senyawa fitokimia *Cladophora sp.* menunjukkan dari 44 senyawa terdapat 14 senyawa yang mempunyai nilai energi ikatan bebas yang melebihi obat kontrol. Senyawa tersebut mempunyai nilai energi ikatan bebas lebih dari kontrol *Moenomycin* ΔG -7,4 kcal/mol pada protein reseptor PBP1b. Sedangkan pada PBP2 dengan obat kontrol *CPD4* didapatkan hasil lima belas senyawa yang mempunyai nilai energi ikatan yang melebihi obat kontrol *CPD4* ΔG -7,1 kcal/mol.

Energi ikatan bebas mencerminkan jumlah energi yang tersedia untuk melakukan kerja, dan penurunan energi ikatan bebas menunjukkan adanya peningkatan spontanitas interaksi. Semakin tinggi afinitas ikatan antara senyawa dan protein reseptor, semakin tinggi pula potensi senyawa tersebut sebagai obat.¹⁵ Ikatan hidrogen adalah ikatan antara atom hidrogen yang memiliki muatan positif sebagian dengan atom lain yang memiliki sifat elektro-negatif dan memiliki pasangan elektron bebas, seperti oksigen (O), nitrogen (N), dan fluor (F). Ikatan kovalen memiliki kekuatan sebanyak 5 kkal/mol dimana ikatan kovalen memiliki kekuatan yang lebih besar daripada ikatan hidrogen.¹⁶

Residu asam amino senyawa fitokimia *Cladophora sp.* terhadap protein reseptor PBP1b dan PBP2 memiliki beberapa kesamaan pada ikatan tertentu. Protein reseptor PBP1b dengan obat kontrol *Moenomycin* menunjukkan kesamaan residu asam amino sebanyak 33 senyawa. Senyawa aktif yang memiliki kesamaan yang paling mendekati dengan kontrol adalah *Monogalactosyldiacyl glycerol* dengan persentase 36%. Residu asam amino pada senyawa tersebut yang memiliki kesamaan pada ikatan hidrogen ARG 200, ARG 404, GLN 132, GLU 129, TYR 133 dan ikatan hidrofobik TYR 333, LEU 332, VAL 407. Hasil nilai residu asam amino dan energi ikatan bebas protein reseptor PBP1b dengan kontrol *Moenomycin*, senyawa *Cycloartane triterpenes* yang memiliki nilai energi ikatan bebas yang terkuat daripada kontrol dan memiliki kesamaan residu asam amino dengan persentase 9%.

Pada protein reseptor PBP2 dengan obat kontrol *CPD4* menunjukkan kesamaan residu asam amino sebanyak 15 senyawa. Senyawa fitokimia yang

memiliki kesamaan yang mendekati dengan kontrol adalah *Glycolipids* dengan persentase 80%. Kesamaan senyawa tersebut dengan obat kontrol pada ikatan hidrogen GLN 455, SER 330, THR 547 dan ikatan hidrofobik TRP 370. Berdasarkan hasil nilai energi ikatan bebas dan residu asam amino protein reseptor PBP2 dengan kontrol *CPD4*, senyawa *Saringosterol* dan *24-epoxystigmast-5-dien-3 β -ol* yang memiliki nilai energi ikatan bebas yang terkuat daripada kontrol namun tidak memiliki residu asam amino yang sama. Senyawa aktif memiliki potensi untuk membentuk ikatan yang kuat dengan reseptor target jika senyawa tersebut dapat berinteraksi dengan ikatan hidrogen dan berikatan dengan sisi aktif residu asam amino yang sama.¹⁷

Berdasarkan dari hasil nilai energi ikatan bebas dan residu asam amino protein reseptor PBP1b dan PBP2 terdapat 5 senyawa yaitu *24-methylcholesta-5, Cholesterol, β -sitosterol, Ergosta-5, Ergosta-5,24(28)-dien-3 β -ol-7-one* yang memiliki kemiripan residu asam amino terhadap kedua kontrol serta nilai energi bebas yang lebih tinggi daripada kedua kontrol.

Residu asam amino dalam protein target dapat terbentuk melalui dorongan atau tarikan antara unsur ligan dan protein target. Ikatan hidrogen merupakan interaksi antar molekul yang terjadi antara ion dan dikarenakan perbedaan muatan elektromagnetik. Tingginya interaksi tersebut dapat menghasilkan peningkatan afinitas antara senyawa aktif dengan protein target. Oleh karena itu, semakin interaksi ikatan senyawa aktif *Cladophora sp.* dengan protein reseptor PBP1b dan PBP2 meningkat dan memiliki residu asam amino yang sama, maka semakin menunjukkan bahwa senyawa aktif tersebut memiliki potensi sebagai obat antibakteri.¹⁵

Analisa Prediksi Profil Farmakokinetik dan Sifat Fisikokimia Senyawa Fitokimia *Cladophora sp.* dengan pkCSM

Prediksi profil fisikokimia senyawa fitokimia *Cladophora sp.* dengan *Lipinski rule of five* ditunjukkan pada tabel 4. Syarat dari senyawa agar memenuhi *Lipinski rule of five* yaitu berat molekul kurang dari 500 dalton, *Hydrogen Bond Donor* kurang dari 5, *Hydrogen Bond Acceptor* kurang dari 10, luas permukaan kurang dari 140 Å, dan koefisien oktanol atau LogP kurang dari 5.¹³ Berat molekul senyawa kurang dari 500 dalton, agar senyawa tersebut dapat menembus membrane sel.

Koefisien oktanol menunjukkan kecenderungan suatu senyawa dapat menjadi toksik karena dapat tertahan pada lipid bilayer. Nilai hidrogen donor dan akseptor menunjukkan semakin kuat ikatan ligan dengan reseptor protein, semakin tinggi jumlah ikatan dan energi yang dibutuhkan semakin besar.¹⁶ Suatu senyawa dapat dikatakan berpotensi menjadi obat sesuai *Lipinski rule of five* jika memenuhi minimal tiga syarat tersebut. Hasil analisa menunjukkan bahwa hampir seluruh senyawa fitokimia *Cladophora sp.* berpotensi menjadi obat.¹⁴

Prediksi profil farmakokinetik ditentukan dengan website pkCSM. Senyawa dinilai kemampuan absorpsi pada pencernaan dan kulit. Senyawa yang memiliki kemampuan absorpsi pada pencernaan lebih dari 30% dikatakan memiliki kemampuan absorpsi yang baik. Senyawa yang memiliki nilai kurang dari 30% hanya terdapat 2 senyawa. Jika senyawa aktif memiliki nilai LogKp kurang dari -2,5 maka absorpsi pada permeabilitas kulit baik.¹² Absorpsi pada senyawa dapat menjadi parameter aktivitas farmakologis dari senyawa tersebut. Jika terjadi kegagalan pada proses absorpsi maka akan menjadi kegagalan pada pengobatan.¹⁶ Sebanyak 33 senyawa fitokimia *Cladophora sp.* yang memiliki nilai kurang dari -2,5, *Saringosterol* memiliki nilai yang paling rendah sehingga lebih cepat terserap pada kulit. Hal tersebut menunjukkan hampir seluruh senyawa fitokimia *Cladophora sp.* memiliki kemampuan absorpsi yang baik pada pencernaan dan absorpsi melalui kulit.

Evaluasi volume distribusi dilakukan untuk mengukur jumlah total obat yang tersebar secara merata dan memiliki konsentrasi yang setara dalam plasma darah. Nilai LogVD terbagi menjadi 2 yaitu nilai LogVD yang kurang dari -0,15 dan nilai LogVD lebih besar dari 0,45. Jika suatu senyawa memiliki nilai LogVD memiliki nilai yang tinggi maka obat banyak terdistribusi ke jaringan dibandingkan dengan plasma yang membuat dampak negatif menjadi dehidrasi dan kemungkinan gagal ginjal.¹⁶ Terdapat 9 senyawa yang memiliki nilai LogVD yang baik. Prediksi distribusi selain itu adalah penilaian permeabilitas obat dalam menembus sawar darah otak atau *Blood Brain Barrier* (BBB). Prediksi tersebut dapat menunjukkan ada atau tidaknya efek samping dari obat. Senyawa aktif dapat menembus BBB jika memiliki nilai LogBBB >0,3.¹² Prediksi nilai LogBBB digunakan untuk melihat kemampuan suatu obat dapat menembus hingga ke daerah sawar otak.¹⁶ Terdapat 24 senyawa fitokimia *Cladophora sp.* yang dapat menembus BBB. Pada senyawa yang dapat menembus BBB dapat menimbulkan efek samping pada sistem saraf pusat.¹⁶ Prediksi *unbound* menunjukkan 8 senyawa fitokimia *Cladophora sp.* yang memiliki nilai *unbound* lebih dari obat kontrol CPD4 dan 9 senyawa yang memiliki nilai *unbound* yang lebih tinggi daripada obat kontrol *Moenomycin*.¹²

Enzim sitokrom CYP2D6 dan CYP3A4 memiliki peran penting dalam metabolisme obat yang masuk ke dalam tubuh.¹² Kedua sitokrom ini bertanggung jawab untuk memecah obat-obatan menjadi bentuk yang dapat dieliminasi oleh tubuh. Namun, jika sitokrom CYP2D6 dan CYP3A4 dihambat, proses metabolisme obat dalam tubuh dapat terganggu. Senyawa fitokimia *Cladophora*

sp. yang berpotensi menghambat metabolisme adalah *Linolenic*. Senyawa tersebut memiliki sifat sebagai inhibitor CYP3A4. Terdapat 23 senyawa fitokimia *Cladophora sp.* memiliki nilai *total clearance* yang lebih tinggi daripada obat kontrol CPD4 dan 33 senyawa yang memiliki nilai *total clearance* yang lebih tinggi daripada obat kontrol *Moenomycin*. Hanya obat kontrol CPD4 yang memiliki efek hepatotoksik dan hanya 4 senyawa fitokimia *Cladophora sp.* yang memiliki efek hepatotoksik.

KESIMPULAN

Hasil dari penelitian *Molecular Docking* ini menunjukkan 5 senyawa fitokimia *Cladophora sp.* memiliki energi ikatan yang lebih baik daripada kontrol PBP1b dan PBP2. Senyawa tersebut memiliki potensi menghambat PBP1b dan PBP2 karena memiliki kemiripan residu asam amino dengan kontrol *Moenomycin* dan CPD4.

Dari seluruh hasil pengujian senyawa fitokimia *Cladophora sp.* dengan metode *molecular docking*, prediksi fisikokimia dan farmakokinetik, senyawa fitokimia yang memenuhi syarat ketiga indikator tersebut adalah 24-methylcholesta-5, *Cholesterol*, β -sitosterol, *Ergosta-5*, *Ergosta-5,24(28)-dien-3 β -ol-7-one* pada PBP1b dan PBP2. Senyawa ini memiliki potensi menjadi antibakteri pada bakteri *Escherichia coli*.

SARAN

Berikut adalah rekomendasi dari peneliti untuk mendukung penelitian berikutnya

1. Penelitian *in vitro* dan *in vivo* untuk mengetahui efektivitas dan keamanan ekstrak *Cladophora sp.* sebagai antibakteri, khususnya pada senyawa 24-methylcholesta-5, *Cholesterol*, β -sitosterol, *Ergosta-5*, dan *Ergosta-5,24(28)-dien-3 β -ol-7-one*.
2. Penelitian *in silico* untuk mengetahui potensi antibakteri dengan mekanisme yang berbeda, khususnya pada senyawa 24-methylcholesta-5, *Cholesterol*, β -sitosterol, *Ergosta-5*, dan *Ergosta-5,24(28)-dien-3 β -ol-7-one*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Clements, A., Young, J.C., Constantinou, N. and Frankel, G., 2012. Infection strategies of enteric pathogenic *Escherichia coli*. *Gut Microbes*, 3(2): 71–87. doi:<https://doi.org/10.4161/gmic.19182>.
2. Bonten, M., Johnson, J.R., van den Biggelaar, A.H.J., Georgalis, L., Geurtsen, J., de Palacios, P.I., Gravenstein, S., Verstraeten, T., Hermans, P. and Poolman, J.T., 2020. Epidemiology of *Escherichia coli* Bacteremia: A Systematic Literature Review. *Clinical Infectious Diseases*, 72(7). doi:<https://doi.org/10.1093/cid/ciaa210>.
3. Laupland, K.B., Ross, T., Pitout, J.D.D., Church, D.L. and Gregson, D.B., 2007.

- Community-onset Urinary Tract Infections: A Population-based Assessment. *Infection*, 35(3): 150–153. doi:<https://doi.org/10.1007/s15010-007-6180-2>.
4. Roopashree, S., Prathab, A.G. and T, S., 2021. Bacteriological profile and antibiotic susceptibility patterns of wound infections in a tertiary care hospital in South India. *Indian Journal of Microbiology Research*, 8(1): 76–85. doi:<https://doi.org/10.18231/j.ijmr.2021.016>.
 5. Britannica, T. Editors of Encyclopaedia 2017, May 26. Cladophora. *Encyclopedia Britannica*. <https://www.britannica.com/science/Cladophora>
 6. Michalak, I. and Messyas, B., 2020. Concise review of Cladophora spp.: macroalgae of commercial interest. *Journal of Applied Phycology*. doi:<https://doi.org/10.1007/s10811-020-02211-3>.
 7. Santoso, I., Bintari, Y. R., Zainul. F., 2019. 'UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI DEKOKTA DAN EKSTRAK KLOROFORM ALGA Cladophora sp. PADA BAKTERI GRAM POSITIF DAN NEGATIF', *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9): 1689–1699.
 8. Bintari, Y.R. and Risandiansyah, R., 2019. In Silico Study to Assess Antibacterial Activity from Cladophora Sp. on Peptide Deformylase: Molecular Docking Approach. *Borneo Journal of Pharmacy*, 2(1): 20–23. doi:<https://doi.org/10.33084/bjop.v2i1.717>.
 9. Kocaoglu, O. and Carlson, E.E., 2015. Profiling of β -Lactam Selectivity for Penicillin-Binding Proteins in Escherichia coli Strain DC2. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 59(5): 2785–2790. doi:<https://doi.org/10.1128/aac.04552-14>.
 10. Levy, N., Bruneau, J.-M., Le Rouzic, E., Bonnard, D., Le Strat, F., Caravano, A., Chevreuil, F., Barbion, J., Chasset, S., Ledoussal, B., Moreau, F. and Ruff, M., 2019. Structural Basis for E. coli Penicillin Binding Protein (PBP) 2 Inhibition, a Platform for Drug Design. *Journal of Medicinal Chemistry*, 62(9): 4742–4754. doi:<https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b00338>.
 11. Sung, M.T., Lai, Y.T., Huang, C.Y., Chou, L.Y., Shih, H.W., Cheng, W.C., Wong, C.H. and Ma, C., 2009. Crystal structure of the membrane-bound bifunctional transglycosylase PBP1b from Escherichia coli. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(22): 8824–8829. doi:<https://doi.org/10.1073/pnas.0904030106>.
 12. Pires, D.E.V., Blundell, T.L. and Ascher, D.B., 2015. pkCSM: Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity Properties Using Graph-Based Signatures. *Journal of Medicinal Chemistry*, 58(9): 4066–4072. doi:<https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b00104>.
 13. Adriani, 2018. 'Prediksi Senyawa Bioaktif dari Tanaman Sanrego (Lunasia amara Blanco) sebagai Inhibitor Enzim Siklooksigenase-2 (COX-2) melalui Pendekatan Molecular Docking', *Jurnal Ilmiah Pena, Sains dan Ilmu Pendidikan*, 1: 6–11.
 14. <https://dev.drugbank.com/>. Lipinski's rule of five [Internet]. [cited 2023 Jun 28]. Available from: <https://dev.drugbank.com/guides/terms/lipinski-s-rule-of-five>
 15. Liu, J., Fang, L., & Liu, C., 2020. Investigating the influences of intermolecular interactions on viscoelastic performance of pressure-sensitive adhesive by FT-IR spectroscopy and molecular modeling. *Drug development and industrial pharmacy*, 46(6): 1005–1014. <https://doi.org/10.1080/03639045.2020.1764026>
 16. Bintari YR, Damayanti DS. Jurnal Kesehatan Islam Skrining Potensi Essential Oil Pogostemon Cablin Bent Secara In Silico dalam Penghambatannya terhadap ACE II dan TMPRSS2 sebagai Anti Covid-19. 2022;11.
 17. Arrasyid MAA, Damayanti DS, Lestari RD. Studi In Silico Senyawa Aktif Ekstrak Rimpang Jahe Emprit (Zingiber officinale Rosc.) terhadap Penghambatan Asetilkolinesterase , β -Tubulin dan Aktivasi Kanal Kalsium sebagai Antelmintik In Silico Study on Compound Activities of Emprit Ginger Rhizomes. *J Kedokt Komunitas*. 2020;8