

## STUDI *IN SILICO*: POTENSI ANTIBAKTERI SENYAWA AKTIF

### *Cladophora sp.* terhadap PBP 2 dan PBP2a *Staphylococcus aureus*

Riza Ma'rufin, Rio Risandiansyah, Yoni Rina Bintari\*

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

#### ABSTRAK

**Pendahuluan :** Resistensi antibiotik terhadap *S. aureus* meningkat akibat mutasi *Penicillin Binding Protein* (PBP) 2 menjadi *Penicillin Binding Protein* (PBP) 2a. Sehingga dilakukan pencarian antibiotik baru. *Cladophora sp.* mengandung senyawa antibakteri, tapi belum diketahui mekanisme dan potensinya. Penelitian ini memprediksi potensi senyawa aktif *Cladophora sp.* terhadap protein target PBP2 dan PBP2a *S. aureus* menggunakan metode *in silico* dengan pendekatan *molekular docking* serta prediksi farmakokinetik dan fisikokimia menggunakan pkCSM.

**Metode :** Penambatan senyawa aktif *Cladophora sp.* terhadap protein target menggunakan *docking server*. Profil fisikokimia dan farmakokinetik melalui web pkCSM. Analisa data dilakukan secara deskriptif analitik.

**Hasil :** Penambatan kontrol dengan PBP2 memiliki *binding affinity* -5.03 kcal/mol di ikatan Hidrogen dengan residu asam amino LEU219, GLU224. *Beta sitosterol glucoside*, *Hexadecatetraenoic acid*, *Dihydroactinidiolide* berpotensi lebih baik dibanding kontrol, nilainya -6.87 kcal/mol, -6.76 kcal/mol, -6.62 kcal/mol. *Hexadecatetraenoic acid* memiliki kesamaan titik seperti kontrol di GLU224. Penambatan kontrol PBP2a memiliki *binding affinity* -5.16 kcal/mol di ikatan Hidrogen dengan residu asam amino ASP56, ASN57. *Palmitic acid*, *Myristic acid*, *Beta sitosterol glucoside* berpotensi lebih baik dibanding kontrol, nilainya -7.29 kcal/mol, -7.28 kcal/mol, -7.16 kcal/mol. *Palmitic acid* dan *Myristic acid* memiliki kesamaan titik seperti kontrol di ikatan ASN57. Fisikokimia senyawa *Cladophora sp.* yang memenuhi *Lipinski* adalah *Hexadecatetraenoic acid*, *Dihydroactinidiolide*, *Myristic acid*. Senyawa *Cladophora sp.* memiliki profil farmakokinetik yang berpotensi kandidat antibakteri.

**Kesimpulan :** Senyawa pecladophora SPnghambat PBP2 adalah *Beta sitosterol glucoside*, *Hexadecatetraenoic acid*, *Dihydroactinidiolide*. Senyawa penghambat PBP2a adalah *Palmitic acid*, *Myristic acid*, *Beta sitosterol glucoside*. Senyawa yang memenuhi *Lipinski* dan ADMET *Hexadecatetraenoic acid*, *Dihydroactinidiolide* dan *Myristic acid*

**Kata Kunci :** *Cladophora sp.*, *Amoxicillin Clavulanate*, *PBP2a*.

\*Korespondensi

Yoni Rina Bintari, S.Si, M.Sc

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

Alamat: MT. Jalan Haryono no. 193, Kota Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65145

email: yonirinabintari@unisma.ac.id

## IN SILICO STUDY: POTENTIAL ANTIBACTERIAL ACTIVE COMPOUNDS

### *Cladophora sp.* against PBP (*Penicillin Binding Protein*) 2 and PBP2a *Staphylococcus aureus*

Riza Ma'rufin, Rio Risandiansyah, Yoni Rina Bintari\*

Faculty of Medicine University of Islam Malang

#### ABSTRACT

**Introduction :** Antibiotic resistance to *S. aureus* increased due to mutation of *Penicillin Binding Protein* (PBP) 2 to *Penicillin Binding Protein* (PBP) 2a. So the search for new antibiotics was carried out. *Cladophora sp.* contain antibacterial compounds, but the mechanism and potency are not yet known. This study predicts the potency of the active compound *Cladophora sp.* against the target protein PBP2 and PBP2a *S. aureus* using the *in silico* method with a molecular docking approach and pharmacokinetic and physicochemical predictions using pkCSM.

**Method :** The tethering of the active compound *Cladophora sp.* against the target protein using a docking server. Physicochemical and pharmacokinetic profiles via pkCSM web. Data analysis was carried out by analytical descriptive.

**Results :** The control tether with PBP2 has a binding affinity of -5.03 kcal/mol in the hydrogen bond with the amino acid residue LEU219, GLU224. *Beta sitosterol glucoside*, *Hexadecatetraenoic acid*, *Dihydroactinidiolide*. It has a better affinity than the control, the values are -6.87 kcal/mol, -6.76 kcal/mol, -6.62 kcal/mol. *Hexadecatetraenoic acid* has the same point as the control in GLU224. While the control tether with PBP2a has a binding affinity of -5.16 kcal/mol in the hydrogen bond with the amino acid residue ASP56, ASN57. *Palmitic acid*, *Myristic acid*, *Beta sitosterol glucoside* had better affinity than control, the values were -7.29 kcal/mol, -7.28 kcal/mol, -7.16 kcal/mol. *Palmitic acid* and *myristic acid* have similar points as control in the ASN57 bond. Physicochemistry of *Cladophora sp.* Those that meet the Lipinski rule of five are *Hexadecatetraenoic acid*, *Dihydroactinidiolide*, *Myristic acid*. Compounds of *Cladophora sp.* has a pharmacokinetic profile that is a potential antibacterial candidate.

**Conclusion :** PBP2 inhibitor compounds were *Beta sitosterol glucoside*, *Hexadecatetraenoic acid*, *Dihydroactinidiolide*. PBP2a inhibitor compounds were *Palmitic acid*, *Myristic acid*, *Beta sitosterol glucoside*. Lipinski and ADMET compliant compounds were *Hexadecatetraenoic acid*, *Dihydroactinidiolide*, *Myristic acid*

**Keywords :** *Cladophora sp.*, *Amoxicillin Clavulanate*, *PBP2a*.

\*Correspondence:

Yoni Rina Bintari, S.Si, M.Sc

Faculty of Medicine University of Islam Malang

Address: MT. Haryono Street no. 193, Malang City, East Java, Indonesia, 65145

email: yonirinabintari@unisma.ac.id

## PENDAHULUAN

Infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan masalah yang dialami oleh negara berkembang maupun negara maju. Pemberian antibiotik yang tidak sesuai bisa menyebabkan kejadian resistensi antibiotik.<sup>1</sup> Hasil penelitian yang dilakukan di RSUD dr. Moewardi Surakarta menunjukkan resistensi *S. aureus* sebesar 93,75% terhadap antibiotik *Amoxicillin* dari hasil spesimen pus.<sup>2</sup> Meningkatnya kasus resistensi antibiotik terhadap *Staphylococcus aureus* mendorong eksplorasi skrining agen antibakteri baru yang berasal dari alam. Salah satu sumber bahan alam yang belum tereksplorasi adalah makroalga hijau yang banyak ditemukan, seperti *Cladophora sp.*. Bahan alam ini merupakan makroalga yang dapat ditemukan di laut dengan waktu tumbuh yang relatif singkat.<sup>3</sup> *Cladophora sp.* memiliki aktifitas antibakteri, hal ini didukung dengan hasil penelitian yang menunjukkan bahwa hasil ekstraksi dengan metode dekokta, dan etanol 70%, mengandung senyawa aktif seperti *Flavonoid* yang terbukti memiliki sifat antibakteri.<sup>4</sup>

Resistensi bakteri *S. aureus* disebabkan oleh *Penicilin Binding Protein 2a*.<sup>5</sup> Protein PBP2a muncul akibat adanya *gen mecA* yang membuat PBP2 bermutasi sehingga mengakibatkan penurunan afinitas antibiotik terhadap bakteri *S. aureus* sehingga menyebabkan kondisi *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).<sup>6</sup> Selain akibat mutasi penggunaan obat yang tidak sesuai anjuran juga berpengaruh, sehingga dapat menimbulkan resistensi bakteri, peningkatan infeksi nosokomial, perpanjangan penyakit (*prolonged illness*), peningkatan resiko kematian, dan rawat inap semakin lama.<sup>7</sup>

Mekanisme kerja senyawa aktif *Cladophora sp.* terhadap *S. aureus* dilakukan dengan metode *molecular docking* dengan parameter konstanta inhibisi, energi ikatan bebas, interaksi permukaan, dan residu asam amino ikatan senyawa aktif dengan protein target PBP2a dan PBP2 dengan obat *Amoxicillin Clavulanate* sebagai kontrol. Selain *moleculaar docking* diperlukan prediksi profil farmakokinetik senyawa aktif *Cladophora sp.* seperti absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi dan toksisitas (ADMET) untuk mengetahui apakah obat yang baru berpotensi mencapai target dan menghasilkan efek yang aman pada tubuh. Selanjutnya dilakukan uji profil fisikokimia dengan mengikuti syarat *Lipinski Rule of Five*.

## METODE PENELITIAN

### Desain, Tempat, dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara *In Silico* yang dianalisa secara deskriptif analitik di Laboratorium Riset Kedokteran Unisma pada bulan Oktober 2021.

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan untuk melakukan penelitian yaitu komputer dengan spesifikasi CPU Intel® core™ i7 9750H, RAM 16 GB, GPU (*Graphics*

*Processing Unit*) Nvidia® RTX™ 2060 6 GB, sistem operasi Windows 10 Home Single Language 64-bit, koneksi internet, *software* berbasis *web docking server* (<http://www.dockingserver.com>). Serta menggunakan aplikasi berbasis web pkCSM untuk memprediksi sifat fisikokimia dan farmakokinetik senyawa aktif *Cladophora sp.* yang diakses lewat (<http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsm/theory>).

Bahan yang digunakan yaitu 27 struktur senyawa aktif *Cladophora sp.* dengan spesifikasi di **tabel 1**, molekul obat kontrol *Amoxicillin Clavulanate* (CID 6435924) dan *Amoxicillin* (CID 33613) diunduh di *website* Pubchem (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), dan target protein *Penicilin Binding Protein 2a* dengan kode 1VQQ dan *Penicilin Binding Protein 2* kode protein 2OLV diunduh di *protein data bank* (<http://rcsb.org>)

### Pengujian *In Silico* struktur senyawa aktif *Cladophora sp.* pada target protein PBP2a dan PBP2

Struktur senyawa aktif *Cladophora sp.* yang sudah diunduh kemudian diuji menggunakan docking server yang diakses di <http://www.dockingserver.com>. Uji prediksi fisikokimia dan farmakokinetik senyawa aktif *Cladophora sp.* dilakukan di web pkCSM <http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsm/prediction>. selanjutnya mengambil *Canonical SMILES* struktur 27 senyawa aktif di <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>, kemudian mencantumkan *Canonical SMILES* di kolom “Provide SMILES a Strings” yang tersedia di *website* pkCSM setelah memasukkan *Canonical SMILES* klik tombol “ADMET” agar hasil ADMET dan *Lipinski rule of five* dapat diproses hingga keluar hasil.

## TEKNIK ANALISA DATA

Parameter uji *molecular docking* adalah nilai konstanta inhibisi, residu asam amino, Interaksi permukaan, dan energi ikatan bebas. Apabila nilai energi ikatan bebas rendah menunjukkan interaksi ligan dan protein semakin spontan sehingga nilai afinitasnya semakin tinggi. Selanjutnya apabila nilai konstanta inhibisi tinggi maka ligan akan sulit untuk berikatan dengan protein target sebaliknya semakin kecil konstanta inhibisi berarti senyawa tersebut memiliki potensi sebagai obat. Nilai interaksi permukaan dipengaruhi oleh luas permukaan molekul ligan. Jika nilainya tinggi maka peluang senyawa aktif untuk berinteraksi ke target protein semakin besar dan juga menandakan senyawa tersebut memiliki potensi sebagai obat. Nilai residu asam amino ditentukan dengan jumlah nilai afinitas jika tinggi berarti senyawa memiliki potensi sebagai obat.<sup>7</sup> Uji fisikokimia berdasarkan *Lipinski Rule of Five* yaitu berat jenis (BM) <500, nilai koefisien oktanol/air (logP) <5, *hydrogen bond donor* (HBD) <5, *hydrogen bond acceptor* (HBA) <10, luas permukaan <140Å.<sup>8</sup>

**Tabel 1. Senyawa Aktif *Cladophora sp.* dan CID**

Senyawa Fitokimia	CID
2-methylphenol	335
9-methyl-hexadecanoic acid	5312299
Benzyl alcohol	244
Beta-carotene	5280489
Beta-sitosterol	222284
<i>Beta-Sitosterol-glucoside</i>	91884650
Butane-2,3-diol	262
Deca-2,4-dienal	16899
Digalactosyldiacylglycerol	10724471
Dihydroactinidiolide	27209
Eckol	145937
Hexadecatetraenoic acid	182096
Hexahydrofarnesyl acetone	10408
Hexanal	6184
Linoleic acid	5280450
Linolenic acid	5280934
Methoxyphenol	137185888
Monogalactosyl diacylglycerol	5327038
Myristic acid	11005
Myrtenal	61130
Oct-2-enal	16900
Oleic acid	445639
Palmitic acid	985
Palmitoleic acid	445638
Phenyl ester	10352608
Phytol	5280435
Trans-phytol	5280435

Pengujian farmakokinetik senyawa aktif dengan melihat tingkat absorpsi dari nilai absorpsi intestinal dan permeabilitas kulit, distribusi dengan nilai volume distribusi, dan nilai *unbound*. Metabolisme senyawa aktif ditentukan apakah menghambat sitokrom CYP2D6 dan CYP3A4, tingkat ekskresi dengan jumlah *Total Clearance*. Kemudian toksisitas dengan melihat apakah senyawa aktif memiliki sifat hepatotoksik. Hasil *molecular docking* ditentukan pada nilai energi ikatan bebas, konstanta inhibisi, interaksi permukaan, dan residu asam amino dari penambatan struktur senyawa aktif.<sup>9</sup>

## HASIL PENELITIAN

### Pengujian *Molekular Docking* struktur senyawa aktif *Cladophora sp.* PBP2 *S. aureus*

Penambatan 27 struktur senyawa aktif *Cladophora sp.* dengan PBP2 *S. aureus* ditunjukkan di **tabel 2**. Kemudian dipilih hasil terbaik kemudian dibandingkan dengan kontrol. Hasil *docking* jika dirutkan dari yang terbaik ke rendah adalah *Beta sitosterol glucoside*, *Hexadecatetraenoic acid*, *Dihydroactinidiolide*. Interaksi ligan berdasarkan ikatan hidrogen, polar, hidrofobik dan ikatan lainnya. Senyawa aktif *Cladophora sp.* yang memiliki kesamaan residu asam amino terbanyak pada

penambatan PBP2 adalah *Digalactosyldiacylglycerol*.

### Pengujian *Molekular Docking* struktur senyawa aktif *Cladophora sp.* PBP2a *S. aureus*

Penambatan 27 struktur senyawa aktif *Cladophora sp.* dengan PBP2a *S. aureus* ditunjukkan pada **tabel 3**. Kemudian dipilih hasil terbaik kemudian dibandingkan dengan kontrol. Hasil *docking* apabila dirutkan dari yang terbaik ke rendah adalah *Palmitic acid*, *Myristic acid*, *Beta sitosterol glucoside*. Interaksi ligan berdasarkan ikatan hidrogen, polar, hidrofobik dan ikatan lainnya. Senyawa aktif *Cladophora sp.* yang memiliki kesamaan residu asam amino terbanyak pada penambatan PBP2a adalah *Oleic acid*.

### Hasil dan Analisa Fisikokimia senyawa aktif *Cladophora sp.* menggunakan pkCSM

Nilai fisikokimia senyawa aktif *Cladophora sp.* berdasarkan *Lipinski rule of five* ditunjukkan di **tabel 4** dengan syarat berat jenis (BM) <500Da, nilai koefisien oktanol/air (logP) <5, *hydrogen bond donor* (HBD) <5, *hydrogen bond acceptor* (HBA) <10, luas permukaan <140Å.<sup>9</sup> **Tabel 4** menunjukkan bahwa tidak semua senyawa aktif berpotensi menjadi obat. Hasil fisikokimia terdapat 12 senyawa aktif yang memenuhi syarat yaitu *2-methylphenol*, *Benzyl alcohol*, *Butane-2,3-diol*, *Deca-2,4-dienal*, *Dihydroactinidiolide*, *Hexadecatetraenoic acid*, *Hexanal*, *Methoxyphenol*, *Myristic acid*, *Myrtenal*, *Oct-2-enal*, dan *Phenyl ester*.

### Hasil uji prediksi ADMET senyawa aktif *Cladophora sp.* terhadap kontrol

**Tabel 5** menunjukkan hasil absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan toksisitas dari senyawa aktif *Cladophora sp.* Obat yang memiliki nilai absorpsi yang bagus jika memiliki nilai absorpsi intestinal lebih dari 30% dan nilai skin permeability Log Kp <-2.5. Hasil menunjukkan 20 senyawa aktif memenuhi nilai absorpsi intestinal.

Empat senyawa aktif *Cladophora sp.* dengan nilai distribusi (VDss) yang baik adalah *Eckol*, *Hexahydrofarnesyl acetone*, *Myrtenal*, *Phytol*, *Trans-phytol*. Tingkat VDss rendah jika di bawah log VDss <-0,15 dan tinggi jika di atas log VDss >0,45.<sup>9</sup>

Senyawa aktif yang memiliki nilai *unbound* diatas kontrol adalah *Benzyl alcohol*, *Dihydroactinidiolide*, *Hexanal*, *Myrtenal*. Nilai *unbound* berfungsi untuk mengetahui ikatan senyawa aktif terhadap protein plasma, apabila semakin besar nilai *unbound* maka semakin banyak yang berikatan dengan protein plasma.<sup>9</sup>

Obat memiliki tingkat metabolisme yang bagus apabila tidak menghambat *sitokrom* CYP2D6 dan CYP3A4.<sup>9</sup> Senyawa aktif terbut adalah

*2-methylphenol, Benzylalcohol, Butane2,3-diol, Deca 2,4-dienal, Dihydroactinidiolide, Eckol, Hexanal, Myristic acid, Myrtenal, Oct-2-enal, dan Phenyl ester.*

Senyawa dengan nilai total clearancenya lebih baik dibanding kontrol adalah *9-methyl-hexadecanoic acid, Butane-2,3-diol,*

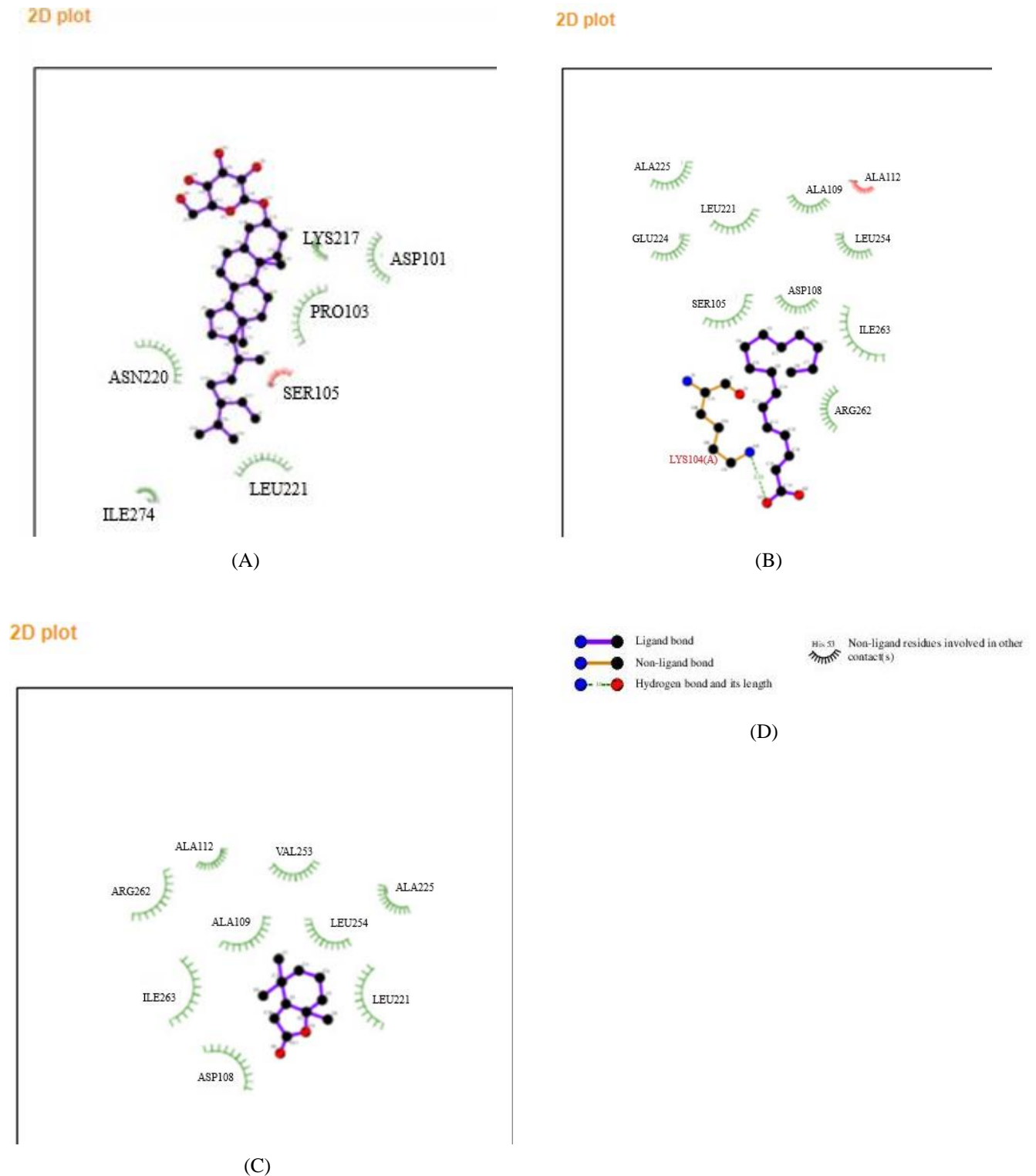
*Dihydroactinidiolide, Hexadecatetraenoic acid, Myristic acid.* Semua senyawa aktif tidak bersifat hepatotoksik kecuali *Linoleic acid* dan *Linolenic acid*. Senyawa disebut hepatotoksik apabila dapat membuat efek patologis atau mengganggu fungsi hepar.<sup>9</sup>

**Tabel 3. Hasil Molecular Docking Senyawa Aktif *Cladophora sp.* terhadap PBP2 *S. aureus*.**

Ligan	Energi ikatan bebas (kcal/mol)	Konstanta Inhibisi (uM)	Interaksi Permukaan (Å)	Residu Asam Amino	Jumlah residu asam amino yang sama dibanding kontrol positif	Persentaseke samaan residua asam amino terhadap kontrol positif
Amoxicillin Clavulanate	-5.03	206.37uM	532.079	<b>Ikatan Hidrogen LEU219, GLU224</b> <b>Polar SER105, GLU224</b> <b>Hidrophobic PRO103, LEU221</b> <b>Lainnya PRO103, SER105, LEU219, LEU221, GLU224</b>	-	-
Amoxicillin	-4.90	255.18 uM	488.122	Ikatan Hidrogen LYS107, LYS217 Polar ASP101 Hidrophobic PRO103 Lainnya ASP101, PRO103, LYS107, LYS217	2/11	18%
<i>Beta-Sitosterol-glucoside</i>	-6.87	9.28uM	879.035	Polar ASP101 Hidrophobic <b>PRO103, LEU221, ILE274</b> Lainnya ASP101, <b>PRO103, SER105, LYS217, ASN220</b>	4/11	36%
Hexadecate traenoic acid	-6.76	11.17 uM	599.805	Ikatan Hidrogen LYS104 Hidrophobic ALA109, ALA112, <b>LEU221, ALA225, LEU254, ILE263</b> Lainnya <b>SER105, ASP108, GLU224, ARG262</b>	3/11	27%
Dihydroacti nidiolide	-6.62	14.06 uM	437.068	Polar ASP108, ARG262 Hidrophobic ALA109, ALA112, <b>LEU221, ALA225, VAL253, LEU254, ILE263</b> Lainnya ASP108, ARG262, ILE263	1/11	9%
Beta-sitosterol	-6.43	19.39 uM	654.673	Polar ASP101 Hidrophobic <b>PRO103, LEU221</b> Lainnya ASP101, LYS104, <b>SER105, LYS217, GLU224</b>	4/11	36%
Hexahydrof arnesyl acetone	-6.32	23.15uM	622.679	Polar <b>SER105</b> Hidrophobic ALA109, ALA112, <b>LEU221, LEU225, LEU254, ILE263</b> Lainnya LYS104, <b>SER105, ASP108, GLU224, ARG262</b>	4/11	36%
Myrtenal	-6.04	37.19 uM	350.783	Hidrophobic VAL102, <b>PRO103, LEU192, ILE204, LEU216, LEU219, LEU227</b>	2/11	18%

				Lainnya VAL102, VAL110, LEU192, GLU224		
Linoleic acid	-6.00	40.11uM	662.199	Polar ARG262	1/11	9%
				Hidrophobic ALA109, ALA112, <b>LEU221</b> , <b>VAL253</b> , ILE263		
				Lainnya SER105, ASP108, ALA112, GLU224, ARG262, GLN267		
Myristic acid	-5.96	42.65uM	570.315	Polar ARG262	1/11	9%
				Hidrophobic ALA109, <b>LEU221</b> , LEU254, ILE263		
				Lainnya SER105, ASP108, ALA112, GLU224, GLN267		
Palmitic acid	-5.82	54.27 uM	621.427	Ikatan Hidrogen LYS104	1/11	9%
				Polar ASP108		
				Hidrophobic ALA109, <b>LEU221</b> , ALA225, VAL253, LEU254, ILE263		
				Lainnya LYS104, SER105, ASP108, ARG262, GLN267		
Linolenic acid	-5.77	59.26uM	643.545	Polar ARG262	2/11	18%
				Hidrophobic <b>PRO103</b> , ALA109, <b>LEU221</b> , LEU254, ILE263		
				Lainnya LYS104, SER105, ASP108, ALA112, GLU224, ILE263		
Methoxyphenol	-5.72	64.27uM	497.863	Ikatan Hidrogen SER105, ASP108, GLU224, ARG262	2/11	18%
				Polar ASP108, GLU224, ARG262		
				Hidrophobic ALA109, <b>LEU221</b> , ALA225, VAL253, ILE263		
				Lainnya SER105, ASP108, ALA109, ALA112, <b>LEU221</b> , GLU224, ILE263		
Palmitoleic acid	-5.57	82.99 uM	576.429	Polar SER105, GLN267	1/11	9%
				Hidrophobic ALA109, ALA112, <b>LEU221</b> VAL253, LEU254, ILE263		
				Lainnya SER105, ASP108, GLU224, ARG262		
Oleic acid	-5.43	104.52 uM	637.378	Hidrophobic ALA109, ALA112, <b>LEU221</b> , ALA225, VAL253, LEU254, ILE263	2/11	18%
				Lainnya SER105, ASP108, <b>LEU221</b> , ARG262, GLN267		
Eckol	-5.40	109.25uM	616.63	Ikatan Hidrogen <b>SER105</b>	5/11	45%
				Polar <b>SER105</b> , ASP108, GLN267		
				Hidrophobic <b>LEU221</b> ,		
				Lainnya <b>SER105</b> , ASP108, LYS217, <b>LEU221</b> , ILE263, GLN267		
Phenylester	-5.29	132.50 uM	496.71	Polar ASP108	-/11	0%
				Hidrophobic ALA109, ALA112, LEU221, ALA225, ILE263		
				Lainnya SER105, ASP108, LEU221, GLU224, ARG262, ILE263		
Deca-2,4-dienal	-5.08	188.29 uM	465.23	Polar <b>SER105</b> , ASP108	3/11	33%
				Hidrophobic ALA109, <b>LEU221</b> , ALA225, VAL253, LEU254, ILE263		
				Lainnya <b>SER105</b> , ASP108, ARG262, ILE263		

Phytol	-4.91	253.04uM	662.635	Polar GLN267 Hidrophobic ALA109, ALA112, LEU221, VAL253, LEU254, ILE263 Lainnya SER105, ASP108, GLU224, GLN267	-/11	0%
9-methyl- hexadecano ic acid	-4.70	356.77uM	636.722	Ikatan Hidrogen HIS258 Hidrophobic LEU221, ILE263 Lainnya SER105, ASP108, ALA112, GLU224, ILE263, GLN267	3/11	27%
Oct-2-enal	-4.55	459.45 uM	305.139	Hidrophobic VAL102, PRO103, VAL110, ILE204, LEU216, LEU219, LEU227, ALA228 Lainnya ALA109, VAL110, GLU224	2/11	18%
2- methylphen ol	-4.43	563.20uM	270.692	Polar GLU224 Hidrophobic ALA109, ILE204, LEU216, LEU219, LEU227, ALA228 Lainnya PRO103, LEU219, GLU224	4/11	36%
Benzyl alcohol	-4.41	582.63uM	274.755	Ikatan Hidrogen LYS107 Hidrophobic PRO103, ALA109, VAL110, ILE204, LEU227, ALA228 Lainnya VAL102, PRO103, GLU224	3/11	27%
Trans- phytol	-4.27	740.34 uM	657.524	Polar ARG262 Hidrophobic ALA109, LEU221, ALA225, VAL253, LEU254, ILE263 Lainnya LYS104, SER105, ASP108, ALA112, ARG262	1/11	9%
Butane-2,3- diol	-4.15	913.83uM	246.315	Polar GLU224 Hidrophobic LEU216, LEU219, LEU227 Lainnya PRO103, LEU216, LEU219, GLU224	5/11	45%
Monogalact osyl diacylglyce rol	-3.94	1.29uM	1037.839	Ikatan Hidrogen SER1052 Polar GLU224 Hidrophobic PRO103, LEU221 Lainnya PRO103, LYS104, SER105, ASP108, LYS217, GLN267	3/11	27%
Hexanal	-3.56	2.47uM	267.706	Hidrophobic PRO103, ALA109, ILE204, LEU216, LEU219, LEU227 Lainnya VAL102, PRO103, GLU224	3/11	27%
Digalactosy ldiacylglyc erol	+325.44	-	1116.12	Ikatan Hidrogen SER105, ALA109 Polar GLU224, ARG262, GLN267 Hidrophobic PRO103, ALA109, LEU221, LEU254, ILE263, TRP268, ALA271 Cation-pi TRP268 Lainnya LYS100, LYS104, SER105, ASP108, ALA112, LEU221, ALA225, VAL253, LEU254	6/11	54%
Beta- carotene	+464.24	-	1092.953	Hidrophobic ALA109 TYR107, TYR197, LEU227, LEU230, ILE263 Lainnya LYS104, SER105, ASP108, TYR197, TYR21, GLU224, GLN267	2/11	18%



**Gambar 1.** Struktur ligan yang berikatan dengan *Penicillin Binding Protein 2* yaitu (A) *Beta sitosterol glucoside*, (B) *Hexadecatetraenoic acid*, (C) *Dihydroactinidiolide*, (D) **Keterangan gambar.**

**Keterangan :** Senyawa aktif *Cladophora sp.* yang memiliki nilai energi ikatan bebas paling tinggi terhadap *Penicillin Binding Protein 2*.

Tabel 4. Hasil *Molecular Docking* Senyawa Aktif *Cladophora sp.* terhadap PBP2a *S. aureus*.

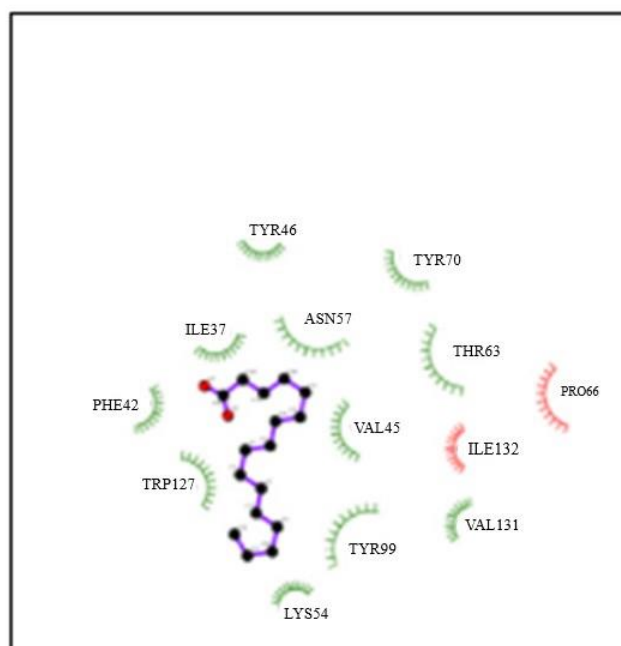
Ligan	Energi ikatan bebas (kcal/mol)	Konstanta Inhibisi (uM)	Interaksi Permukaan (Å)	Residu Asam Amino	Kesamaan Jumlah residu asam amino sama dibanding kontrol positif	Persentase kesamaan residua asam amino terhadap kontrol positif
Amoxicillin Clavulanate	-5.16	164.22uM	503.787	<b>Ikatan Hidrogen ASP56, ASN57</b> <b>Polar ASN57, ARG65, ASP139</b> <b>Hidrophobic VAL60</b> <b>Pi-pi HIS129</b> <b>Cation-pi HIS129</b> <b>Lainnya ASP56, ASN57, GLU61, HIS129, LYS138, ASP139</b>	-	-
Amoxicillin	-5.08	189.77uM	505.641	Ikatan Hidrogen ASN57 Polar ASN57, HIS129, ASP139 Hidrophobic VAL60 Cation-pi HIS129 Lainnya ASN57, GLU61, HIS129, ASP139	10/14	71%
Palmitic acid	-7.29	4.54uM	555.681	Hidrophobic ILE37, PHE42, VAL45, TYR45, PRO66, TRP127, VAL131, ILE132 Lainya ILE37, PHE42, VAL45, LYS54, ASN57, THR63, TYR70, TYR99, TRP127, VAL131	1/14	7%
Myristic acid	-7.28	4.64uM	531.082	Polar SER49, ASN57 Hidrophobic ILE37, PHE42, VAL45, TYR46, PRO66, TYR70, ILE78, TRP127, VAL131, ILE132 Lainya LYS40, TYR46, SER49, LYS54, ASN57, THR63, THR70, TYR99, TRP127	2/14	14%
<i>Beta-Sitosterol-glucoside</i>	-7.16	5.67uM	770.522	Polar TYR46, GLU59 Hidrophobic <b>VAL60</b> , HIS129 Lainya GLU59, <b>VAL60, GLU61, ARG65, LYS138, ASP139</b> , ASP304	6/14	42%
Dihydroactinidiolide	-7.06	6.69 uM	371.593	Polar TRP127 Hidrophobic TYR46, TRP127 Lainya VAL45, TYR46, SER49, SER53, LYS54, ASN57, THR63, TRP127	1/14	7%
Palmitoleic acid	-6.89	8.93uM	537.158	Ikatan Hidrogen TYR70 Hidrophobic ILE37, PHE42, VAL45, TYR127, VAL131 Lainya ILE37, PHE42, VAL45, SER49, LYS54, ASN57, THR63, TRP127	1/14	7%
Deca-2,4-dienal	-6.66	13.18 uM	418.084	Ikatan Hidrogen TYR70 Hidrophobic ILE37, PHE42, VAL45, TYR46, TRP127, VAL131 Lainya ILE37, PHE42, THR63, TYR70, TYR99, TRP127	-/14	0%
Eckol	-5.97	42.36uM	446.589	Ikatan Hidrogen TYR46 Polar TYR46, SER55 Hidrophobic <b>VAL60</b> Cation-pi TYR46 Lainya TYR46, <b>VAL60, GLU61</b>	3/14	21%
Hexadecatetraenoic acid	-5.89	48.45 uM	544.043	Polar TYR70 Hidrophobic ILE37, PHE42, VAL45, TYR46, PRO66, TRP127, VAL131, ILE132 Lainya ILE37, PHE42, VAL45, SER49, SER53, LYS54, ASN67, THR63, TRP127	-/14	0%



Beta-sitosterol	-5.74	62.33uM	623.151	Hidrophobic <b>VAL60, HIS129</b> Lainya <b>ASN57, GLU59, GLU61, ARG65, HIS129, LYS138</b>	7/14	50%
Oct-2-enal	-5.72	63.85uM	314.963	Polar TRP127 Hidrophobic ILE37, PHE42, VAL45, PRO66, VAL131, ILE132 Lainya THR63, TYR70, TYR99, TRP127	-/14	0%
Phenyl ester	-5.70	66.12uM	412.692	Ikatan Hidrogen THR63 Polar TRP127 Hidrophobic PRO66, TRP127 Pi-pi TYR46, TRP127 Lainya PHE42, VAL45, SER49, LYS54, <b>ASN57, GLU61, THR127</b>	2/14	14%
Linoleic acid	-5.40	110.16uM	562.349	Polar TRP127 Hidrophobic ILE37, PHE42, VAL45, VAL46, TYR45, PRO66, TYR70, TRP127, VAL131, ILE132 Lainya TYR46, LYS54, <b>ASN57, THR63, TYR70, TYR99, TRP127</b>	1/14	7%
2-methylphenol	-5.32	126.65uM	270.512	pi-pi TYR46, TRP127 Lainya SER49, LYS54, <b>ASN57, THR63, TRP127</b>	1/14	7%
Benzyl alcohol	-5.17	162.89uM	273.051	Ikatan Hidrogen TYR70 Hidrophobic ILE37, PHE42, VAL45, PRO66, TYR70, VAL131, ILE132 Lainya ILE37, LYS40, PHE42, TYR70, TYR99, TRP127	-/14	0%
Myrtenal	-5.03	206.89 uM	351.005	Polar TRP127 Hidrophobic VAL45, TYR46, TRP127 Lainya VAL45, LYS54, THR63, TRP127	-/14	0%
Butane-2,3-diol	-4.98	223.00 uM	245.291	Ikatan Hidrogen TYR70 Polar TYR70, TYR99 Hidrophobic ILE37, PHE42, VAL45, VAL131 Cation-pi PHE42, TYR70 Lainya ILE37, PHE42, ILE132	-/14	0%
Methoxyphenol	-4.45	542.83 uM	359.678	Ikatan Hidrogen TYR46, LYS54, SER55 Polar TYR46 Cation-pi TYR46 Lainya TYR46, SER55, GLU59	-/14	0%
Hexanal	-4.34	656.97 uM	271.51	Polar TRP127 Hidrophobic ILE37, PHE42, VAL45, TYR70, VAL131, ILE132 Lainya PHE42, TYR70, TRP127	-/14	0%
Linolenic acid	-3.27	4.00 uM	585.468	Ikatan Hidrogen LYS68 Polar <b>ARG65</b> Hidrophobic <b>VAL60, HIS129</b> Lainya <b>ASN57, VAL60, GLU61, ARG65, HIS129, LYS138</b>	9/14	57%
Monogalactosyl diacylglycerol	-3.24	4.20uM	811.179	Hidrophobic VAL60, <b>HIS129</b> Lainya LYS43, <b>ASN57, GLU59, GLU61, GLU64, ARG65, LYS138, ASP139</b>	6/14	42%
Phytol	-3.01	6.19uM	554.225	Hidrophobic <b>VAL60, HIS129</b> Lainya <b>ASN57, GLU61, ARG65, HIS129, LYS138, ASP139</b>	8/14	57%
Trans-phytol	-2.85	8.12uM	568.5	Hidrophobic <b>VAL60, HIS129</b> Lainya <b>ASN57, GLU61, ARG65, HIS129, LYS138, ASP139</b>	8/14	57%
Hexahydrofarnesyl acetone	-2.65	11.37 uM	549.358	Polar <b>GLU61</b> Hidrophobic <b>HIS129</b>	8/14	57%

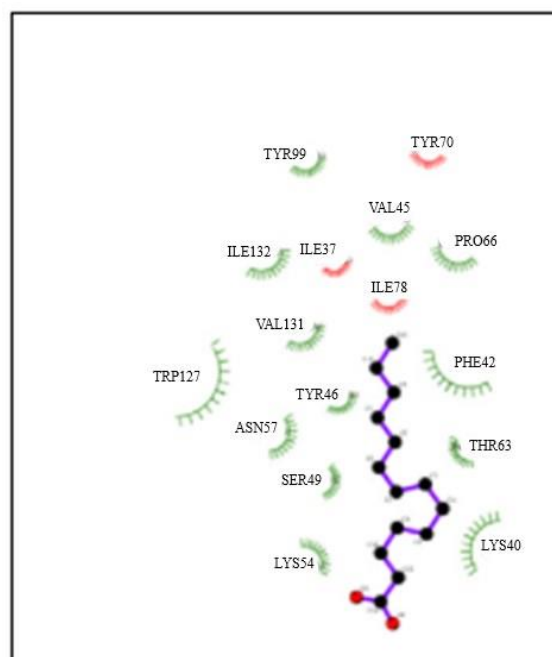
				Lainya ASN127, VAL60, GLU61, ARG65, HIS129, LYS138, ASP139 ASP304		
9-methyl-hexadecanoic acid	-2.59	12.73uM	547.752	Hidrophobic VAL60, HIS129 Lainya ASN57, GLU61, ARG65, HIS129, LYS138	7/14	50%
Oleic acid	-2.48	15.11uM	546.498	Ikatan Hidrogen LYS68 Polar ARG65, LYS68 Hidrophobic VAL60, HIS129 Lainya ASN57, VAL60, GLU61, ARG65, HIS129, LYS138, ASP139	10/14	71%
Beta-carotene	-0.75	283.77uM	713.211	Hidrophobic TYR46 Lainya TYR46, LYS47, LYS54	-/14	0%
Digalactosyldia cylglycerol	+18.19	-	854.074	Ikatan Hidrogen GLU59 Polar TYR46, GLU59 Hidrophobic TYR46, VAL60 Lainya TYR46, LYS47, LYS54, GLU59, VAL60, GLU61	3/14	21%

2D plot

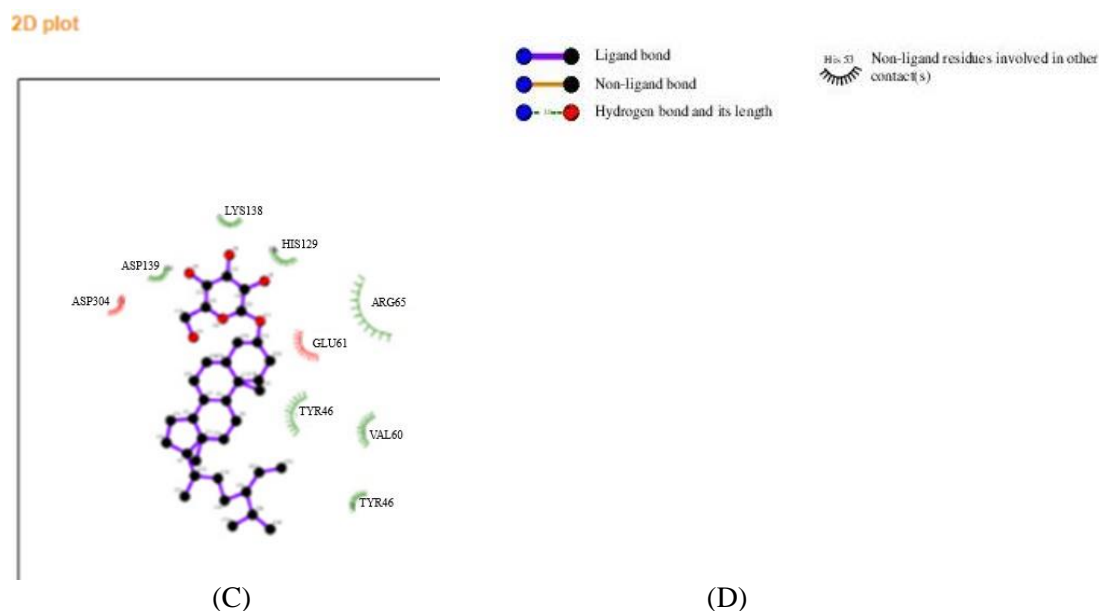


(A)

2D plot



(B)



**Gambar 1. Struktur ligan yang berikatan dengan *Penicillin Binding Protein 2* yaitu (A) *Beta sitosterol glucoside* (B) *Hexadecatetraenoic acid* (C) *Dihydroactinidiolide*, (D) Keterangan gambar.**

**Keterangan :** Senyawa aktif *Cladophora sp.* yang nilai energi ikatan bebas tertinggi terhadap *Penicillin Binding Protein 2*.

**Tabel 4. Hasil Prediksi *Lipinski Rule of Five* dari Senyawa Aktif *Cladophora sp.*, dan kontrol *Amoxicillin Clavulanate***

Senyawa Aktif	BM	HBD	HBA	LogP	PSA
Amoxicillin Clavulanate	564	7	14	-1.07	133,622
Amoxicillin	365	5	8	0.023	90,693
2-methylphenol	108	1	1	1.70	32,843
9-methyl-hexadecanoic acid	270	1	2	5.79	82,494
Benzyl alcohol	108	1	1	1.17	32,364
Beta-carotene	536	0	0	12.60	181,392
Beta-sitosterol	414	1	1	8.02	128,216
Beta-sitosterol-glucoside	576	4	6	5.84	160,850
Butane-2,3-diol	90	2	2	-0.25	23,361
Deca-2,4-dienal	152	0	1	2.87	48,485
Digalactosyldiacylglycerol	916	7	15	6.37	242,862
Dihydroactinidiolide	180	0	2	2.43	50,211
Eckol	372	6	9	3.76	91,304
Hexadecatetraenoic acid	250	1	2	4.88	77,665
Hexahydrofarnesyl acetone	268	0	1	6.01	85,399
Hexanal	100	0	1	1.76	30,205
Linoleic acid	280	1	2	5.88	86,993
Linolenic acid	278	1	2	5.66	86,899
Methoxyphenol	219	4	4	1.49	60,728
Monogalactosyl diacylglycerol	688	4	10	7.05	187,331
Myristic acid	228	1	2	4.77	68,713
Myrtenal	150	0	1	2.17	44,141
Oct-2-enal	126	0	1	2.32	39,345
Oleic acid	282	1	2	6.10	87,087
Palmitic acid	256	1	2	5.55	77,947
Palmitoleic acid	254	1	2	5.32	77,853
Phenyl ester	194	0	3	2.23	53,776
Phytol	296	1	1	6.36	95,561
Trans-phytol	296	1	1	6.36	95,561

Tabel 5. Hasil pkCSM Senyawa Aktif *Cladophora sp.*, Amoxicillin Clavulanate.

Senyawa Aktif	Absorpsi		Distribusi		Metabolisme		Ekskresi	Toksitas
	Absorpsi intestinal (%)	Skin Permeability (Log Kp)	Volume Distribusi (log L/kg)	Unbond (FU)	<i>CYP2D6 inhibitor</i>	<i>CYP3A4 inhibitor</i>	Total Clearance (log ml/min/kg)	Hepatotoksik
Amoxicillin Clavulanate	2,075	-2,735	-1,824	0,493	Tidak	Tidak	0,39	Ya
Amoxicillin	37,356	-2,735	-0,853	0,753	Tidak	Tidak	0,357	Ya
2-methylphenol	93,067	-1,835	0,271	0,482	Tidak	Tidak	0,217	Tidak
9-methyl-hexadecanoic acid	92,372	-2,717	-0,515	0,074	Tidak	Ya	1,724	Tidak
Benzyl alcohol	89,834	-1,939	0,147	0,522	Tidak	Tidak	0,242	Tidak
Beta-carotene	91,732	-2,741	0,266	0	Tidak	Ya	1,061	Tidak
Beta-sitosterol	94,464	-2,783	0,193	0	Tidak	Ya	0,628	Tidak
<i>Beta-Sitosterol-glucoside</i>	79,677	-2,748	-1,163	0,078	Tidak	Ya	0,689	Tidak
Butane-2,3-diol	86,568	-3,957	-0,323	0,822	Tidak	Tidak	0,683	Tidak
Deca-2,4-dienal	95,407	-2,316	0,233	0,362	Tidak	Tidak	0,42	Tidak
Digalactosyldiacylglycerol	33,573	-2,735	-1,608	0,292	Tidak	Ya	2,199	Tidak
Dihydroactinidiolide	97,255	-2,671	0,223	0,533	Tidak	Tidak	1,051	Tidak
Eckol	67,167	-2,735	0,595	0,082	Tidak	Tidak	0,232	Tidak
Hexadecatetraenoic acid	93,523	-2,722	-0,635	0,112	Tidak	Ya	1,962	Tidak
Hexahydrofarnesyl acetone	93,658	-2,331	0,501	0,018	Tidak	Ya	1,52	Tidak
Hexanal	95,788	-1,826	0,049	0,58	Tidak	Tidak	0,436	Tidak
Linoleic acid	93,329	-2,723	-0,587	0,054	Tidak	Ya	1,936	Ya
Linolenic acid	92,836	-2,722	-0,617	0,056	Tidak	Ya	1,991	Ya
Methoxyphenol	94,61	-2,736	0,291	0,383	Ya	Tidak	0,136	Tidak
Monogalactosyl diacylglycerol	50,079	-2,735	-1,493	0,202	Tidak	Ya	2,092	Tidak
Myristic acid	92,691	-2,705	-0,578	0,171	Tidak	Tidak	1,693	Tidak
Myrtenal	96,869	-2,706	0,482	0,572	Tidak	Tidak	-0,004	Tidak
Oct-2-enal	95,588	-2,433	0,147	0,47	Tidak	Tidak	0,37	Tidak
Oleic acid	91,823	-2,725	-0,558	0,052	Tidak	Ya	1,884	Tidak
Palmitic acid	92,004	-2,717	-0,543	0,101	Tidak	Ya	1,763	Tidak
Palmitoleic acid	92,51	-2,715	-0,574	0,104	Tidak	Ya	1,817	Tidak
Phenyl ester	95,747	-2,119	-0,104	0,339	Tidak	Tidak	0,384	Tidak
Phytol	90,71	-2,576	0,468	0	Tidak	Ya	1,696	Tidak
Trans-phytol	90,71	-2,576	0,468	0	Tidak	Ya	1,696	Tidak

## PEMBAHASAN

### Analisa Molecular Docking Senyawa Aktif *Cladophora sp.* terhadap PBP2 *S. aureus*

PBP2 merupakan protein yang berfungsi sebagai sintesis peptidoglikan *S. aureus*. Protein ini memiliki dua domain yaitu *TGase* dan *TPase* (*Transpeptidase* dan *Transglycosylase*). Kedua domain ini merupakan active site yang artinya dimana zat yang terikat dikatalisis. Sebuah penelitian menyebutkan ikatan senyawa aktif di regio *TGase* berada di Glu114, Glu144, Ala146, Gln152, Lys155, Asp156, Lys163, Arg167, Lys168, Glu171, Tyr196, Pro231, Gln 232, Val233, Asn235. Sedangkan regio *TPase* di Ser398, Ser399, Leu400, Lys401, Ser454, Phe455, Asp456, Lys583, The584, Gly585. Apabila dibandingkan dengan hasil penelitian menunjukkan bahwa *Amoxicillin clavulanate* memiliki ikatan di regio *TGase* dan *TPase*.<sup>14</sup>

Hasil pengujian 27 struktur senyawa aktif *Cladophora sp.* terhadap protein target PBP2 *S. aureus* menunjukkan 12 senyawa aktif yang memiliki nilai yang lebih baik dari kontrol. Senyawa ini diantaranya *Beta sitosterol glucoside*, *Hexadecatetraenoic acid*, *Dihydroactinidiolide*.

*Beta-Sitosterol-glucoside* memiliki ikatan di regio *TGase* dan *TPase*, *Hexadecatetraenoic acid* memiliki ikatan di regio *TGase* dan *TPase*, *Dihydroactinidiolide* memiliki ikatan di regio *TGase* dan *TPase*. Hasil ini ditentukan berdasarkan di wilayah mana protein tersebut ditemukan, apabila lokasi protein tersebut ditemukan berdasarkan nama proteinya maka ditemukan juga posisi regionya.<sup>14</sup> Kemudian dicari sifat antibakteri berdasarkan penelitian sebelumnya. *Beta sitosterol glucoside*, memiliki sifat antibakteri<sup>17</sup>, *Hexadecatetraenoic acid*

memiliki sifat antibakteri<sup>18</sup>, *Dihydroactinidiolide*. memiliki sifat antibakteri<sup>19</sup>

Penghambatan senyawa aktif *cladophora sp.* dibanding kontrol memiliki perbedaan. Residu asam amino *Amoxicillin Clavulanate* di PBP2 memiliki ikatan hidrogen di LEU219, GLU224. Ikatan ini jika dibandingkan tiga senyawa aktif yaitu *Beta sitosterol glucoside* dan *Dihydroactinidiolide* tidak memiliki kesamaan *Hexadecatetraenoic acid* ada kesamaan yaitu GLU224

Penentuan ini berdasarkan nilai energi ikatan bebas, konstanta inhibisi, luas permukaan, dan residu asam amino. Energi ikatan bebas menggambarkan spontanitas dari interaksi ligan. Senyawa dengan nilai energi ikatan bebas terendah adalah *Beta-sitosterol-glucoside* sebesar -6.87 kcal/mol hasil ini lebih baik dari pada kontrol obat *Amoxicillin clauvanete* dengan nilai -5.03 kcal/mol. Apabila nilai energi ikatan bebas tinggi maka nilai afinitasnya rendah sebaliknya apabila nilai energinya rendah menunjukkan interaksi ligan dan protein semakin spontan sehingga nilai afinitasnya tinggi dan berpotensi sebagai obat.<sup>10</sup>

Konstanta inhibisi menggambarkan proses penambatan molekul. Senyawa dengan konstanta inhibisi terendah adalah *Monogalactosyl diacylglycerol* dengan nilai 1.29uM, hasil ini lebih baik dibandingkan kontrol obat *Amoxicillin clauvanete* dengan nilai 206.37uM. Hasil konstanta inhibisi ditentukan apabila nilai konstanta inhibisi tinggi maka ligan akan sulit untuk berikatan dengan protein target sebaliknya semakin kecil konstanta inhibisi berarti senyawa tersebut mudah untuk terikat pada target sehingga berpotensi sebagai obat.<sup>11</sup>

Interaksi luas permukaan menggambarkan peluang senyawa aktif agar berinteraksi ke target protein. Senyawa aktif dengan interaksi permukaan tertinggi adalah *Beta-sitosterol-glucoside* sebesar 879.035Å, lebih baik dibandingkan kontrol *Amoxicillin clauvanete* dengan nilai 532.079 Å. Interaksi ditentukan apabila nilainya tinggi maka peluang senyawa aktif agar berinteraksi ke target protein semakin besar. Jika nilainya tinggi berarti senyawa tersebut memiliki potensi sebagai obat.<sup>12</sup>

Residu asam amino menggambarkan peningkatan nilai afinitas dari senyawa ke protein target. Apabila interaksi molekul tinggi maka semakin tinggi pula afinitas senyawa tersebut sehingga berpotensi sebagai obat. ikatan hidrogen dalam molekular docking berfungsi untuk melihat akurasi dari ikatan molekul, membantu fungsi seluler dengan memfasilitasi interaksi molekul, dan mengatur

kekuatan struktur protein untuk interaksi antar molekul.<sup>12</sup>

### **Analisa Molecular Docking Senyawa Aktif *Cladophora sp.* terhadap PBP2a *S. aureus***

PBP2a merupakan mutasi yang bersifat lebih resisten terhadap antibiotik, Protein ini memiliki tiga domain yaitu *Active site*, *Allosteric site*, dan *N-Terminal Extension*. Domain protein ini memiliki fungsi masing – masing. *Active site* merupakan daerah apabila zat terikat akan dikatalisis.<sup>23</sup> *Allosteric site* merupakan daerah ikat zat yang bukan pada titik aktif sehingga molekul protein target terjadi proses pengaktifkan, penghambatan, dan mematikan fungsi enzim.<sup>24</sup> *N-Terminal Extension* berfungsi untuk menstabilkan *transmembrane helix* di reseptor yang akan terikat.<sup>25</sup> Domain *Active site* memiliki residu asam amino di residu 327-668. Domain *Allosteric site* memiliki tiga lobus yaitu 1,2 dan 3 region ini memiliki residu tersendiri. *Allosteric site* di residu 27-326, lobus 1, 166-240, Lobus 2, 258-277, lobus 3, 363-390. Domain *N-Terminal Extension* di residu 27-136.<sup>16</sup> Hasil penambatan 27 senyawa aktif ditemukan senyawa aktif *Cladophora sp.* yang memiliki potensi terhadap PBP2a *S. aureus* senyawa aktif tersebut apabila diurutkan dari yang terbaik adalah *Palmitic acid*, *Myristic acid*, *Beta sitosterol glucoside*. Penentuan senyawa aktif ini berdasarkan dari nilai energi ikatan bebas, konstanta inhibisi, luas permukaan, dan residu asam amino. Kemudian ditentukan apakah tiga senyawa aktif ini memiliki sifat antibakteri berdasarkan penelitian sebelumnya. *Palmitic acid*, memiliki sifat antibakteri<sup>20</sup>, *Myristic acid*, memiliki sifat antibakteri<sup>21</sup>, *Beta sitosterol glucoside* memiliki sifat antibakteri<sup>17</sup>.

Residu asam amino *Amoxicillin Clavulanate* di PBP2a memiliki ikatan hidrogen di ASP56, ASN57. Ikatan ini jika dibandingkan tiga senyawa aktif yaitu *Palmitic acid* dan *Myristic acid* memiliki kesamaan di ASN57, *Beta sitosterol glucoside* tidak ada kesamaan.

Senyawa dengan nilai energi ikatan bebas terendah adalah *Palmitic acid* dengan nilai -7.29 kcal/mol hasil ini lebih baik dibandingkan kontrol obat *Amoxicillin clauvanete* dengan nilai -5.16 kcal/mol. Senyawa dengan konstanta inhibisi terendah adalah *Linolenic acid* dengan nilai 4.00uM, hasil ini lebih baik dibandingkan kontrol obat *Amoxicillin clauvanete* dengan nilai 164.22uM. Senyawa aktif dengan interaksi permukaan tertinggi adalah *Beta sitosterol glucoside* dengan nilai 770.522 Å hasil ini lebih baik dibandingkan kontrol obat *Amoxicillin Clauvanete* dengan nilai 503.787 Å.

Penentuan domain dilakukan dengan membandingkan hasil uji, sehingga dapat diperkirakan *Palmitic acid* berikatan di regio *N-Terminal Extension*. *Myristic acid* diperkirakan berikatan di regio *N-Terminal Extension*. *Beta-sitosterol-glucoside* diperkirakan berikatan di regio *Allosteric site* dan *N-Terminal Extension*, *Amoxicillin clavulanate* diperkirakan berikatan di regio *Allosteric site* dan *N-Terminal Extension* sifat dari region ini mengakibatkan tiga senyawa aktif dari masing-masing protein memiliki hasil yang lebih baik dibandingkan kontrol, karena tidak menempelnya senyawa di titik *active site* melainkan di *Allosteric site*. Penempelan di *Allosteric site* memungkinkan *active site* yang terbuka menjadi tertutup, sehingga menghasilkan nilai kontrol PBP2a memiliki hasil lebih rendah dibandingkan senyawa aktif.<sup>22</sup>

#### **Analisa profil farmakokinetik dan fisikokimia senyawa aktif *Cladophora sp.* menggunakan pkCSM**

Hasil prediksi fisikokimia senyawa aktif *Cladophora sp.* menunjukkan dari 27 senyawa hanya 12 senyawa aktif yang memenuhi kriteria *Lipinski Rule of Five* diantaranya *2-methylphenol*, *Benzyl alcohol*, *Butane-2,3-diol*, *Deca-2,4-dienal*, *Dihydroactinidiolide*, *Hexadecatetraenoic acid*, *Hexanal*, *Methoxyphenol*, *Myristic acid*, *Myrtenal*, *Oct-2-enal*, dan *Phenyl ester*. *Lipinski Rule of Five* merupakan uji fitokimia suatu ligan yang bertujuan untuk menentukan sifatnya ketika melintasi membrane adalah Berat Molekul sebesar <500 Da, nilai Log P <5, Hidrogen Donor <5, Hidrogen Akseptor <10, dan *Molar Refractivity* 40-130.<sup>9</sup>

Profil farmakokinetik dan toksisitas ditentukan menggunakan *website* pkCSM profil yang pertama dicari adalah absorpsi. Hasil ini ditentukan dengan nilai absorpsi pada pencernaan dan kulit. Obat yang memiliki nilai absorpsi yang bagus jika memiliki nilai absorpsi intestinal lebih dari 30% dan apabila suatu senyawa aktif memiliki nilai absorpsi dibawah 30% maka senyawa tersebut tidak diserap dengan baik oleh pencernaan.<sup>9</sup>

Terdapat 20 senyawa aktif yang nilai skin permeability yang dapat diserap cepat oleh kulit dengan nilai tertinggi yaitu *Butane-2,3-diol* dengan nilai -3,957 dibandingkan *Amoxicillin Clavulanate* yang bernilai -2,735. Hasil ini menunjukkan bahwa senyawa aktif *Cladophora sp.* dapat diserap oleh kulit dengan baik. Penilaian ini ditentukan dengan parameter apabila nilai skin permeability Log Kp >-2.5 maka senyawa tersebut nilai serapnya baik sebaliknya apabila nilai skin permeability Log Kp <-

2.5 maka senyawa tersebut nilai serapnya buruk.<sup>9</sup>

Obat yang memiliki nilai distribusi (VDss). VDss dianggap rendah jika di bawah log VDss <-0,15 dan tinggi jika di atas log VDss >0,45. Didapatkan 4 senyawa aktif *Cladophora sp.* dengan nilai distribusi yang baik adalah *Eckol*, *Hexahydrofarnesyl acetone*, *Myrtenal*, *Phytol*, *Trans-phytol*. Volume distribusi merupakan dosis total obat didistribusikan secara merata memberikan konsentrasi yang sama seperti dalam plasma darah.<sup>9</sup>

Senyawa aktif *Cladophora sp.* yang memiliki nilai unbound diatas kontrol yaitu. *Benzyl alcohol*, *Dihydroactinidiolide*, *Hexanal*, *Myrtenal*. Nilai unbound bertujuan untuk mengetahui ikatan senyawa aktif terhadap protein plasma, apabila semakin besar nilai unbound maka semakin banyak yang berikatan dengan protein plasma.<sup>9</sup>

Obat memiliki nilai metabolisme yang bagus apabila senyawa aktif tidak menghambat enzim *CYP2D6* dan *CYP3A4* senyawa aktif tersebut adalah *2-methylphenol*, *Benzyl alcohol*, *Butane-2,3-diol*, *Deca-2,4-dienal*, *Dihydroactinidiolide*, *Eckol*, *Hexanal*, *Myristic acid*, *Myrtenal*, *Oct-2-enal*, dan *Phenyl ester*. *CYP2D6* dan *CYP3A4* merupakan sitokrom yang berfungsi untuk metabolisme obat yang masuk ke dalam tubuh. Apabila sitokrom *CYP2D6* dan *CYP3A4* dihambat mengakibatkan metabolisme obat pada tubuh turun sehingga menjadikan efek obat juga berkurang.<sup>9</sup>

Obat yang memiliki nilai total clearance yang lebih baik dari kontrol adalah *9-methyl-hexadecanoic acid*, *Butane-2,3-diol*, *Dihydroactinidiolide*, *Hexadecatetraenoic acid*, *Myristic acid*. *Total clearance* merupakan kecepatan obat untuk dikeluarkan dari tubuh.<sup>13</sup>

Semua senyawa aktif tidak memiliki sifat hepatotoksik kecuali *Linoleic acid* dan *Linolenic acid*. Suatu senyawa dapat disebut hepatotoksik apabila suatu senyawa dapat membuat efek patologis atau mengganggu fungsi hepar.<sup>9</sup>

#### **KESIMPULAN**

1. Tiga senyawa yang dapat menghambat PBP2 adalah *Beta sitosterol glucoside*, *Hexadecatetraenoic acid*, dan *Dihydroactinidiolide*.
2. Tiga senyawa yang dapat menghambat PBP2a adalah *Palmitic acid*, *Myristic acid*, dan *Beta sitosterol glucoside*.
3. Semua senyawa bersifat antibakteri, namun hasil *docking* ditemukan ada senyawa yang tidak memenuhi *Lipinski* dan ADMET pada

PBP2 yaitu *Beta sitosterol glucoside*, dan di PBP2a *Palmitic acid*, *Beta sitosterol glucoside*.

4. Senyawa yang memenuhi kriteria *Lipinski* dan ADMET adalah *Hexadecatetraenoic acid*, *Dihydroactinidiolide* dan *Myristic acid*.

## SARAN

Untuk mendukung kesimpulan dari penelitian ini diperlukan penelitian lanjutan dengan

1. Diperlukan pengujian lanjut secara *in vitro* menggunakan senyawa aktif murni untuk membuktikan apakah senyawa aktif memiliki potensi untuk menjadi antibakteri.
2. Diperlukan pengujian lanjutan secara *in vitro* menggunakan obat kombinasi *Amoxicillin* dengan senyawa aktif *Myristic acid* apakah berpotensi untuk menjadi *antibiotic resistance reversal*

## UCAPAN TERIMAKASIH

Kepada angkatan orang tua mahasiswa yang telah memberikan intensif pendanaan terhadap penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Novard M, Suharti N, Rasyid R. Gambaran Bakteri Penyebab Infeksi Pada Anak Berdasarkan Jenis Spesimen dan Pola Resistensinya di Laboratorium RSUP Dr. M. Djamil Padang Tahun 2014-2016. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 2019;8(2S):26.
2. Indrayudha P. POLA KUMAN DAN RESISTENSINYA TERHADAP ANTIBIOTIKA DARI SPESIMEN PUS DI RSUD Dr. MOEWARDI TAHUN 2012. *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia*. 2012;13(2):70-76.
3. Cladophora | genus of green algae [Internet]. *Encyclopedia Britannica*. 2022 [cited 23 July 2022]. Available from: <https://www.britannica.com/science/Cladophora>.
4. Sahal, M. L. N. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% *Cladophora sp.* Perairan Tamban Kabupaten Malang Tahun 2017 Universitas Islam Malang
5. Tang S, Apisarntharak A, Hsu L. Mechanisms of  $\beta$ -lactam antimicrobial resistance and epidemiology of major community- and healthcare-associated multidrug-resistant bacteria. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2014;78:3-13.
6. Perbandingan Daya Hambat Madu Alami dengan Madu Kemasan terhadap Pertumbuhan Bakteri Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) secara *In Vitro* - eSkripsi Universitas Andalas [Internet]. *Scholar.unand.ac.id*. 2022 [cited 23 July 2022]. Available from: <http://scholar.unand.ac.id/46379/>
7. Humaida R. STRATEGY TO HANDLE RESISTANCE OF ANTIBIOTICS [Internet]. *Juke.kedokteran.unila.ac.id*. 2022 [cited 23 July 2022]. Available from: <https://juke.kedokteran.unila.ac.id/index.php/majority/article/view/487/488>
8. Adriani. 'Prediksi Senyawa Bioaktif dari Tanaman Sanrego (Lunasia amara Blanco) sebagai Inhibitor Enzim Siklooksigenase-2 (COX-2) melalui Pendekatan Molecular Docking'. 2018 *Jurnal Ilmiah Pena, Sains dan Ilmu Pendidikan*, 1, pp. 6–11. Available at: <http://ojs.stkippi.ac.id/index.php/jip/article/view/128>.
9. Pires D, Blundell T, Ascher D. pkCSM: Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity Properties Using Graph-Based Signatures. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2015;58(9):4066-4072.
10. Liu J, Fang L, Liu C. 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*. 2020;46(6):1005-1014.
11. Ramsay R, Tipton K. Assessment of Enzyme Inhibition: A Review with Examples from the Development of Monoamine Oxidase and Cholinesterase Inhibitory Drugs. *Molecules*. 2017;22(7):1192.
12. Myslinski J, DeLorbe J, Clements J, Martin S. Protein-Ligand Interactions: Thermodynamic Effects Associated with Increasing Nonpolar Surface Area. *Journal of the American Chemical Society*. 2011;133(46):18518-18521.
13. Li Y, Sun D, Palmisano M, Zhou S. Slow drug delivery decreased total body clearance and

- altered bioavailability of immediate- and controlled-release oxycodone formulations. *Pharmacology Research & Perspectives*. 2016;4(1).
14. Rani N, Kumar C, Arunachalam A, PTV L. Rutin as a potential inhibitor to target peptidoglycan pathway of *Staphylococcus aureus* cell wall synthesis. *Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2018;3(3).
  15. Otero L, Rojas-Altuve A, Llarrull L, Carrasco-López C, Kumarasiri M, Lastochkin E et al. How allosteric control of *Staphylococcus aureus* penicillin binding protein 2a enables methicillin resistance and physiological function. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2013;110(42):16808-16813.
  16. Contreras-Martel C, Martins A, Ecobichon C, Trindade DM, Matteï P-J, Hicham S, et al. Molecular architecture of the PBP2-MreC core bacterial cell wall synthesis complex. *Nat Commun* [Internet]. 2017;8(1):776. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-017-00783-2>
  17. N. N, M. S, U. P, H. H, S. A, R. A. Isolation and antimicrobial activity of  $\beta$ -sitosterol-3-O-glucoside from *Lanea kerstingii* Engl. & K. krause (Anacardiaceae). *Journal of Health and Allied Sciences NU* [Internet]. 2016;06(01):004–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1055/s-0040-1708607>
  18. Pu Z-H, Zhang Y-Q, Yin Z-Q, Xu J, Jia R-Y, Lu Y, et al. Antibacterial activity of 9-octadecanoic acid-hexadecanoic acid-tetrahydrofuran-3,4-diyl ester from neem oil. *Agric Sci China* [Internet]. 2010;9(8):1236–40. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/s1671-2927\(09\)60212-1](http://dx.doi.org/10.1016/s1671-2927(09)60212-1).
  19. Das M, Prakash S, Nayak C, Thangavel N, Singh SK, Manisankar P, et al. Dihydroactinidiolide, a natural product against A $\beta$ 25-35 induced toxicity in Neuro2a cells: Synthesis, in silico and in vitro studies. *Bioorg Chem* [Internet]. 2018;81:340–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bioorg.2018.08.037>.
  20. Casillas-Vargas G, Ocasio-Malavé C, Medina S, Morales-Guzmán C, Del Valle RG, Carballeira NM, et al. Antibacterial fatty acids: An update of possible mechanisms of action and implications in the development of the next-generation of antibacterial agents. *Prog Lipid Res* [Internet]. 2021;82(101093):101093. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.plipres.2021.101093>.
  21. Vijayarohini P, Kavitha G, Bangaru Sudarsan Alwar S, Andrew Swamidoss CM. Antimicrobial activity of selective transition metal co-ordination complexes of myristic acid. *Mater Today* [Internet]. 2020;33:4198–205. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.matpr.2020.07.194>.
  22. Alhadrami HA, Hamed AA, Hassan HM, Belbahri L, Rateb ME, Sayed AM. Flavonoids as potential anti-MRSA agents through modulation of PBP2a: A computational and experimental study. *Antibiotics (Basel)* [Internet]. 2020;9(9):562. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/antibiotics9090562>
  23. Researchgate.net. [cited 2022 Jul 23]. Available from: [https://www.researchgate.net/publication/318305481\\_What\\_is\\_the\\_Active\\_Site\\_of\\_an\\_Enzyme](https://www.researchgate.net/publication/318305481_What_is_the_Active_Site_of_an_Enzyme).
  24. Suplatov D, Švedas V. Study of Functional and Allosteric Sites in Protein Superfamilies. *Acta Naturae*. 2015;7(4):34-45.
  25. Lindner D, Walther C, Tennemann A, Beck-Sickinger AG. Functional role of the extracellular N-terminal domain of neuropeptide Y subfamily receptors in membrane integration and agonist-stimulated internalization. *Cell Signal* [Internet]. 2009;21(1):61–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cellsig.2008.0>