

Kajian Farmakoinformatika Senyawa Alkaloid Anggur Laut (*Caulerpa racemose*) Sebagai Inhibitor Collagenase Dalam Mekanisme Antiaging

Dewi Ratih Tirto Sari^{1*}, M. Eko Pranoto², Siti Zamilatul Azkiyah³

^{1,2,3}Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Ibrahimy, Situbondo

¹dewiratihtirtosari@ibrahimiy.ac.id, ²m.ekoprano@gmail.com, ³st.zamilatulazkiyah@gmail.com

Corresponding Author: dewiratihtirtosari@ibrahimiy.ac.id

ARTICLE INFO

Article history

Received : 25 September 2022

Revised : 10 November 2022

Accepted : 23 November 2022

Published : 25 November 2022

Keywords

Alkaloid

Antiaging

Caulerpa racemose

Collagenase

Farmacoinformatics

ABSTRACT

Caulerpa racemosa or sea grape is an edible macroalgae, cultivated and wild species in Asia ocean. Sea grapes also well known as functional food source from marine, contains high protein, fibers and secondary metabolites. The biological functions of sea grape also has been identified as antioxidant, antiinflammatory, antiobesity, and anticancer. However, the antiaging activity has not been known yet. This study investigated the potential antiaging activity of alkaloids compounds from sea grapes through inhibiting collagenase protein by pharmacoinformatic study. six alkaloid structure of sea grapes including Caulerpin, Caulersin, Caulerchlorin, Racemosin A, Racemosin B, and Racemosin C, were retrieved from PubChem database and collagenase protein also was downloaded from Protein Data Bank with ID 2TCL. Six alkaloids of *Caulerpa racemosa* were redocked with collagenase at the specific site and were visualized by Discovery studio version 21.1.1. collagenase inhibitor compound also used as control for this study. pharmacoinformatic analysis performed that six alkaloid of sea grapes and inhibitor compounds were showed at the same region of collagenase, which was identified as inhibitor sites. Several active residues of collagenase, involved SER139, PRO138, HIS128, and LEU81 were detected at six alkaloids compounds and control inhibitor, indicating six alkaloid of sea grapes potentially as collagenase inhibitor leading to antiaging properties. This study summarized that the six sea grape's alkaloid has potential as collagenase inhibitor. Further *in vivo* analysis were required for further investigation.

PENDAHULUAN

Anggur laut (*Caulerpa racemosa*) merupakan salah satu makroalga yang kaya akan nutrisi, tinggi protein, rendah karbohidrat, tinggi mineral dan vitamin. Kandungan vitamin dalam anggur laut yaitu vitamin C dan vitamin E. Makroalga ini juga dapat dimakan atau edible, memiliki thalus dengan daun membentuk kantong-kantong seperti anggur. *Caulerpa* senositik dan bercabang, memiliki stolon dan akar rhizoid yang melekat pada substrat berupa terumbu karang. Spesies *Caulerpa* tercatat 50 spesies dengan 12 diantaranya ditemukan di Indonesia (Duffy 2006; Fakhruddin et al. 2021). Beberapa spesies *Caulerpa* yang diidentifikasi di Indonesia antara lain *C. racemosa*, *C. lentillifora*, *C. sertularoides*, *C. taxifolia*, *C. elongate*, *C. brancypus*, dan *C. peltate* (Duffy 2006; Fakhruddin et al. 2021). Anggur laut memiliki pigmen klorofil sehingga menunjukkan penampakan warna hijau pada thallus. Selain itu juga mengandung beberapa senyawa bioaktif yang bermanfaat untuk kesehatan tubuh. Kandungan senyawa bioaktif diantaranya senyawa fenolik, karotenoid, klorofil, tannin, alkaloid, indol dan lainnya (Andrade et al. 2013; Hakim and Patel 2020; Mohamed et al. 2014; Rahmawati et al. 2019; Ellya Sinurat and Fadrijah 2019).

Anggur laut juga diketahui memiliki komponen rendah karbohidrat dan tinggi protein. Caulerpa kering mengandung kadar air 9 – 10%, kadar abu 40 – 41%, protein 5 – 7%, lemak 0,99%, karbohidrat 29 – 37%, dan serat 23 – 24% (Sinurat et al. 2021; Ellya Sinurat and Fadriah 2019; Tapotubun et al. 2020). Bioaktivitas anggur laut yaitu antioksidan, antimikroba, antikanker, antitumor, antifungal, dan antiinflamatori (Andrade et al. 2013; Arunkumar et al. 2021; De La Garza et al. 2011; Leandro et al. 2020; Pradhan et al. 2020; Sugawara et al. 2014). Namun, beberapa aktivitas senyawa alkaloid anggur laut belum terkait antiaging belum banyak dieksplorasi. Oleh karena itu, penelitian ini mengidentifikasi potensi enam senyawa alkaloid anggur laut sebagai antiaging melalui penghambatan collagenase.

METODE PENELITIAN

Pengambilan struktur 3D senyawa alkaloid

Ligand yang digunakan dalam penelitian ini yaitu enam senyawa alkaloid anggur laut (*Caulerpa racemosa*). Senyawa alkaloid tersebut yaitu Caulerpin (CID 5326018), Caulersin (CID 10593388), Caulerchlorin (CID 76453401), Racemosin A (CID 46872348), Racemosin B (CID 46872349), Racemosin C (CID 46872350), dan diunduh dari pangkalan data PubChem NCBI yang diakses pada laman <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>.

Pengambilan dan Optimasi Struktur 3D Protein

Protein target antiaging yang digunakan dalam penelitian ini yaitu protein collagenase. Struktur protein collagenase diunduh pada pangkalan data Protein Data Bank dengan laman <https://www.rcsb.org/>. kode akses struktur 3D collagenase yaitu 2TCL (Borkakoti et al. 1994). Struktur protein collagenase dioptimasi dengan memprediksi sisi aktif collagenase dengan program *offline* Molegro Virtual Docker versi 5.0 (Bitencourt-Ferreira and de Azevedo 2019b; Sari and Krisnamurti 2022). Sisi aktif protein collagenase didapatkan pada grid protein X=72.05; Y=8.92; Z=11.38; Radius 10.

Simulasi Docking Ligand dengan protein

Docking 6 senyawa alkaloid anggur laut dengan collagenase dilakukan dengan Molegro Virtual Docker versi 5.0 pada daerah sisi aktif yang telah diprediksi (Bitencourt-Ferreira and de Azevedo 2019b; Sari and Krisnamurti 2022). Senyawa [[1-[N-Hydroxy-Acetamidyl]-3-Methyl-Butyl]-Carbonyl-Leucinyl]-Alanine Ethyl Ester digunakan sebagai kontrol inhibitor protein collagenase. Parameter simulasi docking diantaranya *Score Function Moldock Score [Grid]; grid resolution 0.30; algorithm MolDock SE; Number of Runs 10. Max iteration 1500; max population size 50; pose generation energy threshold 100, tries 10 – 30; simplex evolution max steps 300; neighbor distance factor 1.00; multiple pose number of pose 5; energy threshold 0.00; cluster similar poses RMSD threshold 1.*

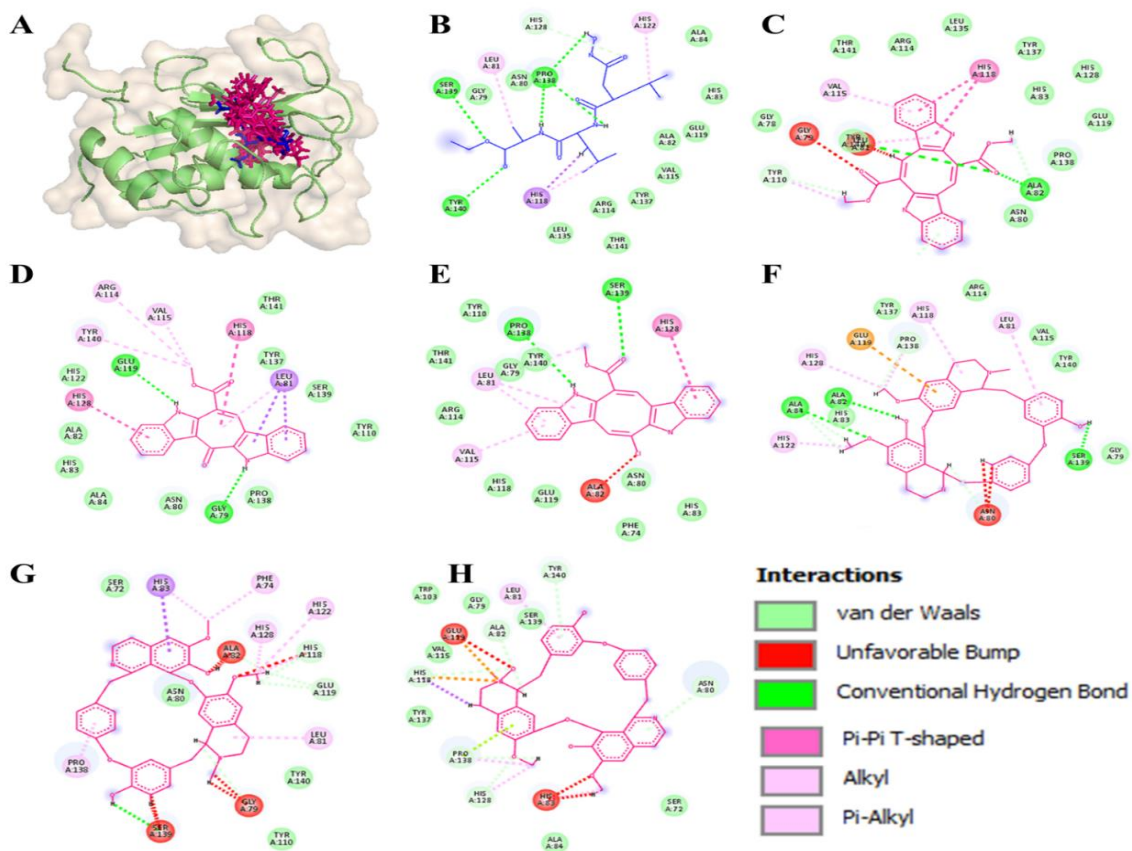
Analisis Data

Interaksi antara enam alkaloid dengan protein collagenase divisualisasi dan dianalisis dengan Discovery Studio versi 21.1.1. Energi ikatan dalam kJ/mol dari kompleks ligand – protein didapatkan dari penjumlahan MolDock Score, Moldock Grid Score, dan Rerank score (Bitencourt-Ferreira and de Azevedo 2019a).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Collagenase merupakan salah satu enzim yang berfungsi dalam memecah collagen dalam mekanisme penuaan dini. Collagenase ini dikode oleh gen MMP1, MMP3, dan MMP9 atau yang dikenal

sebagai matrix metalloproteinase protein (Choi et al. 2020; Fait 2019; Shin et al. 2019). Penghambatan collagenase sebagai target pencegahan penuaan dini menjadi alternatif untuk pengembangan produk antiaging. Berdasarkan kajian *in silico* pada penelitian ini didapatkan bahwa senyawa kontrol inhibitor dan enam jenis alkaloid anggur laut menghambat aktivitas collagenase pada sisi yang sama (Gambar 1). Senyawa [[1-[N-Hydroxy-Acetamidyl]-3-Methyl-Butyl]-Carbonyl-Leuciny]-Alanine Ethyl Ester sebagai kontrol membentuk interaksi dengan collagenase dengan 6 ikatan hidrogen pada residu SER139, TYR140, PRO138, dan HIS128. Residu PRO138 mengikat collagenase pada 3 atom kontrol senyawa inhibitor, yakni pada hydrogen Nomor 2, 6, dan 8. Selain itu, kompleks kontrol – collagenase menunjukkan 4 interaksi hidrofobik pada residu HIS118, LEU81, dan HIS122. Residu HIS118 juga menunjukkan dua interaksi hidrofobik yakni pada atom hydrogen 19 dan karbon 13. Senyawa Caulerpin berikatan dengan collagenase dengan lima ikatan hydrogen dan lima interaksi hidrofobik. Residu yang berinteraksi dengan ikatan hidrogen antara lain LEU81, ALA82, TYR110, dan SER139. Sedangkan residu dengan interaksi hidrofobik yaitu HIS118, TYR110, LEU81, dan VAL115. Caulersin menunjukkan sisi aktif collagenase pada residu GLU119, GLY79, LEU81, HIS118, HIS128, ARG114, VAL115, dan TYR140. Jenis ikatan yang terbentuk pada kompleks caulersin – collagenase yaitu 2 ikatan hydrogen dan 8 interaksi hidrofobik. Caulerchlorin juga menunjukkan 3 ikatan hydrogen dan 5 interaksi hidrofobik. Residu yang diikat caulerchlorin antarlain ALA82, SER139, PRO138, HIS128, LEU81, dan VAL115.



Gambar 1. Struktur 3D dan 2D kompleks senyawa alkaloid anggur laut (*Caulerpa racemosa*) dengan collagenase. A. tampilan 3D interaksi enam senyawa alkaloid dan kontrol inhibitor collagenase, tampilan 2D kompleks ligand – protein pada B-H, B. Inhibitor, C. Caulerpin, D. Caulersin, E. Caulerchlorin, F. Racemosin A, G. Racemosin B, H. Racemosin C

Racemosin A berikatan dengan collagenase dengan 7 ikatan hydrogen pada residu ALA84, ALA82, SER139, ASN80, PRO138, satu ikatan elektrostatik pada residu GLU119, dan 5 interaksi hidrofobik pada residu PRO138, HIS118, HIS122, HIS128, LEU81. Senyawa racemosin B juga berikatan dengan collagenase dengan tujuh ikatan hidrogen dan 8 interaksi hidrofobik. Sisi aktif yang diikat racemosin B yaitu SER139, GLY79, ALA82, GLU119, HIS118, HIS83, LEU81, PHE74, HIS122, HIS128, dan PRO138. Kompleks racemosin C – collagenase menunjukkan sisi aktif GLU119, HIS118, HIS128, ALA82, PRO138, ASN80, TYR140, HIS83, dan LEU81. Kompleks racemosin C – collagenase memiliki 2 electrostatic, 7 ikatan hydrogen, lima interaksi hidrofobik dan satu Pi-Lone Pair. Menariknya residu LEU81 dan HIS118 yang merupakan sisi aktif inhibitor collagenase juga teridentifikasi pada senyawa caulerpin dan caulersin. selain itu juga terdapat residu SER139, PRO138, HIS128, LEU81 yang ditemukan sebagai sisi aktif caulerchlorin, racemosin A, B, C dan kontrol senyawa inhibitor.

Berdasarkan penelitian sebelumnya beberapa senyawa dari *Centella asiatica* juga menunjukkan penghambatan collagenase secara *in silico* pada sisi inhibitor collagenase (Krisnamurti and Sari 2022). Biji argan dari Maroko juga diketahui memiliki efek penghambatan collagenase secara *in vitro* dan *in silico*. Biji argan teridentifikasi mengandung epikatekin, vanillic acid, p-hydroxybenzoic acid, 5-hydroxybenzyl alcohol, hyperoside, isoquercetin, protocathechuic acid, dan gallic acid menghambat collagenase pada beberapa residu, diantaranya Leu181, Ala182, Arg214, His218, Glu219, Ser239. Residu tersebut juga terdeteksi pada sisi aktif enam senyawa alkaloid anggur laut terhadap collagenase (Mechqoq et al. 2022). Senyawa curcumin monoglucuronide (CMG) juga dilaporkan menghambat aktivitas MMP1, MMP8, dan MMP13 secara *in silico* (Roy et al. 2022). Senyawa kafein juga teridentifikasi menghambat collagenase dan tyrosinase pada proses aging (Eun Lee et al. 2019). Peptida mycosporine like- amino acid dari laut juga menunjukkan aktivitas inhibitor collagenase (Hartmann et al. 2015). Berdasarkan penelitian ini, prediksi mekanisme antiaging diantaranya, anggur laut telah diketahui berperan sebagai antioksidan yang tinggi akibat kandungan fenolik dan flavonoid yang relative tinggi. antioksidan yang tinggi memicu penurunan reactive oxygen species (ROS) sebagai radikal bebas di dalam sel tubuh. Penurunan ROS secara tidak langsung mempengaruhi pensinyalan aktivasi sintesis matrix metalloproteinase -1 (MMP1) sehingga terjadi penurunan produksi collagenase. Collagenase yang menurun menyebabkan collagen didalam sel kulit tidak terdegradasi dan meminimalisir munculnya kerutan pada kulit.

Jenis interaksi yang ditunjukkan enam senyawa alkaloid anggur laut dan kontrol inhibitor didominasi oleh ikatan hydrogen dan hidrofobik. Namun demikian berdasarkan struktur 2D, kompleks ligand – protein juga menunjukkan gaya van der Waals. jenis ikatan dan jumlah interaksi pada kompleks ligand – collagenase ini berpengaruh terhadap energi ikatan yang terbentuk pada kompleks. Kontrol senyawa inhibitor collagenase menunjukkan energi ikatan -260,2 kJ/mol, Caulerpin -241 kJ/mol, Caulersin -248,5 kJ/mol, Caulerchlorin -251,5 kJ/mol, Racemosin A -265 kJ/mol, Racemosin B -173,4 kJ/mol, dan Racemosin C -174,4 kJ/mol. Senyawa racemosin A menunjukkan energi ikatan dengan collagenase paling rendah, yakni -265 kJ/mol. Semakin rendah energi ikatan ligand pada protein maka semakin kuat interaksinya (Bare et al. 2022; Bare et al. 2019; Krisnamurti and Sari 2022; Krisnamurti et al., 2021; Sari and Krisnamurti 2021; Sari and Bare 2021; Sari et al. 2020, 2021; Sari and Krisnamurti 2022).

SIMPULAN

Enam senyawa alkaloid yang teridentifikasi pada anggur laut (*Caulerpa racemosa*), Caulerpin, Caulersin, Caulerchlorin, Racemosin A, Racemosin B, Racemosin C menghambat sisi inhibitor protein collagenase, sehingga dapat mencegah penuaan dini. Penelitian *in vivo* akibat pemberian ekstrak anggur laut diperlukan untuk membuktikan penghambatan penuaan dini.

DAFTAR PUSTAKA

- Andrade, Paula B. et al. 2013. "Valuable Compounds in Macroalgae Extracts." *Food Chemistry* 138(2-3): 1819-28. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.11.081>.
- Arunkumar, Malaisamy et al. 2021. "Marine Algal Antagonists Targeting 3CL Protease and Spike Glycoprotein of SARS-CoV-2: A Computational Approach for Anti-COVID-19 Drug Discovery." *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* 0(0): 1-28. <https://doi.org/10.1080/07391102.2021.1921032>.
- Bare, Yohanes; et al. 2022. "Kajian Senyawa Hexose Dan Malic Acid Sebagai Inhibitor Papain Like Protease (PLPro) Corona Virus." *Biosense* 05(01): 128-37.
- Bare, Yohanes, Andri Maulidi, Dewi Ratih Tirto Sari, and Sri Sulystyaningsih Natalia Daeng Tiring. 2019. "Studi in Silico Prediksi Potensi 6-Gingerol Sebagai Inhibitor c-Jun N-Terminal Kinases (JNK)." *Jurnal Jejaring Matematika dan Sains* 1(2): 59-63.
- Bitencourt-Ferreira, Gabriela, and Walter Filgueira de Azevedo. 2019a. 2053 Methods in Molecular Biology *Docking Screens for Drug Discovery*. eds. Gabriela Bitencourt-Ferreira and Walter Filgueira de Azevedo. Ria Grande do Sul: Humana Press.
- Bitencourt-Ferreira, Gabriela, and Walter Filgueira Jr de Azevedo. 2019b. "Molegro Virtual Docker for Docking." *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)* 2053: 149-67.
- Borkakoti, N et al. 1994. "Structure of the Catalytic Domain of Human Fibroblast Collagenase Complexed with an Inhibitor." *Nature Structural Biology* 1(2): 106-10. <https://doi.org/10.1038/nsb0294-106>.
- Choi, Hee Jeong et al. 2020. "Protection against UVB-Induced Photoaging by *Nypa Fruticans* via Inhibition of MAPK/AP-1/MMP-1 Signaling." *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2020: 1-14.
- Duffy, J. Emmett. 2006. "Biodiversity and the Functioning of Seagrass Ecosystems." *Marine Ecology Progress Series* 311(April 2006): 233-50.
- Eun Lee, Kyung, Shiv Bharadwaj, Umesh Yadava, and Sang Gu Kang. 2019. "Evaluation of Caffeine as Inhibitor against Collagenase, Elastase and Tyrosinase Using in Silico and in Vitro Approach." *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* 34(1): 927-36. <https://doi.org/10.1080/14756366.2019.1596904>.
- Fait, Tomas. 2019. "Menopause Hormone Therapy: Latest Developments and Clinical Practice." *Drugs in Context* 8: 1-9.
- Fakhrulddin, I. M., Z. Muta Harah, R. D. Shiamala, and A. M. Azrie. 2021. "Effect of Salinity, Light and Fertilizer on *Caulerpa Lentillifera* under Culture Conditions." In *AIP Conference Proceedings*, American Institute of Physics Inc.
- Hakim, Masuma M., and Illa C. Patel. 2020. "A Review on Phytoconstituents of Marine Brown Algae." *Future Journal of Pharmaceutical Sciences* 6(1).
- Hartmann, Anja et al. 2015. "Inhibition of Collagenase by Mycosporine-like Amino Acids from Marine Sources." *Planta Medica* 81(10): 813-20.
- Krisnamurti, Gabriella Chandrakirana;, and Dewi Ratih Tirto; Sari. 2022. "Does *Centella Asiatica* Have

- Antiaging Activity in Skincare Products ?” *Atlantis Press* 630(Icetek 2021): 240–45.
- Krisnamurti, Gabriella Chandrakirana;, Dewi Ratihtirto; Sari, and Yohanes Bare. 2021. “Capsaicinoids from Capsicum Annuum as an Alternative FabH Inhibitor of Mycobacterium Tuberculosis : In Silico Study Capsaicinoids from Capsicum Annuum as an Alternative FabH Inhibitor of Mycobacterium Tuberculosis : In Silico Study.” *Makara Journal of Science* 25(4): 195–202.
- De La Garza, Ana Laura et al. 2011. “Natural Inhibitors of Pancreatic Lipase as New Players in Obesity Treatment.” *Planta Medica* 77(8): 773–85.
- Leandro, Adriana et al. 2020. “Seaweed Phenolics: From Extraction to Applications.” *Marine Drugs* 18(8): 1–47.
- Mechqoq, Hicham et al. 2022. “Molecular Docking, Tyrosinase, Collagenase, and Elastase Inhibition Activities of Argan By-Products.” *Cosmetics* 9(1).
- Mohamed, Gamal A, Sabrin R M Ibrahim, Riham Salah, and El Dine. 2014. “Natural Anti-Obesity Agents.” *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University* 52(2): 269–84. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bfopcu.2014.05.001>.
- Pradhan, Biswajita et al. 2020. “Bioactive Metabolites from Marine Algae as Potent Pharmacophores against Oxidative Stress-Associated Human Diseases: A Comprehensive Review.” *Molecules (Basel, Switzerland)* 26(1).
- Rahmawati, S. I. et al. 2019. “Enzyme-Assisted Extraction of Fatty Acid from Caulerpa Lentilifera: A Preliminary Study.” In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, Institute of Physics Publishing.
- Roy, Himadri Shekhar et al. 2022. “Molecular Docking and Molecular Dynamics to Identify Collagenase Inhibitors as Lead Compounds to Address Osteoarthritis.” *Journal of biomolecular structure & dynamics* 40(5): 2339–51.
- Sari, Dewi Ratih Tirto; Krisnamurti, Gabriella Chandrakirana; 2021. “1-Dehydrogingerdione , Senyawa Volatil Jahe Sebagai Agen Sedatif Subtitutif γ - Aminobutyrate (GABA); Kajian Biokomputasi.” *Prosiding Seminar Nasional Biologi* 7(1): 389–95.
- Sari, Dewi Ratih Tirto;, and Yohanes; Bare. 2021. “Kajian In Silico Aktivitas Antioksidan Senyawa Bioaktif Dalam Minyak Serai (Cymbopogon Citratus).” *Al-Kimia* 9(1): 61–69.
- Sari, Dewi Ratih Tirto et al. 2021. “Kajian Bioinformatika Penghambatan Alosterik Asemanan Dan Glukomanan Terhadap C-JUN NH2 Terminal Kinase (JNK).” *Spizaetus : Jurnal Biologi dan Pendidikan Biologi* 2(2): 28–36.
- Sari, Dewi Ratih Tirto, and Gabriella Chandrakirana Krisnamurti. 2022. “In Silico Repositioning Strategies of Theobromine and Caffeine for Psychiatric and Neurological Disorders.” *Proceeding International Conference on Religion, Science and Education* 1: 685–92.
- Sari, Dewi Ratih Tirto, Anna Safitri, James R Ketudat; Cairns, and Fatchiyah Fatchiyah. 2020. “Anti-Apoptotic Activity of Anthocyanins Has Potential to Inhibit Caspase-3 Signaling.” *Journal of Tropical Life Science* 10(1): 15–25.
- Shin, Jung Won et al. 2019. “Molecular Mechanisms of Dermal Aging and Antiaging Approaches.” *International Journal of Molecular Sciences* 20(9).
- Sinurat, E., Nurhayati, D. Fransiska, and J. Basmal. 2021. “Characterization of the Physical Properties and Sensory Acceptability of Caulerpa Racemosa Grain Beverage.” In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, IOP Publishing Ltd.
- Sinurat, Ellya, and Sofa Fadrijah. 2019. “The Chemical Properties of Seaweed Caulerpa Lentifera from Takalar, South Sulawesi.” In *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, Institute

of Physics Publishing.

Sugawara, Tatsuya et al. 2014. "Siphonaxanthin, a Green Algal Carotenoid, as a Novel Functional Compound." *Marine Drugs* 12(6): 3660–68.

Tapotubun, Alfonsina Marthina et al. 2020. "Seaweed *Caulerpa* Sp Position as Functional Food." In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, Institute of Physics Publishing.