



SKRINING FITOKIMIA EKSTRAK DAUN DADAP SEREP DAN PREDIKSI INSILICO POTENSI SENYAWA SEBAGAI ANTIBAKTERI

PHYTOCHEMICAL SCREENING OF ERYTHRINA SUBUMBRANS LEAF EXTRACT AND IN SILICO PREDICTION OF ITS ANTIBACTERIAL POTENTIAL

Arief Kusuma Wardani^{1*}, Herma Fanani Agusta², Alfian Syarifudin³, Azmi
Rahmadani⁴

^{1,2,3}Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Magelang,

⁴Program Studi Pendidikan Profesi Apoteker, Fakultas Farmasi, Universitas Islam Sultan Agung

*Penulis Korespondensi

ABSTRAK

Pendahuluan: Tanaman dadap serep merupakan tanaman asli Indonesia dan sering digunakan sebagai bahan obat tradisional dan pembuatan banten di Bali. Daun Dadap serep telah digunakan di Indonesia sebagai obat rematik, sakit perut, asma, disentri, dermatitis kontak, eksim, dan infeksi kulit. Informasi kandungan bahan aktif tumbuhan obat telah banyak dipublikasikan dalam buku, jurnal nasional maupun internasional, diketahui fitokonstituen yang terkandung memiliki bioaktivitas yang beragam seperti antibakteri dan antiinflamasi. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa fitokimia dalam ekstrak daun Dadap serep menggunakan GC-MS dan LC-MS sebagai penunjang guna memprediksi senyawa potensial antituberkulosis melalui pendekatan *in silico* yaitu *molecular docking*. **Metode:** Ekstraksi menggunakan etanol 70%, kemudian dianalisis kandungan senyawanya dengan GC-MS. Enam senyawa alkaloid teridentifikasi selanjutnya dilakukan docking terhadap protein target 5E1G menggunakan perangkat lunak iGEMDOCK untuk mengevaluasi afinitas dan interaksi molekuler. **Hasil:** Ekstraksi menghasilkan rendemen 21,2% dari 120 gram simplisia kering. Analisis GC-MS berhasil mengidentifikasi beberapa metabolit sekunder seperti golongan senyawa alkaloid, alkohol, asam lemak, terpenoid. Hasil *molecular docking* menunjukkan senyawa golongan alkaloid (1-propylheptyl)cyclohexane memiliki afinitas pengikatan terbaik dengan total energi ikat -89.46, diikuti 1-tert-butyl-2-(2-methyl-1-phenylpropan-2-yl)diaziridin-3-one dengan -85.17. **Kesimpulan:** Ekstrak daun Dadap serep mengandung senyawa alkaloid yang berpotensi sebagai antibakteri alami berdasarkan prediksi *in silico*.

Kata Kunci: *Erythrina subumbrans*, GC-MS, LC-MS, *molecular docking*, antituberkulosis

ABSTRACT

Background: Antibiotic resistance has become a concerning global issue, necessitating the exploration of new antibacterial sources from traditional medicinal plants such as dadap serep leaves (*Erythrina subumbrans*), which have been proven to possess antimicrobial activity. **Objective:** This study aims to identify phytochemical compounds in dadap serep leaf extract using GC-MS and LC-MS and predict their antituberculosis potential compound through an *in silico* molecular docking approach. **Method:** Dadap serep leaves were extracted using 70% ethanol, then analyzed for compound content using GC-MS and LC-MS. Six identified compounds were subsequently subjected to molecular docking against the target protein 5E1G using iGEMDOCK software to evaluate molecular affinity and interactions. **Result:** Extraction yielded 21,2% from 120 grams of dried simplicia. GC-MS analysis successfully identified several secondary metabolites such as alkaloids, alcohols, fatty acids, and terpenoids. *Molecular docking*

results showed that the alkaloid compound (1-propylheptyl)cyclohexane had the best affinity with a total binding energy of -89.46, followed by 1-tert-butyl-2-(2-methyl-1-phenylpropan-2-yl)diaziridin-3-one with -85.17. Conclusion: Dadap serep leaf extract contains alkaloid compounds that potentially serve as natural antibacterial agents based on in silico predictions.

Keywords: *Erythrina subumbrans*, GC-MS, LC-MS, molecular docking, antituberculosis

Ngentak baru, RT.10, No.66, Baturetno, Banguntapan, Bantul, Yogyakarta
Arief Kusuma Wardani: Universitas Muhammadiyah Magelang, Jl. Mayjen Bambang Soegeng, Glagak, Sumberrejo, Kec. Mertoyudan, Kabupaten Magelang, Jawa Tengah 56172.
087838687503. ariefkusumawardani@unimma.ac.id

PENDAHULUAN

Pada tahun 2023, prevalensi global bakteri yang kebal terhadap antibiotik telah menjadi penyebab keprihatinan yang meluas. Tren yang mengkhawatirkan ini semakin diperparah dengan tidak adanya kelas antibiotik baru yang dikembangkan, yang pada akhirnya memunculkan krisis antibakteri (1). Dengan munculnya masalah global ini, tanaman obat telah menarik perhatian yang cukup besar sebagai sumber yang menjanjikan untuk penemuan obat antibakteri baru. Tanaman ini memiliki beragam konstituen kimia, seperti alkaloid, flavonoid, terpenoid, dan senyawa fenolik, yang menunjukkan beragam aktivitas biologis, termasuk antibakteri yang kuat (2).

Salah satu tanaman yang sering dimanfaatkan untuk pengobatan tradisional adalah daun Dadap serep (*Erythrina subumbrans*). Berdasarkan penelitian sebelumnya diketahui bahwa

ekstrak daun etanol Dadap Serep (*Erythrina subumbrans*) memiliki kandungan fitokimia seperti alkaloid, flavonoid, polifenol dan tanin (3). Kandungan senyawa metabolit sekunder pada daun Dadap serep dapat digunakan sebagai antiinflamasi, antipiretik, dan antimikroba (4). Penelitian yang dilakukan oleh Kholidha et al., (2016) menunjukkan bahwa ekstrak daun Dadap serep memiliki aktivitas antibakteri pada *Salmonella typhi* (5). Beberapa tanaman yang diisolasi mengandung alkaloid berasal dari golongan Zingiberaceae, Solanaceae diketahui memiliki aktivitas sebagai antibakteri (6).

Analisis fitokonstituen ekstrak suatu tanaman perlu dilakukan guna mengetahui senyawa aktif secara farmakologi yang terdapat dalam tanaman. Metode instrumentasi yang sering digunakan untuk mengeksplorasi kandungan senyawa yakni GC-MS dimana prinsip dasar metode tersebut

hanya memisahkan senyawa-senyawa yang volatile saja. Untuk mengetahui kandungan senyawa dapat juga digunakan instrumen LC-MS dimana alat ini memiliki sensitifitas yang tinggi, dan akan melengkapi hasil analisis terutama pada senyawa non volatile. Hal tersebut merupakan salah satu keunggulan dari instrument LC-MS. Instrumen LC-MS menjadi solusi yang tepat untuk mengeksplorasi fitokonstituen pada suatu tanaman untuk melengkapi metode GC-MS.

Studi in silico terhadap bahan alam masih jarang dilakukan, padahal saat ini pemanfaatan teknologi informasi dan komputer sebagai alat alternatif pengembangan obat ini sangat menarik. Saat merancang obat, perkembangan eksponensial komputasi membuka peluang untuk pengembangan simulasi dan komputasi (7). Pengembangan obat *in vitro* dan *in vivo* membutuhkan waktu yang cukup lama. Metode in silico adalah pendekatan yang sama penting untuk pengembangan obat. In silico adalah uji yang dilakukan melalui computer (8). Studi in silico menggunakan teknik komputasi untuk mempelajari potensi senyawa bioaktif yang akan menjadi obat, diharapkan mereka dapat mengurangi *trial and*

error uji laboratorium secara in vitro dan in vivo.

Molecular docking adalah teknik in silico yang populer. Dalam banyak aplikasi penemuan obat, molecular docking terjadi antara molekul kecil dan makromolekul, seperti docking protein-ligan. Teknik komputasi ini digunakan untuk memprediksi interaksi dua molekul dan menghasilkan model yang mengikat (9).

Potensi farmakologis tanaman obat dipandang sebagai solusi masa depan untuk manajemen perawatan kesehatan (10). Dengan perkembangan teknologi komputasi dalam studi in silico serta potensi besar dari daun Dadap serep sebagai sumber senyawa bioaktif, penelitian ini diharapkan dapat memberikan wawasan lebih lanjut mengenai pemanfaatan teknologi *molecular docking* dalam mengidentifikasi dan mengembangkan senyawa aktif dari daun Dadap serep sebagai kandidat obat antibakteri yang potensial.

METODE

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Universitas Muhammadiyah Magelang.

Alat

Oven listrik dehydrator, mesin penggiling cosmos FP 300, gelas kuru 100 ml, cawan porselin 250 ml, spatula, toples kaca, erlenmeyer 500 ml, digital waterbath WB2R6H, Kromatografi Gas-Spektrometri Massa Shimidzu QP 2010, Analisis Kromatografi Cair Kinerja Tinggi/ Spektrometri Massa (HPLC/MS) Waser Xevo TQD, Laptop HP, prosesor 11th Gen Intel® Core™ i3-1115G4 @ 3.00 GHz, 2 core, dan 4 logical processor.

Bahan

Etanol 70%

Sampel

Sampel yang digunakan tanaman Dadap serep bagian daun (*Erythrina subumbrans*) dikumpulkan pada bulan Desember 2024 dari Dusun Demangan, kabupaten Magelang, Provinsi Jawa Tengah, Indonesia.

Tahapan/Jalannya Penelitian

1. Persiapan Sampel dan Bahan Kimia
Daun Dadap serep (*Erythrina subumbrans*) dikumpulkan dari bulan Desember 2024 dari Dusun Demangan, kabupaten Magelang, Provinsi Jawa Tengah, Indonesia. Tanaman yang dikumpulkan diidentifikasi melalui tahap determinasi oleh Laboratorium Sistematika Tumbuhan dari Fakultas

Biologi, Universitas Ahmad Dahlan. Bahan yang dibutuhkan untuk ekstraksi adalah etanol 70%.

2. Ekstraksi Bahan Alam

Daun *E. Subumbrans* dicuci bersih menggunakan air mengalir kemudian dikeringkan didalam oven pada suhu 50°C hingga kering. Diperoleh daun kering lalu diserbuk menggunakan mesin penggilingan hingga terbentuk 120 gr serbuk halus kemudian dimaserasi menggunakan 600 ml etanol 70% didalam erlenmeyer selama 2 hari. Diaduk dengan orbital shaker digital DLAB SK-0180 Pro selama 1 jam tiap hari. Pada hari ketiga kemudian dilakukan penyaringan dan remaserasi selama 3 hari dengan langkah yang sama. Langkah selanjutnya adalah penguapan pelarut hingga diperoleh ekstrak kental.

3. Penentuan Rendemen Ekstrak

Rendaman ekstrak dihitung menggunakan rumus
%Rendemen =

$$\frac{\text{Jumlah berat ekstrak kental (g)}}{\text{Jumlah berat kering simplisia (g)}} \times 100\%$$

Rendemen ekstrak kental daun Dadap serep diperoleh dengan membagi ekstrak kental yang diperoleh dengan jumlah simplisia

dikalikan 100%. Hal tersebut ditunjukkan dari 120 gram simplisia kering yang digunakan, diperoleh sebanyak 78 gram ekstrak cair kemudian dievaporasi lanjut hingga diperoleh ekstrak kental 25,4 gram. Berdasarkan perhitungan, rendemen yang dihasilkan sebesar 21,2%.

4. Analisis Kromatografi Gas/ Spektrometri Massa (GC/MS)

Analisis ekstrak daun *E. Subumbrans* dilakukan menggunakan GC Thermo Scientific ISQ LT tandem Single Quadropole Mass Spektrometer. Sebagian ekstrak (1mL) kemudian diinjeksikan ke dalam peralatan GC/MS. Selanjutnya, data ditampilkan setelah melewati kolom pemisahan HP5MS, panjang 30 m, id 0,25 mm, dan ketebalan 0,25 μ m (*Agilent Technologies, J&W Scientific Products, Santa Clara, CA*). Gas pembawa adalah helium. Suhu oven GC dimulai pada 100 °C dan dipertahankan selama 1 menit pada 260 °C, kemudian selama 10 menit dengan laju program 4 °C/menit. Suhu injektor dan detektor masing-masing ditetapkan pada 250 dan 230 °C. Rentang massa dipindai dari 50 hingga 550 sma. Identifikasi komponen didasarkan pada

perbandingan spektrum massa dengan spektrum massa *library* spektral massa NIST (11)

5. Analisis Kromatografi Cair Kinerja Tinggi/ Spektrometri Massa (HPLC/MS)

Analisis ekstrak daun *Erythrina subumbrans* dilakukan menggunakan LC/MS Waters aquity UPLC + XEVO TQD dengan pompa kuarterner dan detektor susunan dioda (DAD). Kolom tersebut digabungkan dengan spektrometer massa MSD Ion Trap XCT (*Agilent Technologies, Santa Clara, CA*) yang dilengkapi dengan antarmuka ionisasi elektro spray (ESI). Ekstrak disuntikkan ke kolom C-18 (4,6 x 25 cm, 5 μ m; Phenomenex UK, Macclesfield, UK). Spektrum direkam dalam mode ionisasi negatif dan positif antara m/z 50 dan 1200.

Analisa Data

1. Data Uji

Beberapa senyawa kimia uji dan protein target digunakan sebagai bahan penelitian. Senyawa golongan alkaloid hasil skrining fitokimia yang diperoleh dari uji GC-MS digunakan sebagai bahan uji, hasil skrining LC-MS digunakan sebagai informasi tambahan.

Protein target uji antibakteri adalah protein 2QNX, berupa struktur kristal kompleks antara senyawa 11-[(decyloxy carbonyl)dithio] undecanoic acid dengan mycobacterium beta-ketoacyl-acyl carrier protein synthase III (FABH). Perangkat keras dan perangkat lunak yang digunakan dalam penelitian ini peralatan instrumentasi. Perangkat keras berupa laptop HP, prosesor 11th Gen Intel® Core™ i3-1115G4 @ 3.00 GHz, 2 core, dan 4 logical processor. Perangkat lunak yang digunakan adalah iGEMDOCK v2, Chemdraw 19 dan Chimera-1.16 (Pettersen et al., 2004) didownload dari <https://www.cgl.ucsf.edu/chimera/download.html>.

Igemdock v2 digunakan untuk analisis docking primer. Interaksi residual kompleks dievaluasi menggunakan perangkat lunak Chimera-1.16.

2. Desain Struktur Kimia

Model ligan uji dibuat menggunakan struktur dari basis data PubChem, yang kemudian dioptimalisasi untuk stabilitas senyawa uji. Chimera 1.13.1 dan disimpan sebagai file *.mol2 atau *.pdb. Fitur perhitungan aplikasi Chimera 1.13.1 harus digunakan untuk menentukan stabilitas energi ligan uji sebelum docking. Senyawa golongan

alkaloid yang digunakan sebagai ligan uji telah dipastikan memiliki stabilitas energi (12).

3. Mempersiapkan Struktur Ligand dan Protein

Sebelum docking golongan alkaloid dari daun *Erythrina* subumbrans dan dibandingkan dengan kontrol positif, ligan uji diunduh dari PubChem dalam bentuk 3D, dioptimalkan menggunakan Chimera 1.13.1, lalu disimpan dalam bentuk file *.sdf atau *.pdb. Protein diunduh dari www.rcsb.org dengan menghilangkan hidrogen polar, ligand dan protein disesuaikan. fleksibilitas ligand kemudian disimpan dalam format *.mol2. Makromolekul protein 2QNX dan 3LN0 dioptimalkan dengan menampilkan atom hidrogen polar dan menyusunnya sebagai makromolekul kaku dengan format *.pdb (13).

4. Validasi Protein (2QNX)

Kristal protein dipastikan memiliki resolusi kristal kurang dari 2,50 Å. Berdasarkan hasil analisis interaksi antara ligan dan reseptor, diketahui bahwa 34,8% rantai protein (residu) memiliki kecocokan yang tinggi terhadap kerapatan elektron, yang ditunjukkan oleh nilai $\Delta G \leq -10$ dan frekuensi kemunculan yang tinggi

dalam ikatan. Sementara itu, sekitar 30,4% residu menunjukkan fraksi dengan ketidakcocokan terhadap kerapatan elektron, ditandai oleh nilai $\Delta G > -5$ atau kontribusi interaksi yang rendah. Sisanya, sebesar 34,8%, menunjukkan kecocokan sedang terhadap kerapatan elektron. Penyelarasan ligan asli dan ligan uji melalui *redocking* dilakukan untuk memastikan bahwa protein 2QNX layak untuk digunakan docking.

5. Docking Molekular

RCSB dapat dihubungi untuk memperoleh struktur kristal 2QNX. Pada kedua model, ligan dan protein target, atom tambahan dihilangkan dari air dengan menambahkan hidrogen menggunakan program UCSF Chimera-1.13.1 (14). Dengan hasil optimal dalam energi kompleks minimal, Igemdock menentukan bagaimana bentuk molekul berubah dan bagaimana ligan berinteraksi dengan protein target.

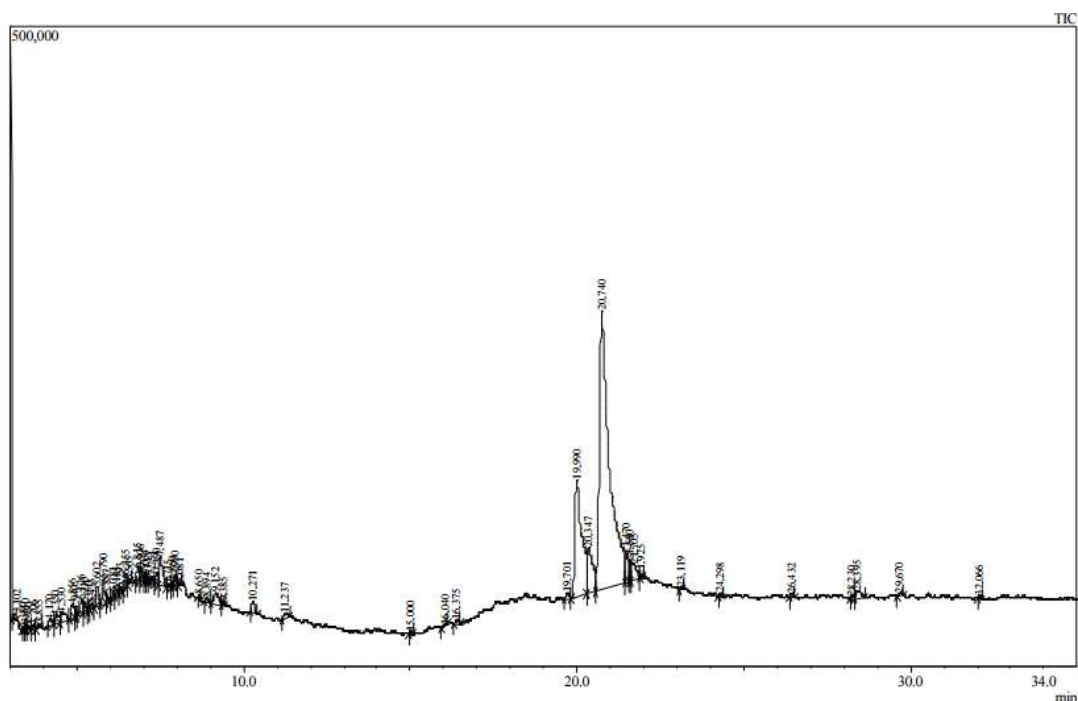
HASIL DAN PEMBAHASAN

Kromatografi gas memisahkan komponen-komponen campuran, dan spektroskopi massa menganalisis setiap

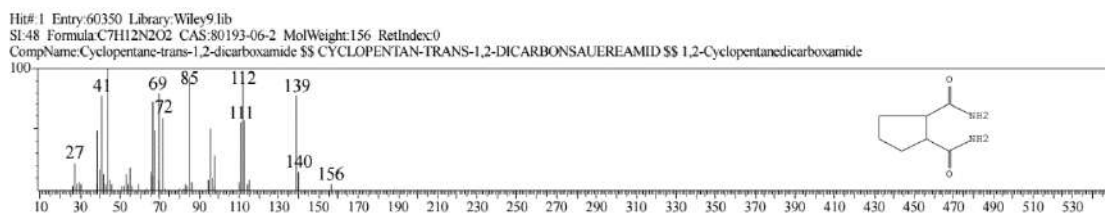
komponen secara terpisah (15). Ini adalah salah satu teknik terbaik untuk mengidentifikasi konstituen bioaktif seperti hidrokarbon rantai panjang, alkohol, asam, ester, alkaloid, steroid, senyawa amino dan nitro, dll. (16). GC/MS diterapkan secara luas dalam deteksi obat, analisis lingkungan, investigasi bahan peledak, aplikasi medis, farmasi, lingkungan, forensik, dan identifikasi senyawa tanaman yang belum diketahui (17). Investigasi terkini terlibat dalam identifikasi dan isolasi senyawa terapeutik baru yang penting secara medis dari tanaman tingkat tinggi untuk penyakit tertentu (18). Melalui analisis GCMS, total 58 senyawa alami teridentifikasi dalam ekstrak etanol *Erythrina* subumbrans. Berdasarkan struktur kerangka utama alkaloid maka terpilih delapan senyawa golongan alkaloid yang digunakan sebagai materi uji. Senyawa tersebut memiliki kerangka utama cincin polisiklik yang mengandung setidaknya satu atom nitrogen yang terikat didalam atau diluar cincin tersebut, atau dalam rantai sampingnya. Pengamatan jumlah senyawa hasil skrining ditunjukkan dengan % area dan waktu retensi (RT) pada GC disajikan pada Gambar 1, sedangkan pada spektrum MS senyawa

golongan alkaloid satu pada Gambar 2 ditunjukkan berat molekul senyawa induk satu yaitu 465 g/mol dan fragmen

senyawa tersebut dari ekstrak etanol *Erythrina* subumbrans.



Gambar 1. Kromatogram GC Hasil Skrining Daun Dadap Serep



Gambar 2. Spektrum Massa Salah Satu Senyawa Alkaloid (Peak 52; rt 23,119 Menit)

Protein target yang dilakukan pada penelitian ini adalah struktur protein 5E1G, yang merupakan kristal struktur dari L,D-transpeptidase 2 (sering disingkat Ldt2) dari *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. Dalam struktur ini, L,D-transpeptidase 2 terikat dengan molekul

inhibitor/antibiotik jenis karbapenem — ligand bernama T208 (kode ligand “T8G” di PDB). L,D-transpeptidase 2 adalah enzim non-klasik yang berperan dalam pembentukan peptidoglikan dinding sel bakteri, khususnya pada *M. tuberculosis*. Enzim ini berbeda dari D,D-transpeptidase klasik (target β -

laktam tradisional), sehingga struktur ini penting untuk desain obat baru antituberkulosis—target alternatif terhadap bakteri resisten (19). Dengan mengisikan kode 5E1G, struktur 3D protein target dapat diperoleh dari Protein Data Bank (PDB), yang dapat ditemukan di <https://www.rcsb.org/>. Kemudian, struktur PDB dapat diunduh dalam format PDB.

Delapan struktur 3D senyawa diperoleh dari National Library of Medicine (PubChem) pada situs <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>.

Ligan uji diminimalkan energinya menggunakan metode MM2 di Chem 3D dan *dock prep* pada software UCSF Chimera. Protein 5E1G dipisahkan dari molekul lain seperti molekul air dan ligan alaminya, kemudian ditambahkan muatan dan atom H sehingga hanya menyisakan satu *chain* saja. Tujuan memilih *chain* protein target adalah untuk membuatnya lebih mudah menemukan lokasi ikatan senyawa uji selama proses docking. Tujuan preparasi adalah untuk menghilangkan senyawa-senyawa yang tidak termasuk residu asam amino dan molekul air. Hal ini dilakukan untuk memastikan protein tujuan tidak mengganggu proses docking dan mencegah ikatan ligan

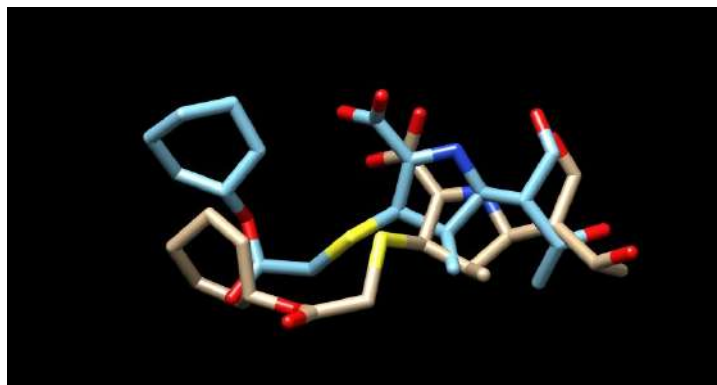
dengan air membentuk ikatan hidrogen. Selain menghilangkan senyawa-senyawa tersebut, atom hidrogen ditambahkan untuk mengoptimalkan senyawa. Tujuan penambahan atom hidrogen (protonasi) adalah untuk menyesuaikan suasana docking sehingga lebih dekat dengan pH fisiologis (20). Hasil optimasi disimpan dalam bentuk .mol2.

Validasi metode docking atau re-docking digunakan untuk memvalidasi metode docking. Prinsip umumnya yaitu melalui mendockingkan ulang ligan asli ke protein targetnya. Untuk melakukan ini, protein dan senyawa dipreparasi dengan cara dan parameter docking. Nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) adalah parameter yang digunakan untuk validasi ini. RMSD adalah jarak deviasi dari posisi pengikatan ligan asli ke protein setelah docking ke posisi pengikatan ligan asli yang sebenarnya. Nilai RMSD ini bisa juga disebut dengan jarak ikatan (21).

Nilai RMSD penting untuk program docking karena dapat mengetahui apakah prediksi modus ikatan berhasil atau tidak. Nilai RMSD pada umumnya dikatakan baik jika nilainya $\leq 2\text{\AA}$. Kesalahan prediksi interaksi ligan dengan protein

berkorelasi positif dengan tingkat penyimpangan (22). Hasil validasi docking diperoleh RMSD 2,0 Å yang artinya protokol yang dipilih untuk

docking dinyatakan valid dan akurat. Visualisasi redocking dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Visualisasi Redocking Native (Abu-Abu) Dengan Docking Ligan (Biru)

Dengan menggunakan *software* iGEMDOCK, keenam ligan uji yang telah dioptimalisasi dilakukan docking ke protein target yang telah dipreparasi dan tervalidasi. Hasil docking ditentukan oleh total interaksi van der Waals dan ikatan hidrogen yang terbentuk selama proses docking. Ikatan yang terbentuk menunjukkan afinitas

senyawa terhadap protein target. Semakin negatif total energi ikatan, semakin stabil ikatan yang terbentuk.

Energi ikat dari monomer atau senyawa yang diperoleh dari hasil redocking dipelajari lebih lanjut, enam senyawa pada daun Dadap serep menunjukkan energi ikat total minimum seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Docking Ligan Uji Dan Isoniazid (K⁺) Dengan Protein 5E1G

No	Compound	PubChem CID	Rumus Molekul	Total Binding Energy	VDW	HBond
1	Octahydro-2H-pyrido(1,2-a)pyrimidin-2-one	592977	C ₈ H ₁₄ N ₂ O	-68.32	-51.89	-16.43
2	3-Hydroxy-2-(2-methylcyclohex-1-enyl)propionaldehyde	572960	C ₁₀ H ₁₆ O ₂	-74.96	-56.99	-17.97
3	Cyclopentane-Trans-1,2-Dicarboxamide	541790	C ₇ H ₁₂ N ₂ O ₂	-76.72	-55.24	-21.48
4	(1-propylheptyl)cyclohexane	524439	C ₁₆ H ₃₂	-89.46	-89.46	0
5	1-tert-butyl-2-(2-methyl-1-phenylpropan-2-yl)diaziridin-3-one	561132	C ₁₅ H ₂₂ N ₂ O	-85.17	-71.97	-13.2

6	1-Acetyl-2-methylcyclohexene semicarbazone	9603071	C ₁₀ H ₁₇ N ₃ O	-76.97	-68.43	-8.54
7	Isoniazid	3767	C ₆ H ₇ N ₃ O	-67.81	-50.03	-17.78

Dalam studi docking senyawa baru, menggunakan Isoniazid sebagai kontrol positif membantu menilai apakah senyawa kandidat memiliki afinitas/poses yang setara atau lebih baik dari obat yang sudah terbukti. Hal ini membantu validasi metode docking. Misalnya, membandingkan nilai binding-affinity atau pola interaksi (23).. Hasil docking dari enam senyawa alkaloid menggunakan protein 5E1G ditunjukkan pada skor docking di Tabel 1. Dari keenam ligan alkaloid tersebut terlihat bahwa (1-propylheptyl) cyclohexane memiliki nilai docking terkecil, yang menunjukkan bahwa memiliki kemungkinan antibakteri yang lebih baik untuk berinteraksi dengan protein target, namun hal ini bersifat probabilitas. Nilai energi yang diperoleh merupakan dasar empiris sehingga tidak merujuk langsung pada nilai dalam satuan kkal/mol. Secara umum nilai tersebut kontras dengan substituen gugus elektronegatif namun semakin negatif menandakan semakin spontan & semakin kuat interaksi, sehingga

binding affinity menjadi lebih baik terhadap senyawa tersebut (1).

Dari hasil analisis interaksi ligan dan reseptor diperoleh jumlah hubungan tertinggi yang ditunjukkan oleh nilai energi ikat dalam iGEMDOCK. Hasil docking yang menunjukkan kelompok dengan energi paling kecil dicatat sebagai representasi rata-rata interaksi. Afinitas ikatan minimum menunjukkan potensi aktivitas antibakteri senyawa bioaktif (24). Hasil perhitungan afinitas (total binding energy) menunjukkan nilai yang cukup tinggi karena iGEMDOCK menggunakan fungsi penilaian basis empiris sehingga nilai yang diperoleh tidak langsung mengacu pada energi dalam kkal/mol. Interaksi molekul yang terbentuk seperti pada Tabel 2. Energi ikat bebas memperlihatkan kuantitas energi yang diperlukan guna membentuk ikatan antara protein dengan ligan. Dimana, semakin minus nilai ΔG maka afinitas ikatan protein target-ligan akan semakin tinggi dan menimbulkan aktifitas biologis yang kuat, dan senyawa tersebut semakin berpotensi sebagai

obat. Interaksi antara ligan dan protein target melibatkan interaksi hidrogen serta hidrofobik (25).

Hasil docking mengungkapkan bahwa interaksi terkuat memiliki posisi yang tepat. Pose dengan binding affinity paling negatif menunjukkan kecocokan

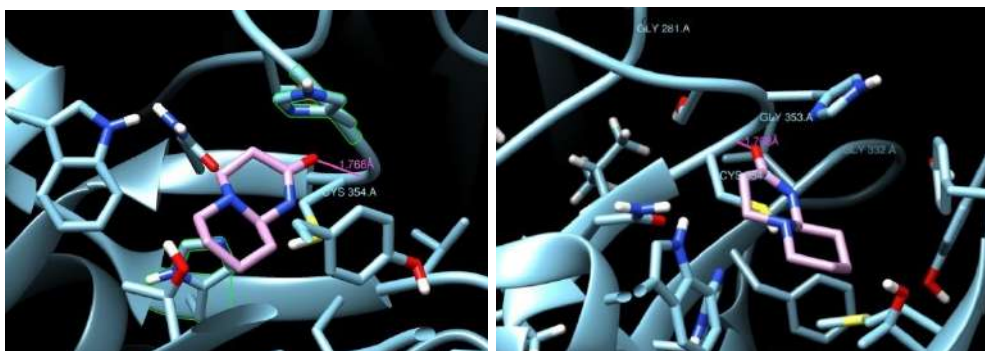
geometri yang baik serta interaksi kimia yang optimal, sehingga dianggap sebagai posisi ligan yang paling valid secara structural. Hubungan antara protein dan ligan divisualisasikan dalam tampilan 3D.

Tabel 2. Energi Bebas, Hidrogen, Ikatan Van der Waals Residu dan Ligan

Compounds	Main Chain Receptor				Side Chain Receptor			
	H-bond-residue	ΔG Kcal/mol	V-bond-residue	ΔG Kcal/mol	H-Bond-residue	ΔG Kcal/mol	V-bond-residue	ΔG Kcal/mol
Octahydro-2H-pyrido(1,2-a)pyrimidin-2-one	HIS 352	-3.5	-	-	CYS 354	-4.5	THR 320	-4.1
	GLY 353	-3.5	-	-			VAL 322	-6.9
	CYS 354	-3.5					HIS 366	-6.0
							HIS 352	-6.3
3-Hydroxy-2-(2-methylcyclohex-1-enyl)propionaldehyde	HIS 352	-3.5	-	-	TRP 340	-3.5	TYR 318	-5.6
	CYS 354	-3.5	-	-			THR 320	-4.3
	ASN 356	-3.5					VAL 322	-5.6
							HIS 336	-6.1
							TRP 340	-5.2
							HIS 352	-7.8
Cyclopentane-Trans-1,2-Dicarboxamide	SER 331	-3.5	GLY 332	-7.9	TYR 318	-8.5	TYR 318	-7.0
	GLY 332	-6.9	VAL 333	-5.2			VAL 333	-5.4
			HIS 352	-6.7				
			GLY 353	-6.0				
(1-propylheptyl)cyclohexane	-	-	SER 351	-6.5	-	-	THR 320	-5.8
			HIS 352	-6.5			VAL 322	-7.6
			ASN 356	-8.2			HIS 336	-9.9
							TRP 340	-8.5
							SER 351	-4.6
							HIS 352	-13.5
							CYS 354	-4.0
1-tert-butyl-2-(2-methyl-1-phenylpropan-2-yl)diaziridin-3-one-1	HIS 352	-5.2	SER 351	-11.3	CYS 354	-2.5	HIS 336	-6.9
	GLY 353	-3.3	HIS 352	-9.3			TRP 340	-7.5
	CYS 354	-3.5	GLY 353	-4.3			SER 351	-6.7
			CYS 354	-6.7			HIS 352	-16.4
			ASN 356	-9.9				
1-Acetyl-2-methylcyclohexane semicarbazone	HIS 352	-3.5	HIS 352	-6.2	CYS 354	-2.6	MET 303	-4.1
			GLY 353	-4.1			TYR 318	-13.2
							VAL 322	-6.0
							HIS 352	-8.6
Isoniazid	GLY 332	-3.5	-	-	THR 320	-3.5	MET 303	-7.7
					HIS 336	-3.5	TYR 318	-7.5
					CYS 354	-7.3	THR 320	-5.6
							VAL 322	-9.9

Ikatan hidrogen melibatkan interaksi antar atom hidrogen dengan muatan positif sebagian bersama atom lainnya dengan sifatnya elektronegatif seperti fluor (F), nitrogen (N), dan oksigen (O) (26). Interaksi van der Waals interaksi adalah gaya tarik-menarik lemah antar atom pada ligan dan protein target yang terjadi pada jarak sangat

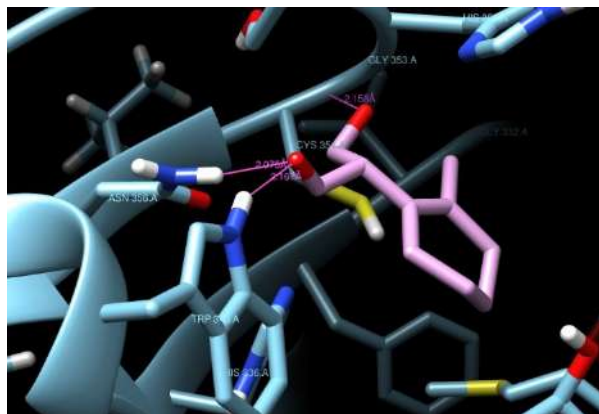
dekat, berfungsi untuk menentukan afinitas pengikatan yang sangat penting untuk memperkirakan bagaimana molekul kecil akan pas dan berinteraksi dalam kantong pengikatan protein. Analisis docking molekuler terhadap enam senyawa kandidat menunjukkan variasi energi ikatan bebas (ΔG) dan jenis interaksi yang terjadi.



Gambar 4. Interaksi Hidrogen Senyawa 1 dengan Cys354, Gly353

Senyawa Octahydro-2H-pyrido(1,2-a)pyrimidin-2-one menunjukkan afinitas interaksi yang cukup baik dengan total energi ikat sebesar -68.32. Nilai ini masih lebih baik dari pada total energi ikat isoniazid walaupun jika dibandingkan dengan senyawa alkaloid lain paling rendah. Jika dilihat dari komponen ikatan hidrogen dan van der Waals maka terdapat masing-masing empat residu asam amino yang berinteraksi seperti pada tabel 2. Hal tersebut dikarenakan struktur senyawa satu dalam menempati poket atau

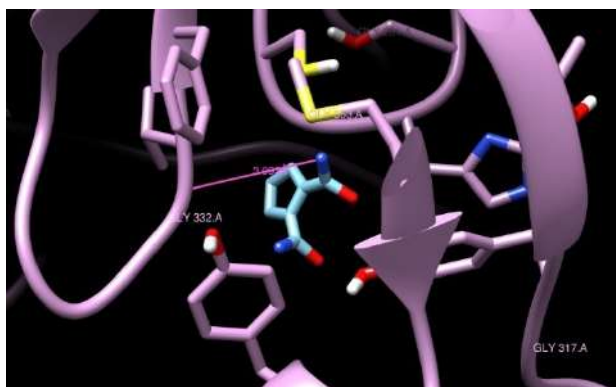
binding site tidak didominasi pengaruh spesifitas ikatan hidrogen yang terjadi pada atom-atom senyawa satu, begitu juga pengaruh solvasi air pada poket juga tidak terlalu besar sehingga bagian permukaan non polar senyawa satu tidak terlalu dipengaruhi penghilangan air. Interaksi utama terjadi pada residu GLY 353 sebesar -3.5 kcal/mol dan CYS 354 sebesar -4.5 kcal/mol, untuk ikatan hidrogen dan interaksi van der Waals seperti tertera dalam tabel 2.



Gambar 5. Interaksi Hidrogen Senyawa 2 dengan Asn356, Trp340, Cys354

Senyawa 3-Hydroxy-2-(2-methylcyclohex-1-enyl)propionaldehyde juga menunjukkan interaksi yang sangat baik dengan total energi ikat sebesar -74.96. Komponen van der Waals menyumbang dominasi residu yang berinteraksi dengan ligan uji dengan total enam residu dan ikatan hydrogen dengan empat residu seperti pada tabel 2. Interaksi yang paling signifikan

adalah dengan residu ASN 356, TRP 340 dan CYS 354, dengan ΔG masing-masing sebesar -3.5, -3.5 dan -3.5 kcal/mol, menunjukkan stabilitas dan potensi tinggi dalam mengikat protein target. Senyawa ini memiliki potensi sebagai antituberkulosis urutan ke lima dari senyawa golongan alkaloid.



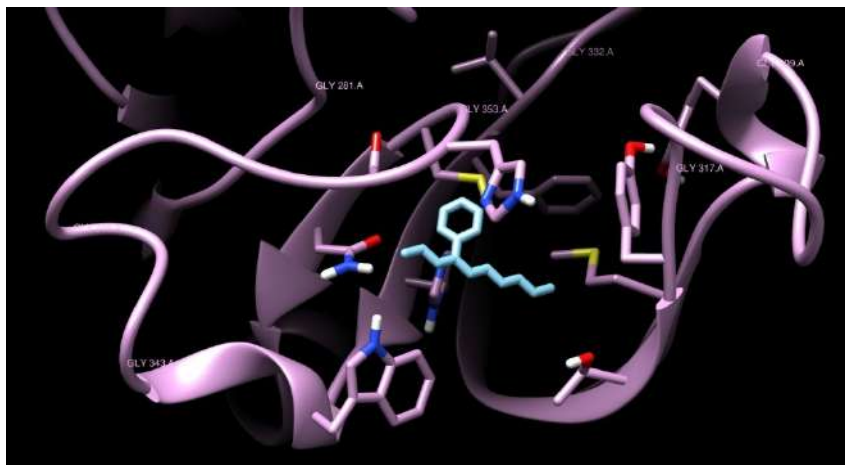
Gambar 6. Interaksi Hidrogen Senyawa 3 dengan Gly332

Senyawa Cyclopentane-Trans-1,2-Dicarboxamide memiliki total energi interaksi sebesar -76.72, menunjukkan afinitas yang cukup baik. Senyawa ini memiliki urutan ke empat

potensi sebagai antituberkulosis dari senyawa golongan alkaloid. Interaksi hidrogen tercatat dengan SER 331, GLY 332, dan TYR 318 sedangkan interaksi van der Waals terjadi dengan

GLY 332, VAL 333, HIS 352, dan GLY 352. Interaksi kuat terlihat pada residu GLY 332 dengan ΔG sebesar -7.9 kcal/mol dan TYR 318 dengan -8.5

kcal/mol. Hal ini menunjukkan bahwa meskipun afinitas total tidak sekuat dua senyawa sebelumnya, namun interaksi pada residu kunci tetap signifikan.

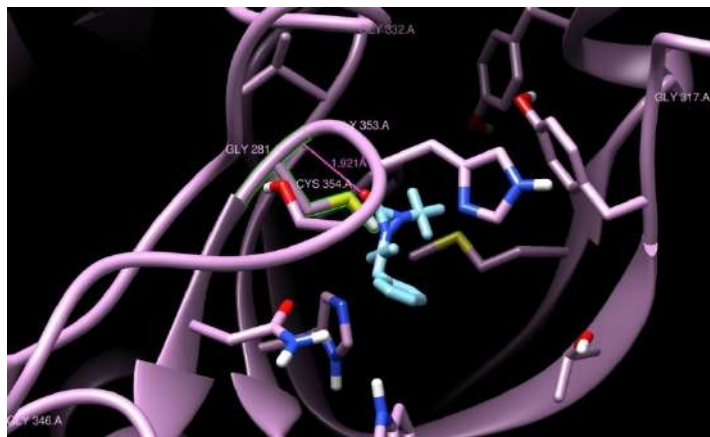


Gambar 7. Interaksi Van Der Waals Senyawa 4 dengan Residu Protein

Senyawa (1-propylheptyl)cyclohexane menunjukkan afinitas paling tinggi terhadap protein target dengan total energi ikat sebesar -89.46, begitu juga interaksi van der waals dengan nilai sama sebesar -89.46 dan interaksi ikatan hidrogen sebesar 0. Senyawa ini semua membentuk interaksi van der walls dengan residu seperti CYS 354, GLY 353 (Gambar 4), dan residu lain dengan interaksi yang sama seperti pada tabel 2. Dari energi bebas ikat yang dihasilkan menunjukkan bahwa senyawa empat paling poten sebagai kandidat obat dibandingkan dengan senyawa alkaloid lain, begitu juga jika dibandingkan dengan isoniazid yang memiliki nilai

$\Delta G = -67.81$. Dominasi interaksi van der waals dikarenakan target mempunyai pocket yang dalam & tertutup (buried) sehingga vdW/hidrofobik dan penghilangan air cenderung dominan sehingga terjadi penurunan energi solvasi air dan banyaknya atom kontak rapat dengan reseptor (27).

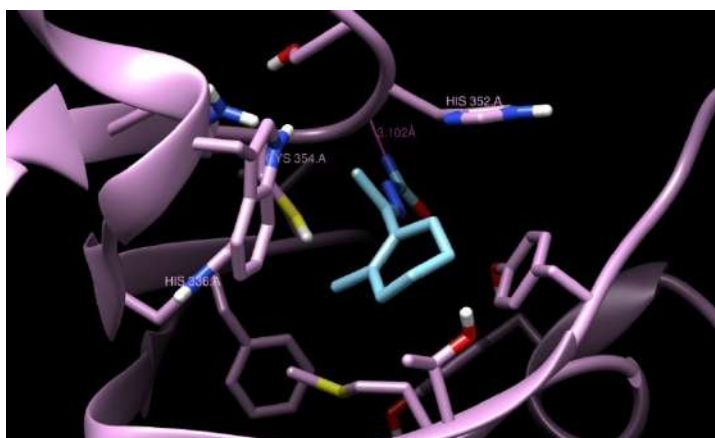
Hasil docking menunjukkan tidak ada interaksi akibat ikatan hydrogen antara senyawa empat dengan residu, hal tersebut dikarenakan energi docking lebih banyak berasal dari kontak non-polar yang berimplikasi pada interaksi van der Waals dan hidrofobik yang lebih besar.



Gambar 8. Interaksi Hidrogen Senyawa 5 dengan Cys354

Senyawa 1-tert-butyl-2-(2-methyl-1-phenylpropan-2-yl)diaziridin-3-one-1 menunjukkan total energi ikat sebesar -85.17 kcal/mol dan berada di urutan ke dua diantara jajaran senyawa golongan alkaloid lain, di mana kontribusi interaksi van der waals -71.97 kcal/mol dan energi ikatan hidrogen sebesar -13.20 kcal/mol. Interaksi total van der waals masih mendominasi dengan sembilan asam amino yang berinteraksi secara hidrofobik dan empat asam amino yang

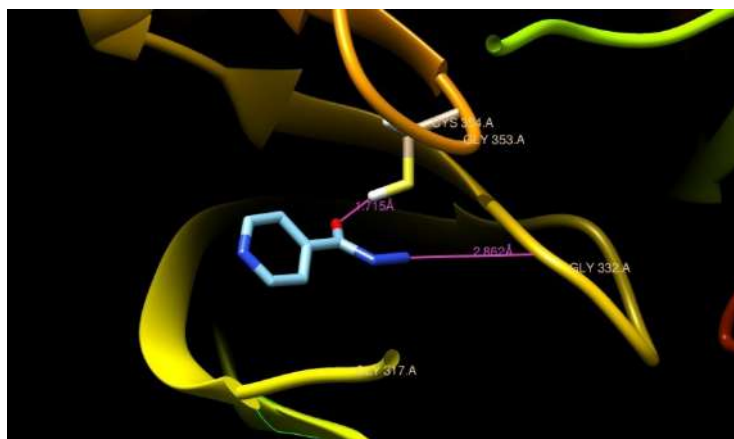
berinteraksi ikatan hidrogen seperti yang terdapat pada tabel 2. Farmakofor pada senyawa lima di dominasi oleh gugus aromatic (benzena) dan atom karbon seperti gugus metil (-CH₃) sehingga meningkatkan luas permukaan non polar yang menyebabkan interaksi hidrofobik meningkat. Sedangkan satu atom oksiden pada cincin dinitrogen menyebabkan gugus polar terbatas sehingga hanya satu ikatan hidrogen yang terbentuk.



Gambar 9. Interaksi Hidrogen Senyawa 6 dengan His352

Senyawa 1-Acetyl-2 methyl cyclo hexene semicarbazone memiliki energi total ikat -76.97 kcal/mol, dengan dominasi energi van der waals (-68.43 kcal/mol) dan ikatan hidrogen yang rendah (-8.54 kcal/mol). Ikatan hidrogen teridentifikasi berikatan pada asam amino HIS 352, serta interaksi van der waals dengan HIS 352, GLY 353, MET 303, TYR 318 dan VAL 322.

Yang paling menonjol adalah interaksi dengan TYR 318 sebesar -13.2 kcal/mol, menunjukkan bahwa jika ditinjau dari energi ikat asing-masing asam amino maka interaksi van der waals lebih berpengaruh secara keseluruhan dalam interaksi dengan protein target.



Gambar 10. Interaksi Hidrogen Isoniazid dengan Gly332, Cys354

Senyawa Isoniazid mencatat energi total ikat -67.81 kcal/mol, dengan van der waals sebesar -50.03 kcal/mol dan ikatan hidrogen -13.2 kcal/mol. Interaksi hydrogen utama terjadi dengan GLY 332, THR 320, HIS 336 dan CYS 354, serta van der waals dengan MET 303, TYR 318, THR 320 dan VAL 322. Interaksi terkuat

hidrogen yakni pada CYS 354 $\Delta G = -7.3$ kcal/mol sedangkan pada van der waals pada VAL 322 $\Delta G -9.9$ kcal/mol. Isoniazid sebagai kontrol positif memiliki kemampuan berinteraksi paling lemah karena energi total ikat paling rendah dari pada senyawa kandidat obat golongan alkaloid.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa

ekstrak daun dadap serep (*Erythrina subumbrans*) yang diekstraksi mengandung beberapa metabolit sekunder terutama enam senyawa

golongan terpenoid melalui analisis GC-MS. Keenam senyawa tersebut adalah Octahydro-2H-pyrido (1,2-a) pyrimidin-2-one, 3-Hydroxy-2-(2-methylcyclohex-1-enyl) propionaldehyde, Cyclopentane-Trans-1,2-Dicarboxamide, (1-propylheptyl) cyclohexane, 1-tert-butyl-2-(2-methyl-1-phenylpropan-2-yl) diaziridin-3-one-1, 1-Acetyl-2methylcyclohexenesemicarbazone. Hasil uji molecular docking terhadap protein target 5E1G menunjukkan bahwa seluruh senyawa yang teridentifikasi memiliki potensi sebagai antituberculosis dimana senyawa yang memiliki potensi terbaik adalah senyawa (1-propylheptyl) cyclohexane dengan total energi ikat - 89.46.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Majelis Diklitbang Pimpinan Pusat Muhammadiyah atas dukungan pendanaan melalui program hibah riset Muhammadiyah, sehingga penelitian ini dapat dilaksanakan dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Scholnik-Cabrera A. Current Approaches to Overcome Antimicrobial Resistance. *Current Medicinal Chemistry*. 2023;30(1):3–4.
- Sun W, Shahrajabian MH. Therapeutic Potential of Phenolic Compounds in Medicinal Plants—Natural Nealth Products for Human Health. *Molecules*. 2023;28(4):1845.
- Mugiyanto E, Slamet S, Fatmala R. Karakterisasi Simplisia dan Ekstrak Anti Piretik Daun Dadap Serep (*Erythrina Lithosperma* Miq) dari Kabupaten Pekalongan. In: *Prosiding University Research Colloquium*. 2018. p. 669–74.
- Wibowo Y. Penggunaan *Erythrina* subumbtans sebagai Alternatif Terapi Bendungan ASI pada Ibu Menyusui. *Journal of Maternal and Child Health*. 2020;9(3):187–92.
- Noor Kholidha A, Putu Wira Putra Suherman I. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Dadap Serep (*Erythrina lithosperma* Miq) sebagai Antibakteri terhadap Bakteri *Salmonella typhi*. *Medula*. 2016;4(1):281–90.
- Yan Y, Li X, Zhang C, Lv L, Gao B, Li M. Research Progress on Antibacterial Activities and Mechanisms of Natural Alkaloids: A Review. *Antibiotics* [Internet]. 2021 Mar 19 [cited 2025 Dec 10];10(3):318. Available from: <https://www.mdpi.com/2079-6382/10/3/318>
- Arifin SN, Pratiwi D, Setiawan AA. Studi in silico Senyawa Flavonoid Dari Ekstrak Kacang Panjang (*Vigna sinensis* L.) sebagai Penumboh Rambut dengan Reseptor Androgen. *Jurnal Farmagazine*. 2017;4(2):31–7.
- Hardjono S. Pemodelan Molekul, Sintesis dan Penentuan Aktivitas Antineoplastik 1-(4-Trifluorometilbenzoyl) oksil Urea. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 2017;14(1):62–5.
- Makatita FA. Riset In silico dalam Pengembangan Sains di Bidang

- Pendidikan, Studi Kasus: Analisis Potensi Cendana sebagai Agen Anti-aging. *Jurnal ABDI (Sosial, Budaya dan Sains)*. 2020;2(1).
10. Montero MAM, Wardani AK, others. Studi In silico Senyawa Golongan Flavonoid dari Ranting dan Akar Dadap Serep (*Erythrina subumbrans*) Sebagai Antipiretik. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*. 2024;86–93.
 11. Masada Y. Analysis of Essential Oils by Gas Chromatography and Mass Spectrometry. 1976;
 12. Brogi S, Ramalho TC, Kuca K, Medina-Franco JL, Valko M. In Silico Methods for Drug Design and Discovery. Vol. 8, *Frontiers in chemistry*. Frontiers Media SA; 2020. p. 612.
 13. Khalaf HS, Naglah AM, Al-Omar MA, Moustafa GO, Awad HM, Bakheit AH. Synthesis, Docking, Computational Studies, and Antimicrobial Evaluations of New Dipeptide Derivatives Based on Nicotinoylglycylglycine Hydrazide. *Molecules*. 2020;25(16):3589.
 14. Richa M, Tita N, Tresna L, others. Molecular Docking of 1-benzoyl-3-methylthiourea as Anti Cancer Candidate and Its Absorption, Distribution, and Toxicity Prediction. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2017;9(5):680.
 15. Kugara J, Chinheya R, Wakandigara A, Mungondori H. Extraction and Characterisation of Phytochemicals from White Seringa (*Kirkia acuminata*) Bark Extracts. *Pharmaceutical Sciences*. 2018;
 16. Srinivasan P, Chella Perumal P, Sudha A. Discovery of Novel Inhibitors for Nek6 Protein through Homology Model Assisted Structure Based Virtual Screening and Molecular Docking Approaches. *The Scientific World Journal* [Internet]. 2014 [cited 2025 Dec 6];2014:1–9. Available from: <http://www.hindawi.com/journals/tswj/2014/967873/>
 17. Gopalakrishnan V, Perumal P, Sowmya S, Pratibha P, Vidya B, Anusooriya P, et al. Isolation, structural characterization and in silico drug-like properties prediction of a natural compound from the ethanolic extract of *Cayratia trifolia* (L.). *Phcog Res* [Internet]. 2015 [cited 2025 Dec 6];7(1):121. Available from: <https://www.phcogres.com/article/2015/7/1/1041030974-8490147226>
 18. Sr N, Vk P, An P, Jena S, Jb L, Yn T. Efficacy of pinching and plant growth regulators in enhancing yield characters of cucumber. *International Journal of Chemical Studies*. 2018;6(1):1804–7.
 19. Kumar P, Kaushik A, Lloyd EP, Li SG, Mattoo R, Ammerman NC, et al. Non-classical transpeptidases yield insight into new antibacterials. *Nat Chem Biol* [Internet]. 2017 Jan [cited 2025 Dec 9];13(1):54–61. Available from: <https://www.nature.com/articles/nchembio.2237>
 20. Pratama AB, Herowati R, Ansory HM. Studi Docking Molekuler Senyawa dalam Minyak Atsiri Pala (*Myristica fragrans* H.) dan Senyawa Turunan Miristisin terhadap Target Terapi Kanker Kulit. *Majalah Farmaseutik*. 2021;17(2):233–42.
 21. Atmoko HD, Pangestuti IR, Maulina E, Kusuma TM, Wardani AK, Kaltsum U. In silico Study to Molecular Docking Study Testing the Activity of Clove Flower Essential Oil Components (*Syzigium aromaticum* (L)) as Anti-

- breast Cancer on EGFR Receptors. In: AIP Conference Proceedings. 2023.
22. Brooijmans N. Docking Methods, Ligand Design, and Validating Data Sets in the Structural Genomic Era. *Structural bioinformatics*. 2009;11(1):635–63.
23. Jena L, Waghmare P, Kashikar S, Kumar S, Harinath BC. Computational approach to understanding the mechanism of action of isoniazid, an anti-TB drug. *International Journal of Mycobacteriology* [Internet]. 2014 Dec [cited 2025 Dec 9];3(4):276–82. Available from: <http://www.ijmyco.org/article.asp?issn=2212-5531;year=2014;volume=3;issue=4;spage=276;epage=282;aulast=Jena>
24. Tania POA, Listyawati AF, Soekanto A, Simamora D, Purbowati R, others. Studi Invitro dan Insilico Efektivitas Antibakteri Kunyit Putih Terhadap Hambatan Pertumbuhan Escherichia Coli. *The Indonesian Journal of Infectious Diseases*. 2024;10(1):47–67.
25. Purnomo RY. Potensi Antimalaria Senyawa Azadiractin, Gedunin, dan Nimbolide dalam Mengikat PfATP6 dan Menghambat Lactate Dehydrogenase: Studi In Silico. *Jurnal Bio Komplementer Medicine*. 2019;6(3).
26. Bintari YR, Damayanti DS. Skrining Potensi Essential Oil Pogostemon Cablin Bent Secara In Silico dalam Penghambatannya terhadap ACE II dan TMPRSS2 sebagai Anti Covid-19. *Jurnal Kesehatan Islam: Islamic Health Journal*. 2022;11(2):102–10.
27. Barratt E, Bingham RJ, Warner DJ, Laughton CA, Phillips SEV, Homans SW. Van der Waals Interactions Dominate Ligand–Protein Association in a Protein Binding Site Occluded from Solvent Water. *J Am Chem Soc* [Internet]. 2005 Aug 24 [cited 2025 Dec 9];127(33):11827–34. Available from: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ja0527525>