



CURRENT BIOCHEMISTRY

ISSN: 2355-7877

e-ISSN: 2355-7931

Journal homepage: <http://journal.ipb.ac.id/index.php/cbj>

Journal E-mail: current.biochemistry@gmail.com

CB Current
Biochemistry

Minyak atsiri Kapulaga (*Elettaria cardamomum*) sebagai inhibitor Sap 5 *Candida albicans* penyebab kandidiasis vulvovaginalis (KVV) secara *in silico*

Gusnia Meilin Gholam¹, Rini Kurniasih¹, I Made Artika^{1,*}

¹Department of Biochemistry, IPB University, Bogor, 16680, Indonesia

Received: 19 Agustus 2024 ; Accepted: 22 Agustus 2024

Corresponding author : e-mail: imart@apps.ipb.ac.id

ABSTRACT

Vulvovaginal candidiasis (VVC) is a disease caused by the inflammatory process of the vulva and vaginal mucosa caused by *Candida* sp., mainly *Candida albicans*. This study aimed to analyze the molecular interaction between the volatile oil in cardamom and Sap 5 as an inhibitor of *Candida albicans* causing VVC through *In silico* molecular interaction analysis. The methods used are analysis of homology, structural quality, and essential areas, receptor and ligand preparation, gridbox validation, virtual screening, Lipinski prediction and toxicity, and ligand-receptor interaction visualization analysis. The results showed that essential oils have the potential to inhibit Sap 5 through molecular bonding and produce interactions in the form of hydrogen bonds, electrostatic bonds, and hydrophobic interactions. The best test ligands were geranyl acetate (-6.78 kcal/mol), alpha-terpinyl acetate (-6.07 kcal/mol), 1,8-sineol (-5.47 kcal/mol), and linalool (-5.06 kcal/mol). The test ligands have contact with catalytic residues on Asp32/Asp218. In addition, the properties of these ligands also meet the Lipinski and toxicity rules, so they can be predicted to be safe.

Keywords: *Candida albicans*, cardamom, essential oil, *in silico*, Sap 5

ABSTRAK

Kandidiasis vulvovaginalis (KVV) merupakan penyakit akibat dari proses inflamasi vulva dan mukosa vagina yang disebabkan oleh *Candida* sp. utamanya *Candida albicans*. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis interaksi molekuler antara minyak atsiri yang terkandung pada kapulaga dengan Sap 5 sebagai inhibitor *Candida albicans* penyebab KVV melalui analisis interaksi molekuler secara *In silico*. Metode yang digunakan yaitu analisis homologi, kualitas struktur, dan daerah penting, preparasi reseptor dan ligan, validasi gridbox, penapisan virtual, prediksi Lipinski dan toksisitas, dan analisis visualisasi interaksi ligan-reseptor. Hasil penelitian menunjukkan bahwa minyak atsiri mempunyai potensi menghambat Sap 5 melalui penambatan molekuler dan menghasilkan interaksi berupa ikatan hidrogen, ikatan elektrostatik, dan interaksi hidrofobik. Golongan ligan uji yang terbaik yaitu geranyl asetat (-6.78 kkal/mol), alfa-terpinil asetat (-6.07 kkal/mol), 1,8-sineol (-5.47 kkal/mol), dan linalool (-5.06 kkal/mol). Ligan uji tersebut mempunyai kontak residu katalitik pada Asp32/Asp218. Selain itu, sifat ligan tersebut juga memenuhi aturan Lipinski dan toksisitas, sehingga dapat diprediksi aman.

Kata kunci: *Candida albicans*, kapulaga, minyak atsiri, *in silico*, Sap 5

1. PENDAHULUAN

Jamur yang diketahui bersifat patogen pada manusia berjumlah kurang lebih 600 spesies. Angka tersebut termasuk jamur yang dapat menginfeksi secara ringan hingga berat. Beberapa penelitian melaporkan bahwa *Candida albicans* (*C. albicans*) menjadi penyebab utama dari infeksi superfisial seperti kandidiasis vulvovaginalis dan kandidiasis oral (Mayer et al. 2013; Joo et al. 2013; Roselletti et al. 2019). Diperkirakan sebanyak 20-25% dari populasi dunia mengalami infeksi jamur dan persentase tersebut dapat menyerang semua usia dari laki-laki dan perempuan (Puspitasari et al. 2019). *C. albicans* merupakan spesies yang paling sering diidentifikasi dengan rata-rata 56% dari kasus kandidiasis. Selain itu, diketahui bahwa jamur ini mewakili spesies paling banyak di seluruh dunia dengan rata-rata 66% dari semua *Candida* spp. (Puspitasari et al. 2019; Nuraini et al. 2018; Kalista et al. 2017). Rekomendasi dari beberapa penelitian mengenai pengobatan infeksi oleh *C. albicans* pada penyakit Kandidiasis vulvovaginalis (KVV) antara lain ketokonazol, flukonazol, dan itrakonazol (Harnindya dan Agusni 2016). Badan Pengawas Obat dan Makanan 2014 melalui Yudhani et al. (2020) menjelaskan bahwa sekitar 1000 spesies tumbuhan yang berada di Indonesia dapat dimanfaatkan sebagai obat herbal dan sangat potensial untuk dikembangkan agar mendukung sektor kesehatan di Indonesia (Yudhani et al. 2020). Tanaman herbal dimanfaatkan oleh masyarakat salah satunya sebagai obat. Masyarakat menggunakan tanaman sebagai obat sesuai manfaat dan khasiatnya (Harefa 2020).

Vaginitas adalah masalah medis yang umum terjadi pada wanita (Karo et al. 2016). KVV akibat dari terjadinya proses inflamasi vulva dan mukosa vagina yang disebabkan oleh *Candida* sp. utamanya *C. albicans* (Puspitorini et al. 2018; Samosir et al. 2019). KVV menurut Puspitorini et al. (2018) umumnya terjadi pada

pasien imunokompromais dan diabetes. Prevalensi sebanyak 3 perempat wanita, semasa hidupnya mengalami KVV, terutama pada masa usia subur dan 5% wanita dapat mengalami rekurensi KVV (Karo et al. 2016; Puspitorini et al. 2018). Menurut data lain, diperkirakan 75% wanita akan mengalami infeksi sekurang-kurangnya satu kali dan sekitar 40-50% cenderung terjadi reinfeksi dengan disertai gejala seperti vulva terasa gatal, terbakar, iritasi, bau menyengat, keputihan (Karo et al. 2016; Samosir et al. 2019). Jamur yang menjadi penyebab KVV, bertumbuh dan berkembang di area vagina ketika dalam keadaan kurang bersih dan lembab (Tasik et al. 2016). Organisme ini juga dapat menginfeksi kulit, kuku, membran mukosa, saluran cerna dan menyebabkan penyakit sistemik (Widasmara et al. 2014). KVV Infeksi jamur simtomatis ataupun asimtomatis dengan hasil pemeriksaan yang dilaporkan mikroskopi dan kultur positif (Widasmara et al. 2014).

C. albicans adalah organisme yang membutuhkan suhu 25-30°C dan 35-37°C untuk dapat tumbuh dengan baik (Harnindya dan Agusni 2016). Dampak infeksi *Candida* pada kesehatan sebaiknya dapat menjadi perhatian, karena sangat merugikan perempuan seperti timbulnya beberapa gejala seperti timbulnya rasa gatal yang dapat menimbulkan lecet dan hubungan seks yang tidak nyaman, selain itu disebutkan bahwa kandidiasis juga dapat memfasilitasi infeksi *Human immunodeficiency virus* (HIV) (Harnindya dan Agusni 2016).

Salah satu jenis tumbuhan yang mempunyai potensi yaitu kapulaga (*Elettaria cardamomum*). Penelitian terdahulu membuktikan bahwa kapulaga mempunyai berbagai aktivitas antijamur dan antibakteri (Yudhani et al. 2020). Kandungan kapulaga antara lain minyak atsiri, saponin, flavonoid, alkaloid, tanin, polifenol, saponin dan triterpenoid (Afrina et al. 2016; Hartady et al. 2020). Khusnul dan Rinzani (2019) menyebutkan bahwa kapulaga mempunyai

aktivitas antimikroba terhadap beberapa mikroba patogen. Penelitian lain menyebutkan bahwa kapulaga mempunyai aktivitas antibakteri seperti *Helicobacter pylori*, *Campylobacter jejuni*, dan *Campylobacter coli*. Beberapa senyawa yang terdapat pada minyak atsiri kapulaga diketahui mempunyai potensi sebagai antiseptik yang sensitif terhadap bakteri di dalam rongga mulut, gigi berlubang yang menghasilkan bau mulut, dan infeksi lainnya seperti infeksi yang disebabkan *streptococcus mutans* dan *candida albicans*. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* juga dihambat dalam pertumbuhan patogennya (Afrina et al. 2016; Hartady et al. 2020).

Dua subfamili SAPs menjadi sorotan dalam proses ini: Sap4-6 terkait dengan ekspresi penanda diferensiasi keratinosit. Sap 5 dengan degradasi cadherin E pada persimpangan antar-epitel (Silva et al. 2019). Degradasi pada protein Cadherin E (persimpangan antarepitel) menyebabkan perubahan struktural dalam integritas jaringan dan memfasilitasi invasi oleh *C.albicans* (Silva et al. 2019). Oleh karena itu, Sap 5 diperkirakan paling signifikan untuk virulensi dalam infeksi lokal dan sistemik yang diakibatkan *C.albicans* (Silva et al. 2019). Beberapa literatur juga menganggap bahwa Sap 5 (terkait dengan invasi aktif) dapat menjadi target utama karena peran pentingnya dalam invasi terhadap jaringan (Silva et al. 2019), sehingga apabila ditemukan agen yang mampu menjadi inhibitor produksi *C.albicans* SAPs akan berguna dalam pengobatan terjadinya infeksi (Meenambiga et al. 2018).

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis interaksi molekuler antara senyawa yang terkandung dalam minyak atsiri pada kapulaga dengan Sap 5 sebagai inhibitor *Candida albicans* penyebab Kandidiasis vulvovaginalis melalui analisis interaksi molekuler secara *In silico*.

2. METODOLOGI

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah laptop HP 250 G5 Notebook PC dengan sistem operasi Windows 10 Professional 64-bit dan spesifikasi prosesor Intel® Core™ i3-6006U. Perangkat dilengkapi dengan 4,00 GB RAM dan software untuk simulasi penambatan molekuler seperti YASARA Structure, Discovery studio, PyMOL.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah file ligan dengan format *.sdf dan Sap 5 dengan *.pdb. Struktur 3D dari Sap 5 dengan kode PDB (2QZX) (Borelli et al. 2008) sebagai reseptor yang diunduh dari *RCSB Protein Data Bank*. Struktur 3D untuk ligan uji dan ligan pembanding diambil dari database PubChem. Ligan yang digunakan berjumlah 67 dari minyak atsiri kapulaga. Reseptor diketahui telah memiliki ligan hasil kristalografi yaitu pepstatin.

Analisis Homologi, Kualitas Struktur 3D dan Daerah Penting

Kualitas protein dianalisis menggunakan diagram Ramachandran melalui laman *The European Bioinformatics Institute* (EMBL-EBI) (<https://www.ebi.ac.uk/>). Hasil persen nilai stabilitas enzim ditampilkan berupa gambar plot diagram Ramachandran. Metode homologi menggunakan pendekatan BLAST NCBI (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) dan memilih *blastp suite*, kemudian sekuen asam amino reseptor uji disalin dan diletakkan pada kolom *query sequence*. Database dipilih Protein Data Bank (pdb) dan algoritma *blastp* (protein-protein BLAST). Hasil BLAST dilakukan pensejajaran untuk menganalisis daerah penting protein target (Komalasari 2021; Pangestu 2021).

Preparasi Reseptor

Setelah pengunduhan reseptor, struktur reseptor tiga dimensi dipreparasi menggunakan aplikasi YASARA *structure* (Bioinformatics 30,2981–2982 version 19.9.17). Tahap ini dimaksudkan untuk dapat menghilangkan molekul air dan penghilangan residu yang tidak diperlukan. kemudian ditambahkan atom hidrogen (Humaedi dan Halimatushadyah 2021; Komalasari 2021; Nurjanah 2021; Pannindriya *et al.* 2021; Putri 2021; Gholam 2022).

Preparasi Ligan

Laman PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) diperlukan untuk mengunduh seluruh bahan ligan uji dan alami dengan konformer (.sdf). Ligan dilakukan *energy minimization* dan penambahan atom hidrogen. Setelah itu, file disimpan dalam format (.pdb) setelah di minimalisasi energi (Gholam 2022).

Validasi Gridbox

Sebelum *screening*, perlu adanya validasi untuk mencari ukuran *gridbox* dengan memperhatikan nilai energi bebas ikatan (kcal/mol) paling negatif dan nilai RMSD terkecil. Ukuran ini dilakukan sebagai salah satu metode pendekatan validasi penambatan molekuler. Pencarian pengaturan *gridbox* terbaik dengan cara penambatan ulang ligan hasil kristalografi dengan menggunakan *dock_run*, medan gaya AMBER14, serta *runs=100* (Ali *et al.* 2020; Gholam 2022).

Penambatan Molekuler

Simulasi penambatan molekuler menggunakan perangkat lunak YASARA *structure* dengan memperhatikan zona penambatan ligan yang dibatasi oleh *gridbox* di area situs aktif reseptor. YASARA *structure* dalam pelaksanaan *Running* menggunakan file *dock_runscreening* serta *runs=100*, dan AMBER14. Hasil penapisan nantinya didapat file berbentuk (.txt), file ini akan secara otomatis muncul dalam folder kerja. File

berisi nilai energi bebas ikatan (kcal/mol) dan asam amino yang berinteraksi (Durai *et al.* 2017; Ali *et al.* 2020; Irsal *et al.* 2022).

Prediksi Lipinski dan Toksisitas Ligan

Analisis dan prediksi ligan menggunakan laman <http://lmmd.ecust.edu.cn/admet1/predict/> untuk toksisitas, sedangkan bioavailabilitas menggunakan laman <http://www.scfbio-iitd.res.in/software/drugdesign/lipinski.jsp>. Keduanya sama-sama menggunakan SMILES untuk menjalankan prediksi (Komalasari 2021; Nurjanah 2021). Analisis ini bertujuan untuk memprediksi sifat kandidat ligan uji.

Analisis dan Visualisasi Interaksi Ligan-Reseptor

Analisis hasil penapisan untuk melihat energi pada file hasil running penapisan (.txt). File lain yaitu (.job) diubah terlebih dahulu menjadi (.pdb), agar dapat dimuat pada BIOVIA Discovery Studio untuk visualisasi 2D dan PyMOL untuk visualisasi 3D serta dapat dianalisis interaksi Reseptor-Ligan (Komalasari 2021; Nurjanah 2021; Putri 2021; Irsal *et al.* 2024).

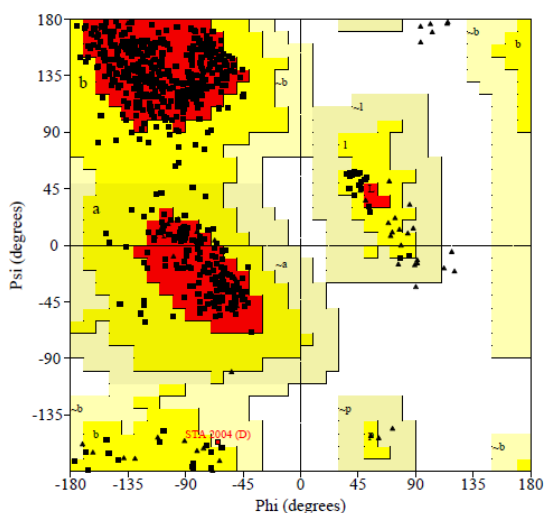
3. HASIL

Homologi Reseptor

Hasil analisis sekuen homolog *Secreted aspartic proteinase 5 Candida albicans* pada BLAST NCBI menunjukkan sekuen mirip dengan SAP 1, SAP2, Secreted Aspartic Protease (1ZAP_A), SAP3, dan *Structure of the extracellular aspartic proteinase from Candida tropicalis yeast* (1J71_A). Kemiripan sekuen tersebut dapat dianalisis dengan melihat beberapa parameter yaitu *max score*, *total score*, *query cover*, dan *per-ident*. Sekuen yang diketahui paling mendekati kemiripan dengan SAP 5 dari *C. albicans* yaitu SAP 1 dari *C. albicans* dengan *per-ident* sebesar 57.82% pada SAP 1 (Tabel 1).

Kualitas Struktur Reseptor

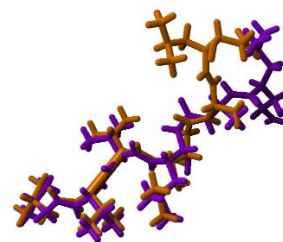
Reseptor yang digunakan berasal dari *Candida albicans* yaitu enzim Sap 5 dengan kode protein data bank (PDB) 2QZX yang diperoleh dari RCSB PDB. Resolusi sinar X sebesar 2.50 Å. Kestabilan struktur Sap 5 dianalisis dengan diagram Ramachandran plot (Gambar 2). Ramchandran dari Sap 5 menunjukkan Sap 5 mempunyai 518 (85.2%) residu asam amino yang terdapat pada daerah yang diinginkan (*most favoured regions*), 89 (14,6%) residu asam amino terletak di daerah yang diperkenankan (*additional allowed regions*), dan 0 (0.0%) residu asam amino terletak di daerah yang dihindari (*disallowed regions*).



Gambar 2 Analisis 2QZX pada Ramachandran plot

Validasi Gridbox

Validasi dilakukan untuk menentukan ukuran yang akan digunakan dalam penambatan molekuler dengan ligan uji. Validasi menggunakan ligan hasil kristalografi yaitu pepstatin dengan cara penambatan ulang. Tahap penambatan ulang menggunakan file perintah dock_run dengan runs=100 dan Amber 14. Penambatan ulang menggunakan ukuran dengan rentang 0.5 Å – 5 Å. Tahap validasi menunjukkan hasil terbaik pada ukuran 4.5 Å dengan nilai RMSD sebesar 0 Å dan energi bebas -9.61 kkal/mol. Visualisasi dari penambatan ulang terlihat pada Gambar 9.



Gambar 3 Hasil penambatan ulang pepstatin. Warna merah bata merupakan posisi pepstatin sebelum validasi. Warna ungu merupakan posisi pepstatin setelah validasi.

Penapisan Virtual

Perangkat lunak yang digunakan untuk penapisan virtual yaitu YASARA *structure*. senyawa yang digunakan dari turunan minyak atsiri berjumlah 67. Ligan pembanding yang digunakan yaitu liriodenin, sedangkan pepstatin sebagai ligan hasil kristalografi juga digabungkan bersama dengan ligan uji dan ligan pembanding. Parameter utama yang digunakan adalah energi bebas ikatan. Ligan pembanding dan ligan hasil kristalografi dijadikan sebagai kontrol dari energi bebas ikatan dalam penelitian ini.

Setelah dilakukan penyaringan seluruh ligan, ligan hasil kristalografi dan ligan pembanding tetap mempunyai energi bebas ikatan paling negatif dari pada ligan uji dari turunan minyak atisiri. Ligan hasil kristalografi yaitu pepstatin memiliki nilai energi bebas ikatan sebesar -9.54 kkal/mol, kemudian ligan pembanding yaitu liriodenin dengan nilai energi bebas ikatan -8.29 kkal/mol. Tiga ligan uji yang menjadi sorotan dalam penelitian ini yaitu alfa-terpinil asetat, 1,8-sineol, dan linalool masing-masing mempunyai energi bebas ikatan -6.07 kkal/mol, -5.47 kkal/mol, dan -5.06 kkal/mol. Ligan uji yang mempunyai energi bebas ikatan paling negatif yaitu geranil asetat dengan nilai -6.78 kkal/mol. Selain itu, ligan uji yang memiliki nilai energi bebas ikatan lebih kecil dari -5.00 kkal/mol yang berjumlah 63 ligan akan diambil sebagai data ligan potensial yang kemudian dianalisis lebih lanjut mengenai sifat berdasarkan *Lipinski rule of five* dan toksisitas ligan. Ligan uji yang

mempunyai hasil energi bebas ikatan semakin negatif menandakan semakin kuat interaksi dengan reseptor target, hal ini diketahui berdasarkan penelitian ini. Hasil penapisan virtual dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2 Ligan Hasil Penapisan Virtual menggunakan YASARA *structure*

No	Ligan	Energi bebas ikatan (kkal/mol)
1	Pepstatin (Ligan Hasil Kristalografi)	-9.54
2	Liriodenin (Ligan Pembanding)	-8.29
3	Geranil asetat	-6.78
4	Carvone asetat	-6.69
5	beta-selinene	-6.55
6	Kariofilen oksida	-6.42
7	Gamma-Cadinene	-6.39
8	2E,6E-farnesol	-6.08
9	Alfa-terpinil asetat	-6.07
10	Asam geranik	-6.03
11	trans-nerolidol	-5.99
12	Linalil asetat	-5.97
13	Carvacrol	5.96
14	cis-Dihydrocarvone	-5.96
15	cis-Carveol	-5.93
16	Carvone	-5.92
17	Perilla alcohol	-5.91
18	Cuminol	-5.90
19	Neril asetat	-5.88
20	Terpinolena	-5.86
21	Timol	-5.85
22	trans-Linalool oksida (furanoid)	-5.79
23	cis-linalool oksida (furanoid)	-5.78
24	Trans-P-Menth-2-En-1,8-Diol	-5.77
25	Sabinene	-5.74
26	P-Mentha-1,5-Dien-8-Ol	-5.74
27	Alfa-Pinene	-5.72
28	Alfa-Terpinene	-5.72
29	Alfa-Thujene	-5.72
30	Cis-P-2-Menthen-1-Ol	-5.72
31	Cis-P-Mentha-2,8-Dien-1-Ol	-5.72
32	cis-Piperitol	-5.72
33	Verbenone	-5.70
34	Trans-P-Menth-2-En-1-Ol	-5.69
35	trans-Pinocarveol	-5.69
36	trans-Sabinene hidrat	-5.69
37	Cuminal	-5.66
38	Metil eugenol	-5.64
39	Bornil asetat	-5.61
40	P-Cymen-8-Ol	-5.61

41	Asam heksadekanoat	-5.59
42	Terpinen-4-Ol	-5.59
43	1,8-Menthadien-4-Ol	-5.56
44	Eugenol	-5.55
45	trans-Carveol	-5.55
46	p-Cymene	-5.54
47	Pinocarvone	-5.54
48	gamma-Terpinene	-5.51
49	Geranial	-5.51
50	Limonene	-5.50
51	Dehydro-1,8-Sineol	-5.50
52	beta-Pinene	-5.50
53	trans-1,2-limonene epoksida	-5.49
54	Nerol	-5.47
55	1,8-Sineol	-5.47
56	Neral	-5.42
57	1,3,8-P-Menthatriene	-5.36
58	Geraniol	-5.35
59	cis-beta-Ocimene	-5.23
60	Camphene	-5.21
61	trans-beta-Ocimene	-5.13
62	Hotrienol	-5.12
63	Linalool	-5.06
64	Cis-4-Decenal	-4.87
65	Cis-8-Methylbicyclo[4.3.0]non-3-ene	-4.87
66	6-Methyl-5-hepten-2-one	-4.80
67	Myrcene	-4.78
68	Octanol	-4.69
69	Octanal	-4.36

Keterangan: *highligh t* biru muda = Ligan uji yang dipilih berdasar pada persentase terbanyak analisis GC-MS dan energi bebas ikatan tertinggi.

Prediksi Lipinski

Berdasarkan Tabel 3, sebanyak 63 ligan uji yang diambil dari hasil penapisan virtual memenuhi aturan Lipinski, sehingga dinyatakan kategori lolos. Hal itu dikarenakan ligan uji hasil penapisan tidak melanggar Lipinski *Rule of five* lebih dari 2 aturan yang berlaku, dimana ligan yang memenuhi standar tersebut maka diberikan lolos dalam tabel dan dapat dianalisis secara lebih lanjut apabila digunakan secara oral. Satu ligan uji yang melanggar aturan satu aturan Lipinski yaitu asam heksadekanoat pada LogP dengan nilai 5.552299, akan tetapi ligan uji tersebut tetap termasuk dalam kategori lolos Lipinski *rule of five*.

Tabel 3 Karakteristik Ligan berdasarkan Aturan Lipinski

Ligan	Massa Atom Relatif	Donor Ikatan Hidrogen	Akseptor Ikatan Hidrogen	LogP	Refraktifitas Molar	Keterangan
Pepstatin (Ligan Hasil Kristalografi)	312	5	6	-0.053101	77.145782	Lolos
Liriodenin (Ligan Pembanding)	275	0	4	2.234540	76.325989	Lolos
Geranil asetat	210	0	0	3.819099	64.941994	Lolos
Carvone asetat	208	0	3	2.378700	57.010986	Lolos
beta-selinene	204	0	0	4.725199	66.742981	Lolos
Kariofilen oksida	220	0	1	3.936399	66.263985	Lolos
Gamma-Cadinene	204	0	0	4.581099	66.672981	Lolos
2E,6E-farnesol	222	1	1	4.397899	72.498772	Lolos
Alfa-terpinil asetat	196	0	2	3.074500	56.942986	Lolos
Asam geranik	168	1	1	2.763700	50.057789	Lolos
trans-nerolidol	222	1	1	4.396299	72.476776	Lolos
Linalil asetat	196	0	2	3.240599	59.032982	Lolos
Carvacrol	150	1	1	2.824019	46.932793	Lolos
cis-Dihydrocarvone	152	0	1	2.567800	46.325989	Lolos
cis-Carveol	152	1	1	2.279700	47.301788	Lolos
Carvone	150	0	1	2.487900	46.301991	Lolos
Perilla alcohol	152	1	1	2.281300	47.323788	Lolos
Cuminol	150	1	1	2.302300	46.453793	Lolos
Neril asetat	196	0	2	3.242199	59.054981	Lolos
Terpinolena	136	0	0	3.452999	45.981991	Lolos
Timol	150	1	1	2.824019	46.932793	Lolos
trans-Linalool oksida (furanoid)	170	1	2	1.881000	49.006786	Lolos
cis-linalool oksida (furanoid)	170	1	2	1.881000	49.006786	Lolos
Trans-P-Menth-2-En-1,8-Diol	170	2	2	1.474500	48.785587	Lolos
Sabinene	136	0	0	2.998699	43.751987	Lolos
P-Mentha-1,5-Dien-8-Ol	152	1	1	2.279700	47.301788	Lolos
Alfa-Pinene	136	0	0	2.998699	43.751987	Lolos
Alfa-Terpinene	136	0	0	3.308899	45.911991	Lolos
Alfa-Thujene	136	0	0	2.998699	43.751987	Lolos
Cis-P-2-Menthen-1-Ol	154	1	1	2.359600	47.325787	Lolos
Cis-P-Mentha-2,8-Dien-1-Ol	152	1	1	2.279700	47.301788	Lolos
cis-Piperitol	154	1	1	2.359600	47.325790	Lolos
Verbenone	150	0	1	2.177700	44.141991	Lolos
Trans-P-Menth-2-En-1-Ol	154	1	1	2.359600	47.325787	Lolos
trans-Pinocarveol	152	1	1	1.969500	45.141788	Lolos
trans-Sabinene hidrat	154	1	1	2.193500	45.235786	Lolos
Cuminal	148	0	1	2.622500	45.918495	Lolos
Metil eugenol	178	0	2	2.432300	53.446987	Lolos
Bornil asetat	196	0	2	2.764300	54.782986	Lolos

P-Cymen-8-Ol	150	1	1	2.222420	46.423794	Lolos
Asam heksadekanoat	256	1	2	5.552299	77.947777	Lolos
Terpinen-4-Ol	154	1	1	2.503700	47.395790	Lolos
1,8-Menthadien-4-Ol	152	1	1	2.423800	47.371788	Lolos
Eugenol	164	1	2	2.129300	48.559792	Lolos
trans-Carveol	152	1	1	2.279700	47.301788	Lolos
p-Cymene	134	0	0	3.118419	45.267994	Lolos
Pinocarvone	150	0	1	2.177700	44.141991	Lolos
gamma-Terpinene	136	0	0	3.308899	45.911991	Lolos
Geranial	152	0	1	2.877999	48.485989	Lolos
Limonene	136	0	0	3.308899	45.911987	Lolos
Dehydro-1,8-Sineol	152	0	1	2.520100	45.432987	Lolos
beta-Pinene	136	0	0	2.998699	43.751987	Lolos
trans-1,2-limonene epoksida	312	5	6	-0.053101	77.145782	Lolos
Nerol	154	1	1	2.671399	49.507786	Lolos
1,8-Sineol	154	0	1	2.744100	45.526985	Lolos
Neral	152	0	1	2.877999	48.485989	Lolos
1,3,8-P-Menthatriene	134	0	0	3.228999	45.887989	Lolos
Geraniol	154	1	1	2.671399	49.507786	Lolos
cis-beta-Ocimene	136	0	0	3.474999	48.001987	Lolos
Camphene	136	0	0	2.998699	43.751991	Lolos
trans-beta-Ocimene	136	0	0	3.474999	48.001987	Lolos
Hotrienol	152	1	1	2.445800	49.391788	Lolos
Linalool	154	1	1	2.669800	49.485786	Lolos

Keterangan: *highlight* biru muda = Ligan uji yang dipilih berdasar pada persentase terbanyak analisis GC-MS dan energi bebas ikatan paling negatif dari kelompok ligan uji.

Toksistas Ligan Uji

Prediksi toksistas dapat melihat parameter antara lain *human ether-a-go-go related gene* (herG), karsinogenik, dan toksistas oral akut (LD50), dan *human intestinal absorption* (HIA). Berdasarkan analisis parameter tersebut, diketahui 64 ligan uji masuk dalam kategori Inhibitor lemahh pada herG. Sifat karsinogenik yang diprediksi dari 64 ligan uji yang terpilih, ternyata 10 diantaranya memiliki sifat karsinogenik. Kesepuluh ligan uji yang mempunyai sifat karsinogenik dari hasil prediksi antara lain Linalil asetat, Cuminol, Neril asetat, P-Cymen-8-Ol, p-Cymene, Geranial, Neral, cis-beta-Ocimene, trans-beta-Ocimene, dan Hotrienol.

Prediksi Toksistas oral menunjukkan bahwa dari total 64 ligan hanya 3 diantaranya

yang memiliki kategori IV yang berarti sedikit berbahaya, dan yang termasuk dalam kategori tersebut yaitu Linalil asetat, Bornil asetat, dan Asam heksadekanoat. HIA dari seluruh ligan uji, hanya ligan hasil kristalografi yaitu Pepstatin yang mempunyai HIA- dengan skor 0.6364, sehingga agak sulit diabsorpsi. Hasil prediksi keseluruhan dapat dilihat pada Tabel 4.

Interaksi Ikatan dan Kontak Residu Penapisan Virtual

Berdasarkan penapisan virtual menggunakan Yasara, perlu adanya analisa kontak residu asam amino dan interaksi yang terjadi seperti hidrofobik maupun hidrogen. Kami menganalisis interaksi 4 kompleks enzim-ligan terbaik.

Tabel 4 Prediksi Toksisitas Ligan Hasil Penapisan Virtual

Ligan	Inhibisi Human Ether-A-Go-Go Related Gene (herG)		Karsinogenik		Toksisitas Oral		Human Intestinal Absorption (HIA)	
	Kategori	Skor	Kategori	Skor	Kategori	Skor	Kategori	skor
Pepstatin (Ligan Hasil Kristalografi)	Inhibitor Lemah	0.9942	Tidak karsinogenik	0.8131	III	0.6414	HIA-	0.6364
Liriodenin (Ligan Pemanding)	Inhibitor lemah,	0.9850	Tidak karsinogenik	0.9702	III	0.6509	HIA+	1.0000
Geranil asetat	Inhibitor lemah,	0.9821	Tidak karsinogenik	0.6034	III	0.8697	HIA+	0.9765
Carvone asetat	Inhibitor lemah	0.8917	Tidak karsinogenik	0.7668	III	0.6400	HIA+	0.9893
beta-selinene	Inhibitor lemah	0.8717	Tidak karsinogenik	0.8131	III	0.8388	HIA+	0.9947
Kariofilen oksida	Inhibitor lemah	0.8720	Tidak karsinogenik	0.7292	III	0.8166	HIA+	0.9950
Gamma-Cadinene	Inhibitor lemah	08089	Tidak karsinogenik	0.7728	III	0.7950	HIA+	0.9968
(2E,6E)-farnesol	Inhibitor lemah	0.7838	Tidak karsinogenik	0.5055	III	0.8552	HIA+	0.9846
Alfa-terpinil asetat	Inhibitor lemah	0.9332	Tidak karsinogenik	0.6462	III	0.7462	HIA+	1.0000
Asam geranik	Inhibitor lemah	0.9397	Tidak karsinogenik	0.8193	III	0.8193	HIA+	0.9598
trans-nerolidol	Inhibitor lemah	0.8464	Tidak karsinogenik	0.5830	III	0.9000	HIA+	0.9792
Linalil asetat	Inhibitor lemah	0.9416	Karsinogenik	0.5787	IV	0.6409	HIA+	0.9738
Carvacrol	Inhibitor lemah	0.8987	Tidak karsinogenik	0.7195	III	0.8351	HIA+	0.9955
cis-Dihydrocarvone	Inhibitor lemah	0.6019	Tidak karsinogenik	0.8523	III	0.8245	HIA+	0.9945
Neril asetat	Inhibitor lemah	0.8928	Karsinogenik,	0.5219	III	0.5909	HIA+	0.9937
Terpinolena	Inhibitor lemah	0.8209	Tidak karsinogenik	0.6580	III	0.7058	HIA+	0.9963
Timol	Inhibitor lemah	0.8987	Tidak karsinogenik	0.7195	III	0.8351	HIA+	0.9955
trans-Linalool oksida (furanoid)	Inhibitor lemah	0.9788	Tidak karsinogenik	0.7648	III	0.8102	HIA+	0.9835
cis-linalool oksida (furanoid)	Inhibitor lemah	0.9788	Tidak karsinogenik	0.7648	III	0.8102	HIA+	0.9835
Trans-P-Menth-2-En-1,8-Diol	Inhibitor lemah	0.9656	Tidak karsinogenik	0.8233	III	0.8975	HIA+	0.9945
Sabinene	Inhibitor lemah	0.9353	Tidak karsinogenik	0.7732	III	0.7601	HIA+	0.9858
P-Mentha-1,5-Dien-8-Ol	Inhibitor lemah	0.9640	Tidak karsinogenik	0.6007	III	0.5697	HIA+	0.9969
Alfa-Pinene	Inhibitor lemah	0.9641	Tidak karsinogenik	0.6096	III	0.8258	HIA+	0.9964
Alfa-Terpinene	Inhibitor lemah	0.9010	Tidak karsinogenik	0.6199	III	0.8506	HIA+	0.9953
Alfa-Thujene	Inhibitor lemah	0.9653	Tidak karsinogenik	0.6717	III	0.6216	HIA+	0.9959
Cis-P-2-Menthen-1-Ol	Inhibitor lemah	0.9491	Tidak karsinogenik	0.8313	III	0.8682	HIA+	0.9953
Cis-P-Mentha-2,8-Dien-1-Ol	Inhibitor lemah	0.9098	Tidak karsinogenik	0.8605	III	0.8083	HIA+	0.9883

cis-Piperitol	Inhibitor lemah	0.8359	Tidak karsinogenik	0.8534	III	0.7298	HIA+	0.9953
Verbenone	Inhibitor lemah	0.9654	Tidak karsinogenik	0.7742	III	0.7560	HIA+	1.0000
Trans-P-Menth-2-En-1-Ol	Inhibitor lemah	0.9545	Tidak karsinogenik	0.8226	III	0.8912	HIA+	0.9972
trans-Pinocarveol	Inhibitor lemah	0.9338	Tidak karsinogenik	0.8314	III	0.8328	HIA+	0.9871
trans-Sabinene hidrat	Inhibitor lemah	0.9579	Tidak karsinogenik	0.8475	III	0.8141	HIA+	0.9932
Cuminal	Inhibitor lemah	0.9629	Tidak karsinogenik	0.5102	III	0.9307	HIA+	1.0000
Metil eugenol	Inhibitor lemah	0.8488	Tidak karsinogenik	0.8119	III	0.9019	HIA+	0.9938
P-Cymen-8-Ol	Inhibitor lemah	0.9691	Karsinogenik	0.5541	III	0.5173	HIA+	0.9944
Bornil asetat	Inhibitor lemah	0.9483	Tidak karsinogenik	0.7995	IV	0.4812	HIA+	0.9969
Asam heksadekanoat	Inhibitor lemah	0.9322	Tidak karsinogenik	0.6452	IV	0.6378	HIA+	0.9888
Terpinen-4-Ol	Inhibitor lemah	0.8716	Tidak karsinogenik	0.8500	III	0.8121	HIA+	0.9969
1,8-Menthadien-4-Ol	Inhibitor lemah	0.8354	Tidak karsinogenik	0.8664	III	0.8489	HIA+	0.9906
Eugenol	Inhibitor lemah	0.8355	Tidak karsinogenik	0.8432	III	0.8605	HIA+	0.9832
trans-Carveol	Inhibitor lemah	0.8007	Tidak karsinogenik	0.7990	III	0.8021	HIA+	0.9854
p-Cymene	Inhibitor lemah	0.9573	Karsinogenik	0.5481	III	0.8434	HIA+	0.9960
Pinocarvone	Inhibitor lemah	0.9300	Tidak karsinogenik	0.8100	III	0.7917	HIA+	0.9961
gamma-Terpinene	Inhibitor lemah	0.9359	Tidak karsinogenik	0.5240	III	0.8413	HIA+	0.9972
Geranial	Inhibitor lemah	0.8752	Karsinogenik	0.5847	III	0.8232	HIA+	0.9919
Limonene	Inhibitor lemah	0.7745	Tidak karsinogenik	0.6913	III	0.9069	HIA+	0.9887
Dehydro-1,8-Sineol	Inhibitor lemah	0.9134	Tidak karsinogenik	0.7969	III	0.7021	HIA+	0.9926
beta-Pinene	Inhibitor lemah	0.9157	Tidak karsinogenik	0.7520	III	0.8344	HIA+	0.9834
trans-1,2-limonene epoksida	Inhibitor lemah	0.8685	Tidak karsinogenik	0.8036	III	0.8102	HIA+	0.9818
Nerol	Inhibitor lemah	0.7838	Tidak karsinogenik	0.5055	III	0.8552	HIA+	0.9842
1,8-Sineol	Inhibitor lemah	0.8743	Tidak karsinogenik	0.7856	III	0.8147	HIA+	0.9880
Neral	Inhibitor lemah	0.8752	Karsinogenik	0.5847	III	0.8232	HIA+	0.9919
1,3,8-P-Menthatriene	Inhibitor lemah	0.8724	Tidak karsinogenik	0.6500	III	0.8646	HIA+	0.9859
Geraniol	Inhibitor lemah	0.7838	Tidak karsinogenik	0.5055	III	0.8552	HIA+	0.9846
cis-beta-Ocimene	Inhibitor lemah	0.9243	Karsinogenik	0.7261	III	0.6148	HIA+	0.9764
Camphene	Inhibitor lemah	0.9237	Tidak karsinogenik	0.7712	III	0.8360	HIA+	0.9857
trans-beta-Ocimene	Inhibitor lemah	0.9243	Karsinogenik	0.7261	III	0.6148	HIA+	0.9764

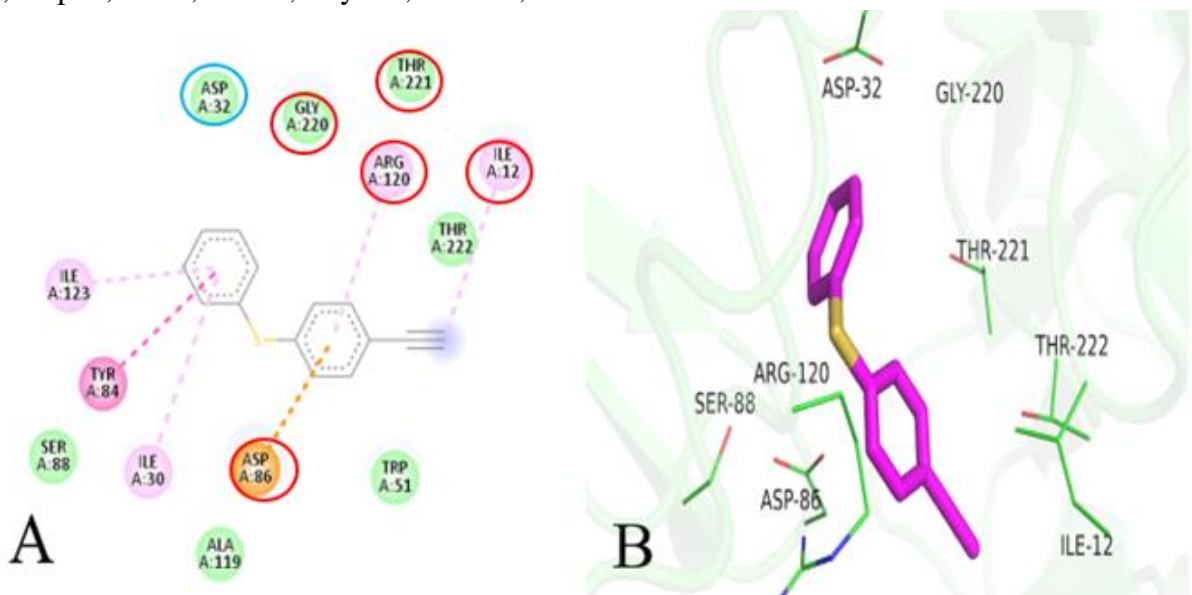
Hotrienol	Inhibitor lemah	0.9218	Karsinogenik	0.6352	III	0.8199	HIA+	0.9618
Linalool	Inhibitor lemah	0.9163	Tidak karsinogenik	0.5721	III	0.8335	HIA+	0.9741

Keterangan: *highlight* biru muda = Ligan uji yang dipilih berdasar pada persentase terbanyak analisis GC-MS dan energi bebas ikatan paling negatif dari kelompok ligan uji.

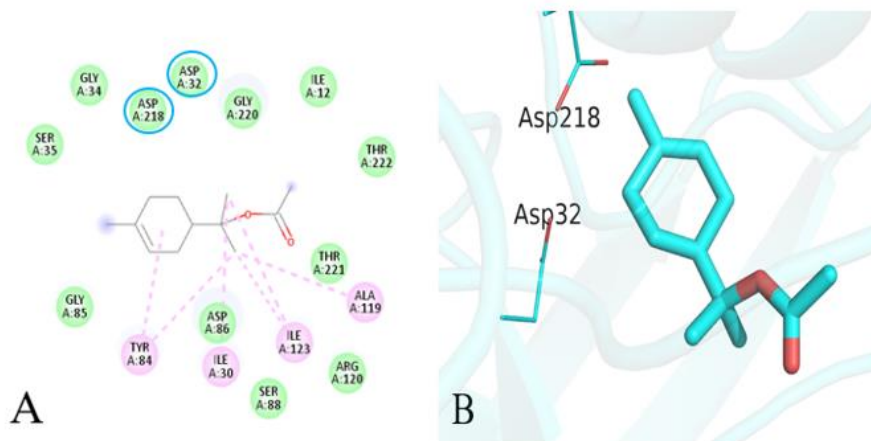
Geranil asetat sebagai ligan uji yang mempunyai energi bebas ikatan paling negatif (-6.78 kkal/mol) dari golongan ligan uji yang mendekati ligan pembanding dan ligan hasil kristalografi mempunyai kontak residu yaitu Ile12, Ile30, Asp32, Tyr84, Asp86, Ser88, Ala119, Arg120, Ile123, Gly220, Thr221, Thr222. Keseluruhan residu asam amino tersebut tergolong interaksi hidrofobik. Visualisasi 2D dan 3D dapat dilihat pada Gambar 4. Alfa-terpinil asetat dengan energi bebas ikatan -6.07 kkal/mol mempunyai kontak residu asam amino Ser35, Gly34, Asp218, Asp32, Ala119, Ile30, Ile123, Tyr84. Keseluruhan kontak residu asam amino tersebut masuk dalam interaksi hidrofobik. Visualisasi 2D dan 3D dapat dilihat pada Gambar 5.

1,8-sineol dengan energi bebas ikatan -5.47 kkal/mol mempunyai kontak residu asam amino yaitu Asp86, Arg120, Trp51, Ser88, Gly85, Asp32, Ile12, Thr13, Gly220, Thr222,

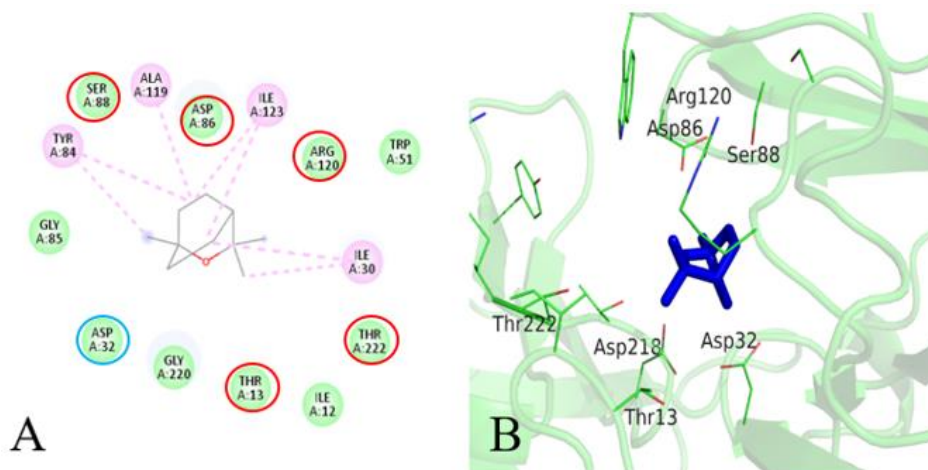
Ile30, Tyr84, Ala119, Ile123, Ile30, Tyr84, Ala119, dan semua residu tersebut masuk dalam interaksi hidrofobik. Visualisasi 2D dan 3D dapat dilihat pada Gambar 6. Linalool dengan energi bebas ikatan -5.06 kkal/mol mempunyai residu asam amino yaitu Leu216, Gly85, Asp86, Ser35, Ala119, Ser88, Asp32, Gly220, Gly34, Thr221, Asp218, Ile30, Tyr84, Ile123. Diketahui bahwa linalool membentuk ikatan hidrogen yang mengenai residu katalitik Sap 5 yaitu pada residu Asp218. Visualisasi 2D dan 3D dapat dilihat pada Gambar 7. Gambar 8 menunjukkan visualisasi 3D dengan *surface* yang memperlihatkan posisi keempat ligan uji pada reseptor Sap 5. Keempat ligan uji terlihat berada didaerah sisi aktif reseptor yaitu residu katalitik, motif katalitik, kantung substrat S3 dan S4. Hal ini menunjukkan bahwa keempat ligan uji tersebut tertambat pada daerah penting dari reseptor.



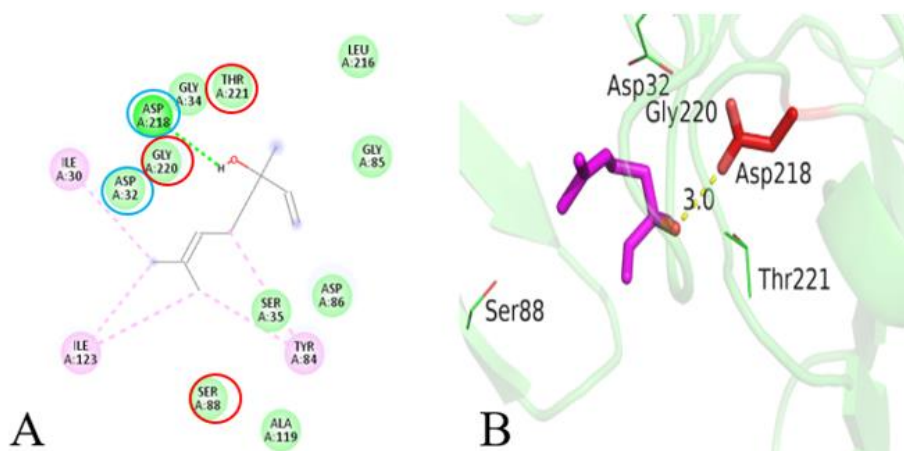
Gambar 4 Visualisasi 2D dengan menggunakan Discovery Studio dan 3D menggunakan PyMOL. (A) Visualisasi interaksi 2D dari geranil asetat terhadap Sap 5 dengan seluruh residu asam amino dari hasil YASARA. Residu katalitik berwarna biru dan pengikat substrat berwarna merah. (B) Visualisasi interaksi 3D dari geranil asetat terhadap Sap 5 dengan residu yang mengenai residu katalitik dan kantung pengikat substrat pada S3 dan S4. Seluruh residu membentuk interaksi hidrofobik.



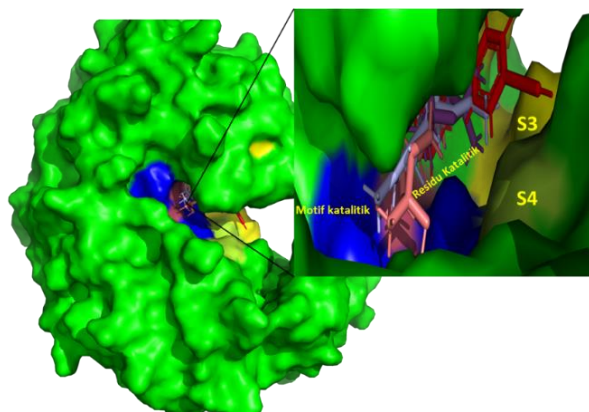
Gambar 5 Visualisasi 2D dengan menggunakan Discovery Studio dan 3D menggunakan PyMOL. (A) Visualisasi interaksi 2D dari alfa-terpinil asetat terhadap Sap 5 dengan seluruh residu asam amino dari hasil YASARA. (B) Visualisasi interaksi 3D dari alfa-terpinil asetat terhadap Sap 5 dengan residu katalitik. Seluruh residu membentuk interaksi hidrofobik.



Gambar 6 Visualisasi 2D dengan menggunakan Discovery Studio dan 3D menggunakan PyMOL. (A) Visualisasi interaksi 2D dari 1,8-sineol terhadap Sap 5 dengan seluruh residu asam amino dari hasil YASARA. (B) Visualisasi interaksi 3D dari 1,8-sineol terhadap Sap 5 dengan residu yang mengenai residu katalitik dan kantong pengikat substrat pada S3 dan S4. Seluruh residu membentuk interaksi hidrofobik.



Gambar 7 Visualisasi 2D dengan menggunakan Discovery Studio dan 3D menggunakan PyMOL. (A) Visualisasi interaksi 2D dari linalool terhadap Sap 5 dengan seluruh residu asam amino dari hasil YASARA. (B) Visualisasi interaksi 3D dari linalool terhadap Sap 5 dengan residu yang mengenai residu katalitik dan kantong pengikat substrat pada S3 dan S4. linalool membentuk ikatan hidrogen pada residu katalitik Asp218 dengan jarak 3 Å.



Gambar 8 Visualisasi 3D secara surface dari hasil penapisan virtual. Reseptor Sap 5 yang dikenai didaerah sisi aktif oleh keempat ligan uji geranyl asetat (merah), alfa-terpinil asetat (Hijau), 1,8-sineol (Biru), dan linalool (cyan). Sisi aktif Sap 5 terdiri dari residu katalitik berwarna pink, motif katalitik berwarna biru, kantong pengikat substrat S3 berwarna kuning, dan kantong pengikat substrat S4 berwarna lemon.

4. PEMBAHASAN

Homologi Reseptor

Pencarian struktur protein yang homolog menggunakan analisis BLAST. Analisis tersebut dapat menghasilkan berbagai macam protein dari spesies lain, yang mempunyai kemiripan dengan reseptor Sap 5 *Candida albicans*. Database GenBank NCBI memperlihatkan adanya kemiripan tertinggi yaitu *Secreted aspartic proteinase* (Sap) 1 dari *Candida albicans* dengan nilai *Max score* dan *Total score* sebesar 408, *Query cover* 99%, *E-Value* $1e-142$, dan *Per. Ident* 57.82%. Menurut Rahim dan Madduppa (2020) menjelaskan bahwa kemiripan tertinggi pada GenBank, mempunyai ciri seperti nilai *Max score* dan *total score* yang sama, nilai *E-Value* 0, *Query cover* dan *Per. Ident* mendekati 100. Walaupun, terdapat beberapa parameter yang tidak terpenuhi, namun tetap dapat dikategorikan memiliki kemiripan yang cukup tinggi, karena pada nilai *E-Value* juga menunjukkan hasil perbandingan spesies lainnya bersifat identik dan nilai kepercayaan yang tinggi (Rahim dan Madduppa 2020). Penelitian Fitriani dan Maduppa (2021) juga menjelaskan bahwa nilai *E(Expected)-Value* merupakan suatu parameter tentang sekuen identik atau tidak identik. Jika nilai semakin rendah mendekati 0 (nol), maka

mengindikasikan tingkat homologi antara sekuen semakin tinggi.

Sequence alignment (pensejajaran) merupakan suatu proses mencocokkan karakter yang homolog dan menganalisis kemungkinan adanya *gap* (celah) pada sekuen yang mirip. *Gap* mempresentasikan adanya insersi, delesi maupun kemungkinan adanya penyusunan ulang materi genetik dari satu atau lebih karakter sekuen sealama evolusi (Sindiya *et al.* 2018). Gambar 7 menunjukkan adanya kesamaan residu katalitik dari Sap 5 dengan beberapa protein lain dari hasil BLAST yaitu pada residu Asp32 dan Asp218. Adanya kesamaan residu katalitik dan kantong pengikat substrat dikarenakan masih dalam satu organisme. Selain itu, perlu diketahui bahwa 10 gen yang berbeda Sap 1-Sap 10 yang menyandi enzim dengan fungsi dan karakter yang serupa, tetapi berbeda sifat molekul seperti massa molekul, pH, dan titik isoelektrik untuk aktivitas yang optimal. Diketahui bahwa ekspresi gen Sap diatur pada tingkat transkripsi, dan preproprotein yang diproses oleh sinyal peptidase dalam retikulum endoplasma dan oleh Kex2-like proteinase dalam aparatus Golgi. Sap 1- Sap 3 disekresikan oleh sel *yeast* dan Sap 4 -Sap 6 oleh sel hifa (Lestari 2010). Sjam (2012) menjelaskan bahwa Sap merupakan protein ekstraselular yang dapat menekan produksi protein hospes yang

berperan pada imunitas seperti albumin, hemoglobin, keratin dan sekresi IgA. Protein yang disejajarkan dengan Sap 5 antara lain *Secreted aspartic proteinase* (Sap) 3 *Candida albicans* (2H6S), *Secreted aspartic proteinase* (Sap) 1 *Candida albicans* (2QZW), *Secreted aspartic proteinase* (Sap) 2 *Candida albicans* (1EAG), *Secreted aspartic protease* (1ZAP) *Candida albicans*. Terdapat motif katalitik yang diakses pada NCBI melalui laman (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/structure>).

Motif katalitik terdapat pada urutan setelah residu katalitik Asp32 yaitu Thr33, Gly34, Ser35. Motif katalitik lain terletak berurutan setelah residu katalitik Asp218 yaitu Ser219, Gly220, Thr221. Selain itu, residu pengikat substrat mempunyai urutan yang sama disetiap reseptor yang dapat dilihat pada Gambar 7 dan dapat diakses dalam penelitian Borelli et al (2008).

Menurut Nauli (2014) menjelaskan bahwa sisi aktif merupakan daerah spesifik pada makromolekul dimana substrat akan terikat dan mengalami reaksi kimia. Sisi aktif dapat ditemukan pada celah (cleft), parit (groove), atau kantung (pocket) yang tersusun dari sejumlah residu asam amino yang terlibat dalam pengenalan substrat.

Kualitas Struktur Reseptor

Kualitas dari reseptor dapat dilihat berdasarkan analisis Ramachandran plot. Ramachandran plot merupakan sebaran plot secara 2D yang didapatkan dari perbandingan *backbone torsion angle* π (phi) dan Ψ (psi) untuk memprediksi sebarannya (Lukitaningsih et al 2013). Ramachandran plot dari hasil penelitian ini menunjukkan struktur Sap 5 memiliki 85.2% pada *most favoured regions*, 14,6% pada *additional allowed regions*, dan 0% pada *dissallowed regions*. Struktur yang bagus adalah struktur yang memiliki persentase pada *most favored region* lebih dari 50%, dengan kata lain, semakin besar persentase residu asam amino pada daerah tersebut dan

semakin kecil persentase pada daerah *dissallowed region*, maka reseptor semakin (Amelia 2013). Lukitaningsih et al. (2013) menjelaskan bahwa Ramachandran plot adalah salah satu indikator untuk mengetahui kualitas intrinsik dari struktur 3D suatu reseptor.

Menurut Zahra (2021) Plot Ramachandran merupakan visualisasi wilayah yang diperbolehkan secara energetika untuk sudut dihedral $C\alpha$ asam amino (ϕ, ψ). Diketahui bahwa plot ini menunjukkan distribusi empiris dari titik data yang dapat diamati dalam satu struktur untuk penggunaan validasi struktur. Tiga sudut dihedral pada rantai protein didefinisikan sebagai ϕ (phi), ψ (psi), dan ω (omega). Ramachandran menampilkan sudut perputaran phi (ϕ) dan psi (ψ) tiap residu protein. Lebih lanjut, konformasi tulang punggung asam amino diketahui ditentukan oleh nilai dua sudut torsi. Secara berurutan, phi (ϕ) adalah sudut torsi $C(i-1), N(i), Ca(i), C(i)$ dan psi (ψ) adalah $N(i), Ca(i), C(i), N(i+1)$ (Zahra 2021).

Validasi Gridbox dan Penapisan Virtual Ligan Uji Terhadap Sap 5

Metode yang digunakan untuk validasi adalah dengan melakukan penambatan ulang ligan hasil kristalografi ke residu katalitik reseptor. Parameter yang digunakan adalah *root mean square deviation* (RMSD). Skor RMSD menjelaskan perbedaan rata-rata posisi atom dari ligan hasil kristalografi awal dengan ligan hasil kristalografi dari proses penambatan ulang. RMSD dinyatakan valid apabila mempunyai skor kurang dari 2 Å. Semakin kecil skor RMSD menunjukkan bahwa posisi ligan hasil penambatan ulang mempunyai kemiripan dengan ligan hasil kristalografi (Pratama dan Gusdinar 2019). Hasil penelitian ini mendapatkan RMSD sebesar 0 Å dan energi bebas -9.61 kkal/mol (Gambar 9) pada gridbox ukuran 4.5 Å. RMSD tersebut dinyatakan valid, dikarenakan mengikuti aturan yang berlaku seperti yang telah dijelaskan. Maka dari itu,

ukuran 4.5 Å digunakan dalam penapisan virtual.

Penapisan virtual merupakan salah satu metode komputasi dengan menggunakan beberapa tools yang berlaku dan digunakan untuk membantu mengidentifikasi senyawa-senyawa yang berjumlah besar dari database, sehingga harapannya dapat menemukan senyawa potensial dalam berikatan dengan protein target. Penelitian ini menggunakan YASARA *structure* untuk melakukan penapisan untuk memperoleh nilai energi bebas ikatan dan kontak residu asam amino. Apabila nilai energi bebas ikatan semakin kecil (negatif), maka suatu ligan menunjukkan mudah berikatan dengan reseptor target (Simanjuntak 2021).

Penelitian ini memasukkan Pepstatin dan Liriodenin sebagai pembanding dalam mengetahui energi bebas ikatan dalam senyawa turunan minyak atsiri dari Kapulaga. Selain itu, terdapat beberapa penjelasan mengenai Pepstatin dan Liriodenin. Pepstatin merupakan inhibitor yang telah dikristalkan dengan reseptor Sap 5 pada RCSB PDB. Pepstatin juga penghambat proteinase aspartat klasik dan inhibitor paling kuat. Menurut Borelli *et al.* (2008) menyatakan bahwa Pepstatin menunjukkan efek perlindungan terhadap infeksi *C. albicans* pada hewan uji tikus dan Pepstatin menunjukkan efisiensi pengikatan yang sangat tinggi dengan Sap 5 (Borelli *et al.* 2008; Meenambiga *et al.* 2018). Zhang *et al.* (2002) menjelaskan bahwa Liriodenin aktif melawan *C. albicans* dan beberapa mikroorganisme lainnya.

Seluruh ligan uji mempunyai energi bebas ikatan diatas ligan pembanding maupun ligan hasil kristalografi. Pepstatin memiliki energi bebas ikatan sebesar -9.54 kkal/mol dan Liriodenin -8.29 kkal/mol. Kedua ligan tersebut mempunyai nilai energi bebas ikatan paling negatif dalam penelitian ini. Terdapat ligan uji yang menjadi sorotan (highlight) yang dapat dijadikan kandidat inhibitor Sap 5 yaitu geranil

asetat dengan nilai energi bebas ikatan -6.78 kkal/mol. Ligan tersebut mempunyai energi bebas ikatan terendah dari keseluruhan ligan uji yang berasal dari minyak atsiri Kapulaga. Selain itu, terdapat tiga ligan uji dengan persentase tertinggi yang terkandung di dalam kapulaga berdasarkan analisis melalui GC-MS dalam penelitian Savan dan Kucukbay (2013) yaitu alfa-terpinil asetat, 1,8-sineol, dan linalool. Nilai energi bebas ikatan dari ketiga senyawa tersebut berturut-turut menghasilkan energi bebas ikatan yaitu -6.07 kkal/mol, -5.47 kkal/mol, dan -5.06 kkal/mol.

Seluruh hasil dari penapisan menunjukkan nilai negatif pada parameter energi bebas ikatan karena semakin rendah nilai energi bebas ikatan (kkal/mol) yang dilepaskan pada saat interaksi senyawa dengan reseptor, maka akan semakin kuat interaksi reseptor-ligan. Hal ini dikarenakan terjadi kestabilan dan kekuatan interaksi non-kovalen pada senyawa terhadap reseptor target (Mardianingrum *et al.* 2015). Penelitian lain menjelaskan bahwa energi bebas ikatan merupakan salah satu parameter kestabilan konformasi yang dapat dilihat antara ligan dan reseptor (Suhadi *et al.* 2019). Lebih lanjut, adanya reaksi-reaksi metabolisme yang terjadi didalam tubuh, dapat ditinjau dari termodinamika yang berlangsung secara eksergonik dan endergonik. Reaksi eksergonik yaitu reaksi yang dapat menghasilkan energi bebas ikatan, yaitu suatu energi yang digunakan untuk melakukan kerja pada temperatur dan tekanan yang tetap (Suhadi *et al.* 2019). Diketahui, reaksi eksergonik dapat menyebabkan energi bebas molekul pereaksi menjadi turun, hal ini disebabkan karena energi bebasnya mengalami pembebasan pada saat bereaksi, oleh sebab itu energi bebas produk menjadi lebih rendah dibandingkan energi bebas pereaksi. Semakin rendah energi bebas suatu molekul, maka molekul tersebut mengalami kestabilan dan reaksi yang berjalan secara spontan. (Mardianingrum *et al.* 2015; Suhadi *et al.* 2019). Semakin kecil energi bebas

ikatan, maka gugus fungsi membutuhkan atau melepaskan energi lebih sedikit agar mampu menambahkan elektronnya, sehingga semakin bermuatan negatif maka akan mudah berinteraksi dengan atom-atom yang bermuatan positif pada asam amino. Selain itu, semakin rendah energi bebas ikatan menunjukkan semakin stabil suatu kompleks reseptor-ligan (Frimayanti *et al.* 2021).

Prediksi Ligan dengan Aturan Lipinski

Analisis bioavailabilitas menunjukkan bahwa dari seluruh ligan uji yang berjumlah 64, hanya ligan uji Hexadecanoic yang tidak memenuhi salah satu aturan Lipinski yaitu logP dengan skor 5.552299. logP merupakan parameter yang paling berguna untuk karakterisasi hidrofobisitas dan polaritas suatu senyawa (Chtita *et al.* 2019). Namun, ligan uji tersebut tetap dikategorikan lolos aturan Lipinski karena hanya melanggar satu aturan.

Refraktivitas molar merupakan salah satu parameter yang membedakan suatu senyawa dapat diserap atau tidak pada saat didalam tubuh. Senyawa yang dapat diserap mempunyai nilai lebih rendah daripada senyawa yang tidak dapat diserap (Miantika 2021). Dengan demikian, seluruh ligan uji yang terdapat pada minyak atsiri memenuhi daturan Lipinski yang berlaku. Hal ini juga sesuai dengan penjelasan mengenai minyak atsiri Kapulaga pada penelitian Ashokkumar *et al.* (2020) yang menjelaskan bahwa minyak atsiri kapulaga dan beberapa metabolit bioaktif lainnya terakumulasi dalam kapsul dari kapulaga dan kegunaannya dalam bidang farmasi.

Prediksi Toksisitas Ligan Uji

Terdapat sepuluh ligan uji yang mempunyai sifat karsinogenik. Kesepuluh ligan uji tersebut antara lain Linalil asetat, Cuminol, Neril asetat, P-Cymen-8-Ol, p-Cymene, Geranial, Neral, cis-beta-Ocimene, trans-beta-Ocimene, dan Hotrienol. Karsinogenisitas

merupakan kemampuan suatu senyawa untuk menyebabkan terjadinya neoplasia (pertumbuhan jaringan baru) (Pannindriya *et al.* 2021). Maka dari itu, kesepuluh ligan uji diharapkan untuk tidak dijadikan kandidat obat, karena mempunyai sifat sebagai karsinogenik berdasarkan Admetsar1.

Keempat ligan uji yang dipilih yaitu geranil asetat, alfa-terpinil asetat, 1,8-sineol, dan linalool mempunyai hERG sebagai inhibitor lemah, tidak mempunyai sifat karsinogenik, toksisitas masuk dalam kategori kelas III, dan HIA+. Keseluruhan parameter tersebut masuk dalam kategori standar yang berlaku seperti yang telah dijelaskan sebelumnya.

Penelitian ini menunjukkan bahwa α -thujene dan limonene memiliki sifat sebagai inhibitor lemah dalam herG, tidak karsinogenik, dan mempunyai HIA+, sehingga tergolong sebagai senyawa yang tidak terlalu berbahaya, jika melihat dari standar masing-masing parameter yang ditetapkan. Namun, penelitian lain menyebutkan bahwa ligan α -thujene dan limonene yang tergolong kelompok monoterpen diketahui dalam suatu prediksi mempunyai potensi sebagai ligan yang berbahaya. α -thujene diprediksi mempunyai aktivitas dalam menghambat *gamma aminobutyric acid* (GABA) tipe-A dan apabila pemberian dosis tinggi dilakukan (>60 mg/kg) pada hewan coba tikus, memungkinkan hewan coba tikus mengalami kejang otot kaki dan bahkan berujung kematian. Selain itu, ligan limonene dapat dengan mudah teroksidasi menjadi bentuk senyawa yang mempunyai sifat alergen dan iritan. Namun, dalam penelitian pada tahun 2013 oleh Kim *et al.* (2013) menyebutkan bahwa efek tersebut tidak signifikan terjadi pada tubuh manusia. *International Agency for Research on Cancer* (IARC) memasukkan senyawa limonene dalam grup 3 yang mempunyai arti sebagai senyawa yang tidak golongan sebagai yang mempunyai

sifat karsinogenik bagi tubuh manusia (Pangestu 2021).

Analisis Visualisasi Kontak Reseptor-Ligan

Keempat ligan uji melalui analisis interaksi ini dapat digunakan untuk mengetahui apakah mempunyai interaksi terhadap residu asam amino penting seperti pada residu katalitik, motif katalitik, maupun kantung pengikat substrat S3 dan S4. Keempat ligan uji dipilih dalam penelitian ini karena menurut penelitian Savan dan Kucukbay (2013), terdapat tiga ligan uji yang mempunyai persentase terbesar terkandung dalam minyak atsiri kapulaga berdasarkan analisis GC-MS diantaranya 1,8-sineol (25.6%), linalool (6.4%), α -terpinyl acetate (40.7%), sedangkan satu ligan uji yaitu geranyl asetat merupakan ligan yang mempunyai energi bebas ikatan paling negatif. Keempat ligan tersebut diidentifikasi potensinya sebagai kandidat inhibitor Sap berdasarkan interaksinya terhadap reseptor.

Berdasarkan empat ligan yang dipilih, hanya satu ligan uji yang mempunyai ikatan hidrogen yaitu linalool. Ikatan hidrogen terbentuk pada residu asam amino Asp218 dengan jarak 3 Å melalui atom H. Ikatan hidrogen merupakan jenis ikatan yang terjadi antara hidrogen pada suatu molekul dengan atom flour (F), nitrogen (N), oksigen (O). Tipe interaksi yang termasuk ikatan hidrogen pada saat visualisasi yaitu tipe ikatan hidrogen konvensional dan ikatan hidrogen karbon. Lebih lanjut adanya ikatan hidrogen konvensional menunjukkan adanya kemampuan membentuk ikatan hidrogen secara konvensional yang diketahui dapat mempunyai afinitas pengikatan yang lebih baik. Ikatan hidrogen konvensional lebih bagus dalam pengikatan dibandingkan ikatan hidrogen karbon. Hal ini dikarenakan ikatan hidrogen konvensional terbentuk antara (OH---O, OH---N, NH----O, dan NH---N), sedangkan pada ikatan hidrogen terbentuk antara (CH---O).

Karbon diketahui kurang elektronegatif dibandingkan dengan O dan N. Selain itu juga dijelaskan bahwa ikatan hidrogen karbon mampu menstabilkan kompleks yang terbentuk meskipun interaksi bersifat lemah dalam pengikatan *pose* (Nuraeni 2021). Terdapat ligan uji yang dipilih berdasar pada energi bebas ikatan terkecil dan yang mempunyai persentase terbanyak melalui analisa GC-MS yang mempunyai ikatan hidrogen yaitu linalool pada residu Asp218 melalui H dengan jarak 3 Å. Residu tersebut yang dikenai oleh linalool adalah residu katalitik dari Sap 5. Hal tersebut memberikan tanda yang bagus. Linalool yang membentuk ikatan hidrogen dengan atom molekul H mengenai Asp218 (sidechain COO-) (Cadicamo *et al.* 2013). Dari keseluruhan ligan yang diujikan (ligan hasil kristal, ligan pembanding, ligan uji) yang mempunyai ikatan paling kuat yang dapat dilihat melalui hasil dari energi bebas ikatan dan interaksi yang terbentuk yaitu Pepstatin. Pepstatin merupakan ligan yang telah dikomplekskan dengan Sap 5 yang dapat diakses pada PDB (Borelli *et al.* 2008). Pepstatin membentuk ikatan hidrogen terbanyak dari keseluruhan ligan dalam penelitian ini. Selain itu, beberapa ligan uji juga mempunyai ikatan hidrogen pada beberapa kontak residu asam amino dari Sap 5. Kestabilan dan energi bebas ikatan dapat disebabkan karena adanya gugus-gugus fungsi polar pada ligan seperti metil (-CH₃), hidroksil (-OH) dan amina (-NH₃) pada ligan (Weni *et al.* 2020). Seluruh visualisasi dari keempat ligan uji yang dipilih, baik secara surface, 2D dan 3D untuk melihat secara detail kontak residu maupun posisi ligan uji dapat dilihat pada Gambar 10 sampai Gambar 14.

Seluruh ligan termasuk ligan hasil kristalografi, ligan pembanding, dan ligan uji mempunyai interaksi hidrofobik. Interaksi hidrofobik merupakan interaksi yang mempunyai sifat menghindari lingkungan cair dan mempunyai kecenderungan berkelompok di sebelah dalam struktur globular dari protein.

Pembentukan interaksi tersebut meminimalkan interaksi residu nonpolar dengan air (Arwansyah *et al.* 2014). Geranil asetat membentuk interaksi hidrofobik terhadap ligan terbentuk pada residu Ile12, Ile30, Asp32, Tyr84, Asp86, Ala119, Arg120, Ile123, Gly220, Thr221, Thr222, Ser88. Pada alfa-terpinil asetat residu interaksi hidrofobik yaitu Gly34, Ser35, Asp32, Ile30, Tyr84, Ala119, Ile123, Asp218. Kemudian pada 1,8-sineol residu yang memiliki interaksi hidrofobik antara Asp86, Arg120, Trp51, Ser88, Gly85, Asp32, Ile12, Thr13, Gly220, Thr222, Ile30, Tyr84, Ala119, Ile123. Sedangkan pada linalool pada residu Leu216, Gly85, Asp86, Ser35, Ala119, Ser88, Asp32, Gly220, Gly34, Thr221, Ile30, Tyr84, Ile123. Residu-residu yang terlibat dalam interaksi hidrofobik tersebut merupakan residu asam amino yang bersifat nonpolar. Lebih lanjut, diketahui jika residu asam amino yang bersifat nonpolar (hidrofobik), cenderung membentuk kelompok pada bagian interior protein (Arwansyah *et al.* 2014). Penelitian ini menunjukkan semua ligan mempunyai interaksi hidrofobik dan mempunyai interaksi dengan residu asam amino paling banyak dibandingkan ikatan hidrogen. Hal ini dikarenakan gugus nonpolar senyawa dan gugus nonpolar reseptor yang dikelilingi molekul air akan saling mendekat mengakibatkan molekul air akan terganggu. Ketika molekul air terganggu maka akan meningkatkan entropi yang berakibat menurunnya energi bebas yang menstabilkan kompleks reseptor-ligan. Maka dari itu, interaksi hidrofobik berfungsi sebagai stabilisasi untuk menjaga kompleks reseptor-ligan akibat menurunnya energi bebas (Lestari 2021).

Sap 5 mempunyai beberapa daerah penting antara lain residu katalitik, motif katalitik dan pengikatan substrat. Residu katalitik Sap 5 diketahui terletak pada residu asam amino Asp32 dan Asp218 (Borelli *et al.* 2008), Sedangkan berdasarkan hasil laman NCBI *structure* Sap 5, motif katalitik terletak

pada residu asam amino Thr33, Gly34, Ser35, Ser219, Gly220, Thr221. Borelli *et al.* (2008) menyebutkan bahwa kandidat inhibitor Sap 5 sebaiknya memiliki interaksi dengan kantung pengikat substrat S3 dan S4 dari Sap 5. Adapun residu asam amino dari S3 antara lain Ile12, Thr13, Asp86, Ser88, Ser118, Arg120, Gly220. Sedangkan, residu asam amino kantung S4 yaitu Ile12, Thr222, Ile223, Tyr225, Glu295, Arg297, Arg299. Penelitian oleh Flamandita *et al.* (2019) menyebutkan bahwa Thr222 merupakan residu yang telah diprediksi sebagai residu penting yang termasuk dalam residu katalitik. Seperti yang telah disebutkan sebelumnya, diketahui bahwa Thr222 masuk dalam kantung S4.

Kontak residu asam amino yang terbentuk menghasilkan interaksi hidrofobik dan ikatan hidrogen yang mempunyai peran dalam meningkatkan afinitas ikatan. Kedua hal tersebut berperan dalam menjaga kestabilan kompleks reseptor dan ligan. Semakin banyak residu asam amino yang membentuk ikatan hidrogen, maka ikatan antara reseptor dan ligan juga akan semakin stabil dan kuat. Jarak ikatan hidrogen yang baik kurang dari 2.8 Å, artinya semakin kecil jarak antara ligan dengan residu, maka interaksi dapat semakin kuat. Gugus nonpolar yang terletak pada senyawa dan reseptor yang terkandung molekul air disekitarnya akan saling mendekat, sehingga dapat berakibat molekul air akan terganggu. Hal itu mengakibatkan terjadi peningkatan entropi yang berakibat pada menurunnya energi bebas yang berfungsi menstabilkan kompleks reseptor-ligan akibat menurunnya energi bebas tersebut yaitu interaksi hidrofobik (Lestari 2021). Semakin banyak asam amino dari reseptor yang terikat pada ligan, maka kemungkinan ligan mengalami kestabilan yang baik. Lebih lanjut, residu asam amino yang berikatan dengan ligan semakin banyak, maka menandakan adanya prediksi ligan tersebut cocok sebagai kandidat obat (Novita dan Falyani 2021).

DAFTAR PUSTAKA

- Afrina, Chismirina S, Aulia CRP. 2016. Konsentrasi hambat dan bunuh minimum ekstrak buah kapulaga (*Amomum compactum*) terhadap *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *J Syiah Kuala Dent Soc.* 1(2):192–200.
- Ali NSM, Salleh AB, Leow TC, Rahman RNZRA, Ali MSM. 2020. The Influence of Calcium toward Order/Disorder Conformation of Repeat-in-Toxin (RTX) Structure of Family I.3 Lipase from *Pseudomonas fluorescens* AMS8. *Toxins (Basel)*. 12(579):1–14. doi:10.3390/toxins12090579.
- Amelia F. 2013. Modeling Struktur Protein Vaksin H5N1 HA BTB Menggunakan I-Tasser. *J Saintek.* 7(1).
- Arwansyah, Ambarsari L, Sumaryada TI. 2014. Simulasi Docking Senyawa Kurkumin Dan Analognya Sebagai Inhibitor Enzim 12-Lipoksigenase. *Curr Biochem.* 1(1):11–19.
- Ashokkumar K, Murugan M, Dhanya MK, Warkentin TD. 2020. Botany, traditional uses, phytochemistry and biological activities of cardamom [*Elettaria cardamomum* (L.) Maton] – A critical review. *J Ethnopharmacol.* 246:112244. doi:10.1016/j.jep.2019.112244.
- Astari L, Ahmad Z. 2019. Pola Pergeseran Penyebab Kandidiasis Vulvovaginalis. *Berk Ilmu Kesehat Kulit dan Kelamin.* 31(1):15.
- Borelli C, Ruge E, Jung HL, Schaller M, Vogelsang A, Monod M, Korting HC, Huber R, Maskos K. 2008. X-ray structures of Sap1 and Sap5: Structural comparison of the secreted aspartic proteinases from *Candida albicans*. *Proteins Struct Funct Genet.* 72(4):1308–1319. doi:10.1002/prot.22021.
- Cadicamo CD, Mortier J, Wolber G, Hell M, Heinrich IE, Michel D, Semlin L, Berger U, Korting HC, Hölting HD, et al. 2013. Design, synthesis, inhibition studies, and molecular modeling of pepstatin analogues addressing different secreted aspartic proteinases of *Candida albicans*. *Biochem Pharmacol.* 85(7):881–887. doi:10.1016/j.bcp.2012.12.008.
- Chtita S, Ghamali M, Ousaa A, Aouidate A, Belhassan A, Taourati AI, Masand VH, Bouachrine M, Lakhlifi T. 2019. QSAR study of anti-Human African Trypanosomiasis activity for 2-phenylimidazopyridines derivatives using DFT and Lipinski's descriptors. *Heliyon.* 5(3). doi:10.1016/j.heliyon.2019.e01304.
- Durai P, Shin HJ, Achek A, Kwon HK, Govindaraj RG, Panneerselvam S, Yesudhas D, Choi J, No KT, Choi S. 2017. Toll-like receptor 2 antagonists identified through virtual screening and experimental validation. *FEBS J.* 284(14):2264–2283. doi:10.1111/febs.14124.
- Fitriani T, Maduppa H. 2021. Penentuan jenis ikan layang (*Decapterus macrostoma*) menggunakan metode analisis morfologi dan DNA barcoding dari pasar ikan Muara Baru Jakarta Utara. *BAWAL.* 12(3):127–135.
- Flamandita D, Sahlan M, Lischer K, Pratami DK. 2019. Molecular Docking Analysis of Anti-*Candida albicans* Biomarkers in Sulawesi Propolis Against Secreted Aspartic Proteinase-5. Di dalam: *ICETAS 2019 - 2019 6th IEEE International Conference on Engineering, Technologies and Applied Sciences.*
- Gholam GM. 2022. Molecular docking of the bioactive compound *Ocimum sanctum* as an inhibitor of Sap 1 *Candida albicans*. *Sasambo J Pharm.* 3(1):18–24. doi:https://doi.org/10.29303/sjp.v3i1.15.
- Harefa D. 2020. Pemanfaatan hasil tanaman sebagai tanaman obat keluarga (TOGA). *Madani Indones J Civ Soc.* 2(2):28–36. doi:10.35970/madani.v2i2.233.
- Harnindya D, Agusni I. 2016. Studi Retrospektif: Diagnosis dan Penatalaksanaan Kandidiasis Vulvovaginalis. *Berk Ilmu Kesehat Kulit dan Kelamin.* 28(1):42–48. https://e-

- journal.unair.ac.id/index.php/BIKK/article/view/2350.
- Hartady T, Balia RL, Syamsunarno MRAA, Jasni S, Priosoeryanto BP. 2020. Bioactivity of amomum compactum soland ex maton (java cardamom) as a natural antibacterial. *Syst Rev Pharm.* 11(9):384–387. doi:10.31838/srp.2020.9.55.
- Hube B, Naglik J. 2001. Candida albicans proteinases: Resolving the mystery of a gene family. *Microbiology.* 147(8):1997–2005. doi:10.1099/00221287-147-8-1997.
- Humaedi A, Halimatushadyah E. 2021. Studi Komputasi Hubungan Aktivitas Senyawa Turunan Asam Galat sebagai Inhibitor Reseptor Androgen pada Kanker Prostat. *J Biotek Medisiana Indones.* 10(1):65–76.
- Irsal RAP, Seno DSH, Safithri M, Kurniasih R. 2022. Penapisan virtual senyawa aktif sirih merah (*Piper crocatum*) sebagai inhibitor angiotensin converting enzyme. *Jurnal Farmamedika.* 7(2): 104-113
- Irsal RAP, Gholam GM, Dwicesaria MA, Chairunisa F. 2024. Computational investigation of *Y. aloifolia* variegata as anti-Human Immunodeficiency Virus (HIV) targeting HIV-1 protease: A multiscale *in-silico* exploration. *Pharmacological Research - Modern Chinese Medicine.* 11: 100451
- Karo MB, Kamelia E, Miko H, Simanjuntak TP, Hatta M. 2016. Effects of Herbal Plants on Candidiasis Vulvovaginalis Therapy. *Am J Lab Med.* 1(3):65–68. doi:10.11648/j.ajlm.20160103.14.
- Khusnul K, Rinzani I. 2019. Uji daya hambat ekstrak etanol daun kapulaga (*Amomum compactum* Solan ex. Maton) terhadap jamur *Microsporum gypseum* secara in vitro. *J Kesehat Bakti Tunas Husada J Ilmu-ilmu Keperawatan, Anal Kesehat dan Farm.* 19(1). doi:10.36465/jkbth.v19i1.452.
- Kim YW, Kim MJ, Chung BY, Bang DY, Lim SK, Choi SM, Lim DS, Cho MC, Yoon K, Kim HS, et al. 2013. Safety evaluation and risk assessment of D-limonene. *J Toxicol Environ Heal - Part B Crit Rev.* 16(1):17–38. doi:10.1080/10937404.2013.769418.
- Komalasari PR. 2021. Penambatan Molekular Senyawa Aktif Kunyit (*Curcuma longa* L) dan Teh Hitam (*Camellia sinensis*) pada Enzim Asparagin Endopeptidase. IPB University.
- Lestari PE. 2010. Peran faktor virulensi pada patogenesis infeksi *Candida albicans*. *Bagian Ilmu Biomedik Lab Mikrobiol Fak Kedokt Gigi Univ Jember.* 7(2):113–117.
- Lestari RP. 2021. Studi In silico Senyawa Aktif Kulit Kayu Mahoni sebagai Inhibitor RNA-Dependent RNA Polymerase dan Endoribonuclease SARS-CoV-2 EPI_ISL_467376. IPB University.
- Lin TE, Sung LC, Chao MW, Li M, Zheng JH, Sung TY, Hsieh JH, Yang CR, Lee HY, Cho EC, et al. 2022. Structure-based virtual screening and biological evaluation of novel small-molecule BTK inhibitors. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 37(1):226–235. doi:10.1080/14756366.2021.1999237.
- Lukitaningsih E, Mustikawaty AA, Sudarmanto A. 2013. Homology Modeling dan Molecular Docking Senyawa Aktif dari Bengkoang (*Pachyrrhizus erosus*) sebagai Inhibitor Tirosinase pada Homo sapiens. *J Ilmu Kefarmasian Indones.* 11(2):134–141.
- Mardianingrum R, Herlina T, Supratman U. 2015. Isolasi dan molecular docking senyawa 6,7-Dihidro-17-Hidroksierisotrin dari daun dadap belendung (*Erythrina poeppigiana*) terhadap aktivitas sitotoksik antikanker payudara MCF-7. *Chim Nat Acta.* 3(3):90–93. doi:10.24198/cna.v3.n3.9213.
- Meenambiga SS, Venkataraghavan R, Abhishek Biswal R. 2018. In silico analysis of plant phytochemicals against

- secreted aspartic proteinase enzyme of *Candida albicans*. *J Appl Pharm Sci*. 8(11):140–150.
doi:10.7324/JAPS.2018.81120.
- Miantika S. 2021. Penambatan Molekuler Xantin Oksidase oleh Senyawa Aktif Sirih Merah (*Piper crocatum*) sebagai Pengobatan Alternatif Asam URat. IPB University.
- Mutiawati VK. 2016. Pemeriksaan Mikrobiologi Pada *Candida Albicans*. *J Kedokt Syiah Kuala*. 16(1):53–63.
- Naglik J, Albrecht A, Bader O, Hube B. 2004. *Candida albicans* proteinases and host/pathogen interactions. *Cell Microbiol*. 6(10):915–926.
doi:10.1111/j.1462-5822.2004.00439.x.
- Naglik JR, Challacombe SJ, Hube B. 2003. *Candida albicans* Secreted Aspartyl Proteinases in Virulence and Pathogenesis. *Microbiol Mol Biol Rev*. 67(3):400–428.
doi:10.1128/mmbr.67.3.400-428.2003.
- Nauli T. 2014. Penentuan Sisi Aktif Selulase *Aspergillus niger* dengan docking ligan. *JKTI*. 16(2):94–100.
- Novita DiW, Falyani SA. 2021. Uji Potensi Antioksidan Kumis Kucing (*Orthosiphon aristatus*) dengan Pendekatan In Vitro dan In Silico. *J Kesehat Islam*. 10(2).
- Nugraheni D, Agusni I, Ervianti E. 2015. Profil Enzim Secreted Aspartyl Proteinase (SAP) pada Isolat Pasien Kandidiasis Vulvovaginalis (KVV) di RSUD Dr. Soetomo Surabaya. *Berk Ilmu Kesehat Kulit dan Kelamin*. 27(1):17–23.
- Nuraeni S. 2021. Analisis Potensi Senyawa Aktif Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) Terhadap Penghambatan Enzim 3CLpro SARS-CoV-2 EPI_ISL_576383 dengan Penambatan Molekuler. IPB University.
- Nurjanah S. 2021. Penambatan Molekul Senyawa Ekstrak Etanol Rimpang Temu Ireng (*Curcuma aeruginosa* Roxb) sebagai Antioksidan dan Antikanker. IPB University.
- Pangestu AG. 2021. Penambatan Molekuler Senyawa Aktif Jintan Hitam sebagai Inhibitor Enzim Kolinesterase dalam Pengembangan Terapi Alzheimer. IPB University.
- Pannindriya P, Safithri M, Tarman K. 2021. Analisis In Silico Senyawa Aktif *Spirulina platensis* sebagai Inhibitor Tirosinase. *J Pengolah Has Perikan Indones*. 24(1):70–77.
doi:10.17844/jphpi.v24i1.33122.
- Polke M, Hube B, Jacobsen ID. 2015. *Candida survival strategies*. Volume ke-91. Elsevier Ltd.
- Pratama MRF, Gusdinar T. 2019. Docking study of secondary metabolites from *Glycyrrhiza glabra* as PPAR- γ agonist. *Biointerface Res Appl Chem*. 9(4):4006–4010.
- Prayoga GR, Huda AS, Sitepu SB. 2020. The Potency of Senggani (*Melastoma malabathricum* L) Leaves in Repair of Pancreatic Beta Cells for Diabetes Mellitus Patients: A Narrative Review. *Curr Biochem*. 7(2):61–70.
doi:10.29244/cb.7.2.3.
- Puspitorini D, Astari L, Widya Y, Anggraeni S, Ervianti E, Prakoeswa RS, Suyoso S, Staf D, Fungsional M, Kesehatan I, *et al*. 2018. Faktor Risiko Kandidiasis Vulvovaginalis (KVV) (Risk Factor of Vulvovaginal Candidiasis [VVC]). *Berk Ilmu Kesehat Kulit dan Kelamin - Period Dermatology Venereol*. 30 Desember:193–200.
- Putri FE. 2021. Penambatan Molekuler Senyawa Flavonoid Terhadap Inhibisi Glukosiltransferase *Streptococcus mutans* sebagai Antibiofilms. IPB University.
- Putri S, Djamal A, Rahmatini R, Ilmiawati C. 2015. Perbandingan Daya Hambat Larutan Antiseptik Povidone iodine dengan Ekstrak Daun Sirih terhadap *Candida albicans* secara In Vitro. *J Kesehat Andalas*. 4(3):962–966.
doi:10.25077/jka.v4i3.393.

- Rahim Z, Madduppa H. 2020. Identifikasi ikan sardin komersial (*Dussumieria elopsoidea*) yang didaratkan di pasar Muara Angke, Jakarta menggunakan pengamatan morfologi, morfometrik dan DNA barcoding. *J Kelaut*. 13(2):93–99. doi:10.21107/jk.v13i2.6397.
- Ruhnke M. 2006. Epidemiology of *Candida albicans* Infections and Role of Non-*Candida albicans* Yeasts. *Curr Drug Targets*. 7(4):495–504. doi:10.2174/138945006776359421.
- Samosir MY, Karo MB, Aritonang TR. 2019. Hubungan penggunaan kontrasepsi hormonal dengan kejadian kandidiasis vulvovaginalis pada akseptor keluarga berencana. *Binawan Student J*. 1(2):98–102.
- Sari DK, Murtiastutik D. 2015. Retrospective Study: Candidiasis Vulvovaginalis in Human Immunodeficiency Virus (HIV) and Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS). *Berk Ilmu Kes Kulit dan Kelamin*. 27(3):197–203.
- Savan EK, Kucukbay FZ. 2013. Essential Oil Composition of *Elettaria cardamomum* Maton. *J Appl Biol Sci*. 7(3):42–45.
- Silva DR, Sardi J de CO, Freires IA, Silva ACB, Rosalen PL. 2019. In silico approaches for screening molecular targets in *Candida albicans*: A proteomic insight into drug discovery and development. *Eur J Pharmacol*. 842:64–69. doi:10.1016/j.ejphar.2018.10.016.
- Silva S, Hooper SJ, Henriques M, Oliveira R, Azeredo J, Williams DW. 2011. The role of secreted aspartyl proteinases in *Candida tropicalis* invasion and damage of oral mucosa. *Clin Microbiol Infect*. 17(2):264–272. doi:10.1111/j.1469-0691.2010.03248.x.
- Simanjuntak AR. 2021. Penapisan Virtual Senyawa Polifenol Alami sebagai Inhibitor Beta-Laktamase untuk Penanganan Resistensi Antibiotik Beta-Laktam. IPB University.
- Sindiya V, Mukarramah L, Rohimah S, Perwitasari DAG, Su'udi M. 2018. Studi IN SILICO Potensi DNA Barocde Pada Angrek Langka Paphiopedilum. *Biosfer*. 3(1):20–26.
- Sjam KR. 2012. Kolonisasi *Candida* dalam Rongga Mulut. *Maj Kedokt FK UKI*. 28(1):39–47.
- Suhadi A, Rizarullah R, Feriyani F. 2019. Simulasi Docking Senyawa Aktif Daun Binahong Sebagai Inhibitor Enzyme Aldose Reductase. *Sel J Penelit Kesehat*. 6(2):45–65. doi:10.22435/sel.v6i2.1651.
- Tasik NL, Kapantow GM, Kandou RT. 2016. Profil Kandidiasis Vulvovaginalis Di Poliklinik Kulit Dan Kelamin Rsup Prof. Dr. R. D. Kandou Manado Periode Januari – Desember 2013. *e-CliniC*. 4(1). doi:10.35790/ecl.4.1.2016.10957.
- Weni M, Safithri M, Seno DSH. 2020. Molecular Docking of Active Compounds Piper crocatum on the A-Glucosidase Enzyme as Antidiabetic. *Indones J Pharm Sci Technol*. 7(2):64. doi:10.24198/ijpst.v7i2.21120.
- Widasmara D, Suyoso S, Murtiastutik D. 2014. Profil spesies *Candida* dari kandidiasis vulvovaginalis pada pasien HIV / AIDS yang mendapat antibiotik sistemik. *BIKK-Berk Ilmu Kesehat Kulit dan Kelamin-Period Dermatology Venereol*. 26(3):202–206.
- Yudhani RD, Pesik RN, Azzahro S, Anisa AF, Hendriyani R. 2020. Acute Toxicity Test of Amomum cardamomum (Kapulaga) Seed Extract on Hepatic Trasaminase Enzyme in Winstar Rats. *Indones J Clin Pharm*. 9(4):288. doi:10.15416/ijcp.2020.9.4.288.
- Zahra H. 2021. Penambatan Molekuler Komponen Kimia Limbah Palm Oil Mill Effluent dengan Beberapa Enzim Mikrobial sebagai Agen Bioremediasi Potensial. IPB University.
- Zhang Z, ElSohly HN, Jacob MR, Pasco DS, Walker LA, Clark AM. 2002. New sesquiterpenoids from the of root of *Guatteria multivenia*. *J Nat Prod*. 65(6):856–859. doi:10.1021/np0200717.