

## EFEK INHIBISI SENYAWA AKTIF SPONGE *Haliclona sp.* TERHADAP PERTUMBUHAN *Plasmodium falciparum* BERDASARKAN STUDI *IN SILICO*

Ni Made Diah Wulandari<sup>1</sup>, Prawesty Diah Utami<sup>2\*</sup>, Judyta Sukmana<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Hang Tuah Surabaya

<sup>2</sup>Departemen Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Hang Tuah Surabaya

<sup>3</sup>Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Hang Tuah Surabaya

### ABSTRAK

Malaria merupakan penyakit yang disebabkan oleh *Plasmodium falciparum* dan ditularkan melalui nyamuk *Anopheles*. *Haliclona sp.* merupakan spons laut yang mengandung senyawa aktif seperti *Manzamine* dan *Haliclonacyclamine A* dengan potensi antimalaria. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek inhibisi senyawa aktif pada *Haliclona sp.* terhadap perkembangan *Plasmodium falciparum* berdasarkan studi *in silico*. Penelitian dilakukan dengan persiapan bahan dari web pubchem, memprediksi potensi senyawa, memprediksi *pathway* menggunakan *discovery Studio* versi 21.1.1, *molecular docking* dengan *Molegro virtual Docker 5.0*, prediksi ADME menggunakan *SWISS ADME*, dan prediksi toksisitas melalui web *Prottox*. Hasil penelitian menunjukkan *Haliclona sp.* memiliki senyawa aktif *Manzamine* dan *Haliclonacyclamine A*. Analisis prediksi senyawa aktif pada *Haliclona sp.* menunjukkan terdapat keterkaitan antara enzim *Plasmodium falciparum* yaitu enzim *PfTK* dan *PfDHODH*. Berdasarkan hasil prediksi toksisitas dan karakteristik farmakokinetik, *Haliclonacyclamine A* lebih direkomendasikan untuk dikembangkan sebagai kandidat antimalaria dibandingkan *Manzamine*. *Haliclonacyclamine A* memenuhi kriteria *Lipinski* dan memiliki potensi inhibisi terhadap enzim target *Plasmodium* meskipun menunjukkan tingkat toksisitas kelas 4. Sebaliknya, *Manzamine* dikategorikan sangat toksik (kelas 1) dan memerlukan modifikasi lebih lanjut sebelum dapat dipertimbangkan sebagai kandidat obat. Implikasi penelitian ini menunjukkan bahwa *Haliclonacyclamine A* berpotensi dikembangkan sebagai obat antimalaria alternatif yang aman dan efektif, serta dapat menjadi dasar penelitian lanjutan *in vitro* dan *in vivo*.

Kata kunci: *Haliclona sp.*, *Plasmodium falciparum*, Malaria

### ABSTRACT

Malaria is a disease caused by *Plasmodium falciparum* and transmitted by *Anopheles* mosquitoes. *Haliclona sp.*, a marine sponge, contains active compounds including *Manzamine* and *Haliclonacyclamine A* with antimalarial potential. This study aimed to investigate the inhibitory effects of these compounds on *Plasmodium falciparum* development through an *in silico* approach. Compound data were retrieved from *PubChem*, followed by potency prediction, *pathway* analysis using *Discovery Studio 21.1.1*, *molecular docking* via *Molegro Virtual Docker 5.0*, *ADME* prediction using *SwissADME*, and toxicity evaluation via *ProTox*. The results showed that *Haliclona sp.* contains *Manzamine* and *Haliclonacyclamine A*. Predictive analysis of these compounds indicated interactions with key parasite enzymes, *PfTK* and *PfDHODH*. Toxicity predictions and pharmacokinetic characteristics showed that *Haliclonacyclamine A* is more recommended as an antimalarial drug candidate compared to *Manzamine*. *Haliclonacyclamine A* meets *Lipinski's* criteria and showed inhibitory potential against parasite's target enzymes, although it is classified as toxicity class 4. While *Manzamine* is considered highly toxic (class 1) and requires further modification before being considered as a drug candidate. The implication of this study showed that *Haliclonacyclamine A* may serve as a safer and more effective alternative antimalarial agent and could provide a strong foundation for future *in vitro* and *in vivo* investigations.

Keywords: *Haliclona sp.*, *Plasmodium falciparum*, Malaria

---

\*Korespondensi: prawesty.diah@hangtuah.ac.id

## Pendahuluan

Malaria merupakan penyakit menular yang terus menjadi masalah kesehatan masyarakat di berbagai negara. Gigitan dari nyamuk *Anopheles* merupakan cara penyebaran penyakit malaria.<sup>1</sup> Laporan *World Health Organization* (WHO) tahun 2020 menunjukkan estimasi 229 juta kasus malaria secara global dengan estimasi jumlah kematian mencapai 409.000 jiwa, serta terjadi peningkatan angka kematian di 12 negara dibanding dengan tahun 2015, dengan rata-rata kenaikan sekitar 13%. Enam dari negara tersebut bahkan mengalami peningkatan sebesar 40% atau lebih. Dari total kematian akibat malaria, sekitar 80% terjadi di wilayah Afrika, 15% di Asia, dan sisanya di Eropa Timur.<sup>2</sup> Penyakit ini masih endemik di beberapa daerah di Indonesia. WHO memperkirakan terdapat 249 juta kasus malaria pada 2022 dari 85 negara endemis dan kurang lebih 608.000 kematian akibat malaria. Jumlah kasus malaria di Indonesia pada tahun adalah 443.530 kasus pada tahun 2022. Setelah pandemi COVID-19, kasus malaria yang dilaporkan mencapai 418.546 kasus pada 2023, dengan kasus tertinggi ditemukan di Papua dan Pulau Sumba di Nusa Tenggara Timur.<sup>3</sup>

Indonesia adalah habitat yang disukai oleh vektor malaria yaitu nyamuk *Anopheles sp.* karena Indonesia merupakan suatu negara berkembang beriklim tropis dan subtropis. Penyakit ini dapat menginfeksi orang dari segala usia. Perubahan iklim serta keadaan lingkungan fisik, biologi, kimia dan sosial. Peningkatan kejadian malaria dipengaruhi oleh faktor perubahan iklim yang merupakan faktor yang menyebabkan peningkatan kasus malaria.<sup>1,3</sup> Malaria akibat *Plasmodium falciparum* (*P. falciparum*) penyebab tersering angka kematian yang tinggi dengan adanya episode malaria yang berat. Hal ini terjadi karena parasit *Plasmodium falciparum* (*P. falciparum*) dapat memicu respon imunitas yang berlebihan dalam tubuh host serta obstruksi pada pembuluh

darah kecil yang disebabkan oleh proses sitoaderensi dan sekuestrasi eritrosit yang terinfeksi pada permukaan endotel pembuluh darah.<sup>4</sup> Malaria serebral merupakan bentuk paling parah yang disebabkan oleh *Plasmodium falciparum*. Kondisi ini ditandai dengan penurunan tingkat kesadaran, ditemukannya parasit dalam darah, serta tidak adanya penyebab lain yang dapat menjelaskan ensefalopati.<sup>5</sup>

Pengendalian malaria di Indonesia masih terbatas secara terapeutik, hal tersebut dikarenakan adanya keragaman cara penanganan pasien malaria di berbagai pelayanan kesehatan, salah satunya adalah perilaku pencarian pengobatan masyarakat yang beragam dan tidak selalu mengikuti pedoman medis yang dianjurkan. Pendekatan pengobatan yang umum ditemukan mencakup tidak melakukan tindakan apa pun terhadap gejala malaria (*no action*), pengobatan sendiri menggunakan obat-obatan yang dibeli tanpa resep atau obat sisa sebelumnya (*self-treatment*), serta penggunaan obat tradisional yang diwariskan secara turun-temurun. Pola ini dipengaruhi oleh persepsi masyarakat terhadap etiologi malaria, efektivitas obat antimalaria, serta faktor sosial-ekonomi dan geografis. Fenomena ini mencerminkan adanya pluralisme medis, yaitu penggunaan berbagai sistem pengobatan dalam satu komunitas, termasuk sistem biomedis dan tradisional. Di beberapa wilayah, seperti Namrole, Maluku, masyarakat lebih memilih pengobatan herbal, sementara di wilayah lain seperti Desa Topoyo, Sulawesi Barat, masyarakat cenderung melakukan pengobatan sendiri terlebih dahulu sebelum beralih ke layanan kesehatan formal jika gejala memburuk. Penyebab lainnya adalah munculnya resistensi obat malaria dengan obat antimalaria seperti klorokuin. Salah satu faktor terpenting yang berperan dalam program pengobatan dan pencegahan malaria adalah penggunaan terapi kombinasi berbasis artemisinin (ACT).<sup>6</sup> Munculnya parasit malaria yang resisten

terhadap Artemisinin di Thailand dan Kamboja menarik banyak perhatian dikarenakan belum ada obat antimalaria lain yang seefektif ACT.<sup>7</sup> Kandidat obat harus memiliki beberapa kriteria penting untuk pengobatan malaria yang lebih baik, yaitu memiliki aktivitas yang kuat terhadap stadium yang ditemukan dalam darah manusia, responnya cepat, toksisitas yang rendah dan produksinya mudah.

Biota laut mengandung berbagai bahan kimia aktif yang memiliki khasiat obat. Salah satu keunggulan biota laut adalah peningkatan variasi filogenetik yang signifikan. Variasi filogenetik dihasilkan oleh rangsangan lingkungan, menuntut berbagai adaptasi dan memungkinkan organisme laut mengembangkan molekul aktif yang berbeda dengan kemanjuran terapeutik.<sup>8</sup> Spons menjadi salah satu biota laut yang menjadi penyumbang senyawa bioaktif terbesar dengan berbagai manfaatnya antara lain: aktivitasnya sebagai immunosupresif, antivirus, antimalaria, antijamur, antiinflamasi, antibakteri, antitumor dan efek biologis lainnya. Salah satu spesies spons laut yang diduga memiliki khasiat sebagai antimalaria adalah *Haliclona sp.* yang mengandung berbagai senyawa aktif diantaranya *Manzamine* dan *Haliclonacyclamine A* yang memiliki manfaat sebagai anti-plasmodial.<sup>9,10</sup> *Plasmodium falciparum* *transketolase* (PfTk) dan *Plasmodium falciparum dihydroorotate dehydrogenase* (PfDHODH) merupakan target penting dalam pembuatan obat malaria, sehingga sangat penting menguji efek senyawa aktif dari *Haliclona sp.* terhadap kedua enzim tersebut untuk mengetahui potensinya dalam pengembangan obat anti-malaria.

*Plasmodium falciparum transketolase* (PfTk), merupakan enzim yang berperan dalam replikasi dan kelangsungan hidup parasit serta membantu memasok gula pentosa untuk sintesis nukleotida parasit. PfTk memiliki homologi yang paling sedikit dengan manusia

berdasarkan analisis biokimia sehingga penghambatan PfTk dapat menjadi target potensial untuk pengobatan malaria. PfTk menjadi sasaran studi komputasi yang luas untuk menentukan sifat kimia dan strukturalnya bersama dengan jaringan interaksi protein-proteinnnya.<sup>11</sup>

Enzim *Plasmodium falciparum dihydroorotate dehydrogenase* (PfDHODH) juga telah diidentifikasi sebagai target penting dalam pembuatan obat malaria. Gangguan aktivitas dari PfDHODH dapat menghambat biosintesis *de novo* pirimidin sehingga dapat mencegah infeksi malaria. Sintesis organik, kristalografi, molekul seperti *docking* molekuler, hubungan aktivitas struktur kuantitatif, pemetaan farmakofor berbasisi struktur, dan simulasi dinamika molekul telah diterapkan pada penemuan inhibitor baru dari PfDHODH.<sup>12</sup>

Berdasarkan hal tersebut, *Haliclona sp.* diharapkan dapat menjadi terapi alternatif penyakit malaria. Penelitian *in silico* dilakukan untuk membuktikan potensi senyawa aktif pada *Haliclona sp.* terhadap enzim PfTk dan PfDHODH. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek inhibisi senyawa aktif pada spons *Haliclona sp.* terhadap perkembangan *P. falciparum* berdasarkan studi *in silico*. Studi *in silico* merupakan langkah awal yang strategis dan penting dalam pengembangan obat dan apabila menunjukkan hasil yang positif, maka dapat dilanjutkan dengan uji *in vitro* dan *in vivo*.

## Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan *One Shot Experimental Study* dengan metode *in silico* di Laboratorium Bioinformatika, CV Delta Science, Malang, Jawa Timur, Indonesia yang dilakukan pada bulan Mei sampai Agustus 2022 menggunakan *Haliclona sp.* sebagai variabel bebas dan protein *P. falciparum* sebagai variabel terikat.

## Penyiapan struktur dan ligand

Senyawa *Haliclonacyclamine A* diisolasi dari spons *Haliclona sp.* di Kepulauan Solomon. Ini bertindak sebagai agen antiplasmodial *in vitro* dan *in vivo* yang kuat terhadap masing-masing tikus yang terinfeksi *P.falciparum* strain FCB1.<sup>10</sup> *Manzamine* diisolasi dari spons *Haliclona sp* pada tahun 1998 dan menunjukkan beragam bioaktivitas salah satunya adalah aktivitas antimalaria.<sup>13</sup> Web (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) menyediakan kandungan aktif *Haliclona sp.* yang digunakan pada penelitian ini. Struktur tiga dimensi yang terdapat pada Laboratorium Bioinformatika, CV Delta Science merupakan struktur protein *Plasmodium falciparum* transketolase (PfTk) dan *Plasmodium falciparum* dihydroorotate dehydrogenase (PfDHODH) yang digunakan pada penelitian ini, yang berasal dari (<https://www.rcsb.org/>). Kode protein yang digunakan adalah 8R3Q untuk PfTK dan 7WYF untuk PfDHODH.

## Prediksi potensi senyawa

Senyawa aktif yang terkandung dalam *Haliclona sp.* berasal dari literatur. Analisis potensi dari senyawa aktif sebagai anti malaria dilakukan menggunakan Molegro *virtual docking* versi 5 dan *Discovery Studio* versi 21.1.1.

## Prediksi pathway

Molegro *virtual docking* versi 5 dan *Discovery Studio* versi 21.1.1 digunakan untuk memprediksi *pathway* atau jalur yang dihambat oleh senyawa aktif yang dilakukan setelah bioaktivitas dari senyawa aktif.

## Molecular docking

*Docking* molekuler adalah alat berbasis struktur *throughput* tinggi yang paling banyak digunakan. *Docking*

memungkinkan prediksi skala besar tentang apakah dan bagaimana molekul kecil mengikat target makromolekul. Meskipun ada banyak fungsi penilaian yang relatif akurat untuk pembuatan *pose*, ketidakakuratan fungsi penilaian untuk memprediksi afinitas pengikatan diketahui menjadi faktor pembatas utama untuk keandalan *docking*, oleh karena itu penelitian telah difokuskan pada peningkatan prediksi afinitas pengikatan dengan menggunakan *benchmark* berdasarkan struktur kristal sinar-X daripada *pose docking*. Prediksi kekuatan interaksi ini memungkinkan kita melihat potensi mikro molekul organik sebagai ligan menuju ke situs pengikatan protein target. Penilaian ikatan antara protein-ligan dapat dilakukan menggunakan beberapa program *docking*, untuk penelitian ini menggunakan program *docking Molegro Virtual Docker*.<sup>14</sup>

Prediksi kekuatan interaksi antara reseptor dan ligan berdasarkan nilai *binding affinity* dapat diketahui dengan melakukan *docking*. Nilai yang semakin negatif menunjukkan interaksi antara reseptor dan ligan yang semakin kuat. Jika nilai senyawa aktif yang diuji mendekati nilai kontrol, maka dapat diprediksi bahwa senyawa aktif tersebut memiliki aktivitas antagonis terhadap protein target. Target protein pada *docking* ini adalah *P. falciparum* PMT (PDB ID 3UJ9) dengan kontrol inhibitor artemisin. *Docking* menggunakan program Molegro *virtual docker* dengan *grid* spesifik yaitu *grid* sisi aktif (X=17,17Å; Y=13,46 Å; Z=18,86 Å; Radius 9).<sup>15</sup>

## Prediksi absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi

*Websserver* SWISS ADME (<http://www.swissadme.ch/index.php>) digunakan untuk melihat prediksi *absorption, distribution, metabolism and excretion* (ADME), kemudian analisis akan dilakukan untuk mencari tahu *physicochemical* dan farmakokinetik

kandungan senyawa aktif yang memiliki potensi untuk menjadi obat. Tolak ukur yang dapat digunakan untuk meninjau hasil yang didapat adalah Lipinski's *rule of 5*. Adapun kriteria Lipinski adalah: kurang dari atau sama dengan 5 *hydrogen bond donors* (jumlah ikatan nitrogen dengan hidrogen dan oksigen dengan hidrogen); < atau sama dengan 10 *hydrogen bond acceptors* (seluruh atom oksigen atau nitrogen) dan berat molekul < 500 dalton.<sup>16</sup>

**Prediksi toksisitas**

Prediksi toksisitas menggunakan *Pro-Tox* ([http://tox.charite.de/protox\\_II/](http://tox.charite.de/protox_II/)) dengan menggunakan parameter *lethal dose* (LD50 dengan nilai dalam mg/kg berat badan). LD50 merupakan dosis yang mematikan, dimana sekitar 50% subjek meninggal akibat terpapar dengan senyawa. Berdasarkan sistem klasifikasi pelabelan bahan kimia *Globally Harmonized System* (GHS) kelas toksisitas dibagi menjadi beberapa berikut:

1. Kelas I: berakibat membahayakan apabila tertelan ( $LD50 \leq 5$ )
2. Kelas II : berakibat buruk apabila tertelan ( $5 < LD50 \leq 50$ )
3. Kelas III : berakibat *toxic* apabila terminum ( $50 < LD50 \leq 300$ )
4. Kelas IV : berbahaya apabila tertelan ( $300 < LD50 \leq 2000$ )
5. Kelas V : mungkin akan bahaya apabila tertelan ( $2000 < LD50 \leq 5000$ )

6. Kelas VI : tidak ber akibat *toxic* ( $LD50 > 5000$ ).

Platform ProTox-II dibagi menjadi lima langkah klasifikasi yang berbeda: (1) toksisitas akut (model toksisitas oral dengan enam kelas toksisitas yang berbeda); (2) toksisitas organ (satu model); (3) titik akhir toksikologi (empat model); (4) jalur toksikologi (12 model) dan (5) target toksisitas (15 model).<sup>17</sup>

**Hasil Penelitian**

**Kandungan zat aktif *Haliclona sp.***

Data senyawa aktif yang terkandung pada *Haliclona sp.* berasal dari (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Beberapa komponen aktif dari *Haliclona sp.* yang memiliki potensi sebagai antimalaria adalah *Manzamine* dan *Haliclona cyclamine A*.

**Prediksi mekanisme kerja senyawa aktif terhadap PFTk**

Analisis prediksi *pathway* zat aktif *Haliclona sp.* terhadap enzim PFTk dapat dilakukan dengan menggunakan *molecular docking* dengan hasil seperti yang tertera pada tabel 1. *Manzamine* dan *Haliclona cyclamine A* memiliki energi ikatan yang lebih rendah dibandingkan kontrol.

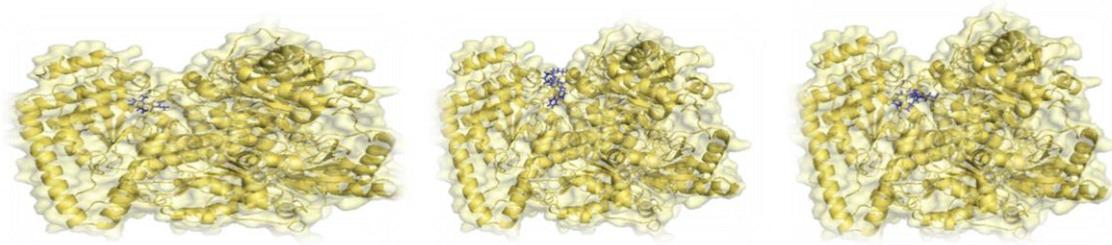
**Tabel 1.** Hasil molecular docking antara PFTk dengan Ligand

Senyawa	Energi Ikatan/ <i>Binding Affinity</i> (kJ/mol)
<i>Artemisinin</i> (kontrol)	-259
<i>Manzamine</i>	-352,8
<i>Haliclona cyclamine A</i>	-269,8

A

B

C



**Gambar 1.** Visualisasi hasil *docking* artemisin dan PfTk (A), *Manzamine* dengan PfTk (B), dan *Haliclonacyclamine A* dan PfTk (C). Sumber: koleksi pribadi.

Prediksi kekuatan interaksi antara protein-ligan dapat dilihat berdasarkan nilai *binding affinity*. Apabila *binding affinity* semakin negatif maka interaksi antara ligan-protein akan semakin kuat. Pada gambar 1 menunjukkan kompleks interaksi antara *Artemisinin* dan PfTk di daerah yang sama dengan *Manzamine* dan *Haliclonacyclamine A* pada gambar 1B dan 1C. Pada tabel 1 menunjukkan nilai *binding affinity* dimana *Artemisinin* sebagai kontrol mengikat PfTk dengan nilai *binding affinity* yang dihasilkan yaitu -259 kJ/mol. *Manzamine* menunjukkan energi ikatan yang lebih rendah dari pada kontrol dengan nilai -352,8 dan *Haliclonacyclamine A*

dengan nilai -269,8. *Manzamine* memiliki afinitas yang paling rendah dibandingkan dua senyawa lainnya terhadap PfTk, yang berarti bahwa *manzamin* memiliki ikatan yang lebih kuat dengan PfTk dibandingkan kontrol (*artemisinin*) dan *Haliclonacyclamine A*. *Haliclonacyclamine A* memiliki nilai *binding affinity* yang lebih rendah dari *artemisinin*, sehingga memiliki sifat ikatan *Haliclonacyclamine A* terhadap PfTk yang lebih kuat dari kontrol *artemisinin*. Interaksi asam amino antara ligan dan protein dapat dilihat melalui program *Discovery Studio Visualizer* pada tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil visualisasi asam amino ligan dan PfTk

Seyawa	Ikatan Hidrofobik	Ikatan Hidrogen
<i>Artemisinin</i> (kontrol)	LEU118 ILE416 ILE250 HIS69 HIS263	ALA33 ILE191 THR190
<i>Manzamine</i>	<b>HIS69</b> HIS481 HIS30 <b>ILE191</b> LEU383	ASP477 HIS30 GLY264 H7 H14
<i>Haliclonacyclamine A</i>	<b>LEU118</b> ILE191 LEU383 <b>ILE416</b> <b>HIS69 HIS263</b>	ASP382 HIS481 ILE189

Keterangan: residu asam amino yang **dibold** memiliki residu asam amino yang sama dengan *Artemisinin* sebagai kontrol

Berdasarkan tabel 2, *Haliclonacyclamine A* memiliki 4 ikatan hidrofobik yang sama dengan ikatan hidrofobik dari *Artemisinin*. Apabila hasil pada tabel 1 dan tabel 2 digabungkan maka *Haliclonacyclamine A* memiliki ikatan

yang paling kuat terhadap PfTk karena memiliki *binding affinity* melebihi *Artemisinin*.

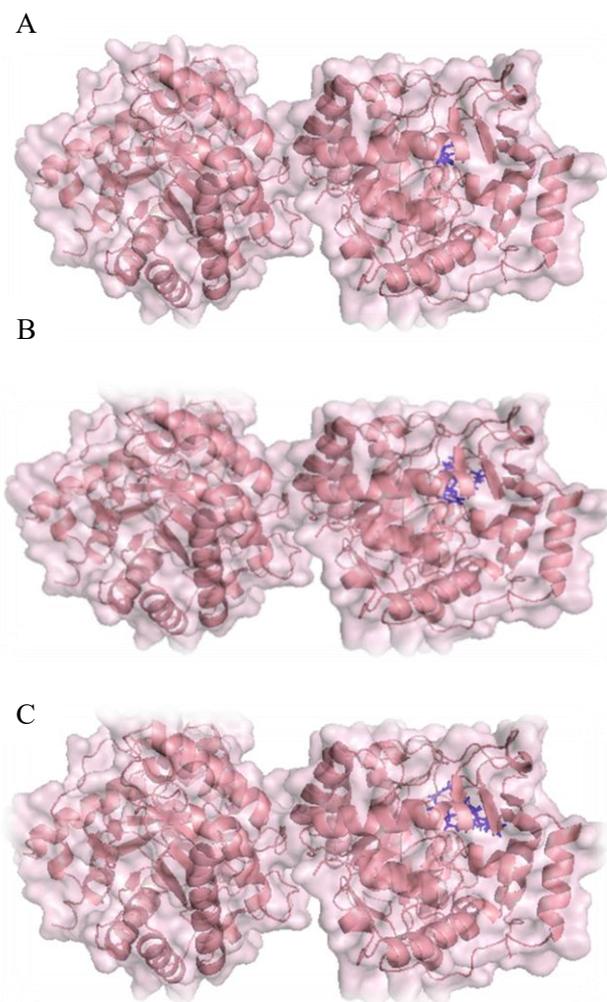
**Prediksi mekanisme kerja senyawa aktif terhadap PfdHODH**

Analisis prediksi *pathway* zat aktif *Haliclona sp.* terhadap enzim PfdHODH

dapat dilakukan dengan menggunakan *molecular docking* yang memiliki hasil pada tabel 3.

**Tabel 3.** Hasil molecular docking antara PfdHODH dengan Ligan

Senyawa	Energi Ikatan (kJ/mol)
<i>Artemisinin</i> (kontrol)	-236,4
<i>Manzamine</i>	-235
<i>Haliclonacyclamine A</i>	-162,6



**Gambar 2.** Visualisasi hasil *docking* Artemisinin dengan PfdHODH (A), *Manzamine* dengan PfdHODH (B), *Haliclonacyclamine A* dengan PfdHODH (C). Sumber: koleksi pribadi.

Pada gambar 2A menunjukkan kompleks interaksi antara *Artemisinin* dan PfdHODH di daerah yang sama dengan *Manzamine* dan *Haliclonacyclamine A* pada gambar 2B dan 2C. Pada tabel 3 menunjukkan nilai *binding affinity* dimana *Artemisinin* sebagai kontrol mengikat PfdHODH dengan nilai *binding affinity* yang dihasilkan yaitu -236,4 kJ/mol.

*Manzamine* menunjukkan nilai *binding affinity* yang lebih tinggi dari pada kontrol dengan nilai -235 dan *Haliclonacyclamine A* dengan nilai -162,6. *Artemisinin* memiliki afinitas yang paling rendah dibandingkan dua senyawa lainnya terhadap PfdHODH. Interaksi asam amino antara ligan dan protein dapat dilihat melalui program *Discovery Studio Visualizer* pada tabel 4.

**Tabel 4.** Hasil visualisasi asam amino ligan dan PfdHODH

Senyawa	Ikatan Hidrofobik	Ikatan Hidrogen
<i>Artemisinin</i> (kontrol)	ALA224 LEU481 TYR528	ASN274 GLY478 SER457 SER505
<i>Manzamine</i>	THR459 <b>TYR528</b> ILE263 CYS276	LYS429 ALA225 H7 ASN458 THR459 GLY226 TYR528 H14 ASN274 SER345 <b>SER457</b> SER477 GLY478
<i>Haliclonacyclamine A</i>	LYS229 ILE263 ILE272 CYS276 <b>TYR528</b>	<b>TYR528</b> ALA225

Keterangan: residu asam amino yang *dibold* memiliki residu asam amino yang sama dengan *artemisinin* sebagai kontrol

Berdasarkan tabel 4, *Haliclonacyclamine A* memiliki satu ikatan hidrofobik yang sama dengan *Artemisinin*, sedangkan *Manzamine* memiliki satu ikatan hidrogen dan satu ikatan hidrofobik yang sama dengan *Artemisinin*. Apabila hasil

pada tabel 3 dan tabel 4 digabungkan maka *Manzamine* memiliki ikatan yang lebih kuat terhadap PfdHODH karena memiliki *binding affinity* yang paling mendekati *Artemisinin* serta memiliki satu ikatan hidrogen dan satu ikatan hidrofobik yang sama dengan *Artemisinin*.

**Tabel 5.** Hasil prediksi *absorption, distribution, metabolism, and excretion* (ADME) pada senyawa aktif

Keterangan	Senyawa	
	<i>Manzamine</i>	<i>Haliclonacyclamine A</i>
Berat Molekul	548,76 g/mol	468,80 g/mol
<i>Hydrogen Bond Acceptor</i>	1	2
<i>Hydrogen Bond Donors</i>	4	0
Jumlah Atom	13	0
Kelarutan Air	Kelarutan Buruk	Kelarutan Buruk
<i>GI Absorbtion</i>	Tinggi	Rendah
<i>Blood-Brain Barrier (BBB) permeant</i>	Tidak Menembus BBB	Tidak Menembus BBB
<i>Bioavailability Score</i>	0,17	0,55
Nilai logP (MlogP)	4,27	6,27

Lipinski's rule of 5:

1. Kurang dari atau sama dengan 5 *hydrogen bond donors* (total ikatan nitrogen–hidrogen, oksigen–hidrogen)
2. Kurang dari atau sama dengan 10 *hydrogen bond acceptors* (seluruh atom nitrogen atau oksigen)
3. Berat molekul < 500 dalton
4. Nilai logP < 10 (MlogP)

**Prediksi absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi**

Tabel 5 menunjukkan bahwa senyawa *Manzamine* diketahui tidak memenuhi kriteria Lipinski, sedangkan *Haliclonacyclamine A* merupakan senyawa yang paling aman untuk dikembangkan sebagai kandidat antimalaria karena memenuhi kriteria Lipinski.

**Prediksi toksisitas**

Prediksi toksisitas senyawa aktif yang terkandung dalam *Haliclona sp.* menggunakan *webservice Pro-Tox* ([http://tox.charite.de/protox\\_II/](http://tox.charite.de/protox_II/)), kemudian untuk hasilnya akan ditinjau dengan parameter dosis toksik atau *Lethal Dose 50* (LD50) dengan satuan mg/kg berat badan dan untuk kelas toksisitas menggunakan sistem klasifikasi *globally harmonized system* (GHS). Tabel 6 merupakan hasil dari prediksi toksisitas.

**Tabel 6.** Hasil Prediksi Toksisitas Senyawa Aktif pada *Haliclona sp.*

Keterangan	Senyawa	
	<i>Manzamine</i>	<i>Haliclonacyclamine A</i>
Prediksi LD50 (mg/kgBB)	4	652
Prediksi Toksisitas (kelas)	1	4

Pada prediksi uji toksisitas ini, *Haliclonacyclamine A* memiliki LD50 yang cukup tinggi yaitu 652 mg/kgBB dengan toksisitas kelas 4 yaitu kelas yang sama dengan *Artemisinin* sebagai kontrol. Sedangkan *Manzamine* memiliki LD50 yang rendah yaitu 4mg/kgBB yang termasuk dalam toksisitas kelas 1.

**Pembahasan**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas penghambatan senyawa aktif yang terdapat dalam *Haliclona sp.* yaitu *Manzamine* dan *Haliclonacyclamine A* terhadap PfTk dan PfDHODH berdasarkan uji *in silico*. Pada

penelitian *in vitro* telah dibuktikan bahwa senyawa aktif pada *Haliclona sp.* memiliki aktifitas antimalaria.<sup>9</sup> Berdasarkan hasil *docking Manzamine* dan *Haliclonacyclamine A* memiliki efek inhibisi terhadap PfTk dan PfDHODH.

Penelitian sebelumnya yang menguji aktivitas antimalaria ekstrak spons *Haliclona sp.* asal Papua menunjukkan bahwa kandungan kimia senyawa alkaloid lebih dominan dibanding steroid dan triterpenoid. Spons *Haliclona sp.* memiliki aktivitas antimalaria karena dapat menghambat pertumbuhan *P. falciparum* dengan nilai IC50 lebih kecil untuk galur resisten dari kontrol klorokuin.<sup>18</sup> *Haliclonacyclamine A* merupakan anggota

pertama dari kelas alkaloid yang menunjukkan aktivitas antimalaria dan merupakan salah satu produk alami antimalaria yang potensial. *Haliclonacyclamine A* memiliki struktur yang lebih kompleks dari pada *Manzamine* yang juga menampilkan makrosiklus lipofilik, dan aktivitas yang hampir mirip dengan *Haliclonacyclamine A* yaitu sebagai (antijamur, antituberkulosis, sitotoksik dan antimalaria).<sup>10</sup>

*Manzamine* merupakan alkaloid  $\beta$ -carboline yang terdapat pada spons *Haliclona sp.* Pada penelitian *in vivo* telah dibuktikan bahwa *Manzamine* dapat menghambat pertumbuhan parasit malaria pada hewan pengerat yang diinfeksi *Plasmodium berghei*. Lebih dari 90% tahap aseksual *P.berghei* dihambat setelah injeksi *Manzamine* pada tikus yang terinfeksi. Aspek yang paling baik dari pengobatan *Manzamine* ini adalah kemampuannya memperpanjang kelangsungan hidup dengan pemulihan 40% selama 60 hari setelah injeksi tunggal. Pemberian oral *Manzamine* dapat mengurangi parasitemia yang signifikan. Pada hasil penelitian *in vivo* *Manzamine* dan turunannya memiliki potensi sebagai agen antimalaria baru dengan onset kerja yang cepat dan aktivitas antiparasit yang berkepanjangan.<sup>19</sup>

Prediksi mekanisme kerja dilakukan melalui *molecular docking* dengan hasil energi ikatan atau *binding affinity* ( $\Delta G$ ) adalah suatu parameter yang digunakan untuk mengetahui kestabilan konformasi antara ligan dan reseptor. Antara ligan dan protein terjadi interaksi yang disebabkan oleh kompleks yang dihasilkan memiliki nilai  $\Delta G < 0$ . Semakin kecil *binding affinity* maka ikatan ligan dengan reseptor yang terbentuk akan semakin stabil. Apabila nilai *binding affinity* semakin mendekati nilai kontrol maka senyawa tersebut memiliki potensi inhibisi yang tinggi terhadap protein target.

Pada Pfk, *Manzamine* dan *Haliclonacyclamine A* memiliki nilai

*binding affinity* yang paling rendah atau lebih negatif dibandingkan dengan *Artemisinin* sebagai kontrol, sehingga potensi inhibisi *Manzamine* dan *Haliclonacyclamine A* lebih kuat dibandingkan *Artemisinin*. *Manzamine* memiliki nilai *binding affinity* yang paling negatif dibandingkan dengan *Haliclonacyclamine A*, sehingga yang memiliki potensi inhibisi paling tinggi adalah *Manzamine*.

Pada PfdHODH *Manzamine* memiliki nilai *binding affinity* yang paling mendekati kontrol sehingga potensi inhibisi dari *Manzamine* mirip dengan potensi inhibisi dari *Artemisinin* sebagai kontrol, selain itu *Manzamine* juga memiliki satu ikatan hidrogen dan satu interaksi hidrofobik yang sama dengan *Artemisinin*, sedangkan untuk *Haliclonacyclamine A* memiliki nilai *binding affinity* yang lebih tinggi dibandingkan *Manzamine* dan *Artemisinin*, serta memiliki satu residu asam amino yang sama dengan *Artemisinin*, sehingga pada penelitian ini *Manzamine* memiliki potensi inhibisi yang lebih baik dibandingkan dengan *Haliclonacyclamine A* PfdHODH.

Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa senyawa *Manzamine* merupakan salah satu kandidat antimalaria yang paling potensial dan menjanjikan, serta telah berhasil diisolasi dari berbagai spesies spons laut termasuk *Haliclona sp.* *Manzamine A* menunjukkan aktivitas *in vitro* yang sangat kuat terhadap *P. falciparum* galur D6, dengan nilai *minimum inhibitory concentration* (MIC) sebesar 0,0045 mg/mL, namun prediksi toksisitas pada penelitian tersebut tidak dilakukan.<sup>20</sup> Berdasarkan semua uji ADME dan toksisitas yang telah dilakukan pada penelitian ini, kedua senyawa aktif pada *Haliclona sp.* memiliki potensi sebagai antimalaria tetapi senyawa yang paling baik dan aman apabila dilihat dari analisis ADME dan prediksi toksisitas adalah *Haliclonacyclamine A*. Meskipun *Haliclonacyclamine A* diklasifikasikan

dalam toksisitas kelas 4, penilaian terhadap keamanan kandidat obat tidak hanya didasarkan pada tingkat toksisitas semata, namun juga mempertimbangkan profil farmakokinetik serta perbandingan relatif terhadap senyawa lain. Dalam penelitian ini, *Manzamine* dikategorikan dalam kelas toksisitas 1, yang berarti sangat toksik. *Haliclonacyclamine A* menunjukkan toksisitas yang lebih rendah dibandingkan *Manzamine*. Selain itu, *Haliclonacyclamine A* memenuhi kriteria Lipinski, termasuk parameter bioavailabilitas dan karakteristik fisikokimia yang mendukung sebagai kandidat obat. Oleh karena itu, dalam konteks pengembangan obat antimalaria berbasis senyawa alami, *Haliclonacyclamine A* dianggap lebih aman secara relatif dan dapat ditindaklanjuti dalam penelitian lanjutan, seperti uji *in vitro* dan *in vivo* untuk mengevaluasi kembali keamanan dan efikasinya dalam kondisi biologis yang lebih kompleks. Pendekatan ini sejalan dengan tahapan awal penemuan obat, di mana senyawa dengan profil toksisitas menengah namun menunjukkan aktivitas biologis spesifik dan parameter ADME yang menjanjikan tetap dapat dipertimbangkan untuk pengembangan lebih lanjut.<sup>21</sup>

### Kesimpulan

*Haliclona sp.* terbukti mengandung senyawa aktif yaitu *Manzamine* dan *Haliclonacyclamine A* dan pada penelitian *in silico* ini terbukti bahwa senyawa *Manzamine* dan *Haliclonacyclamine A* dapat menghambat pertumbuhan *P. falciparum*. Analisis prediksi senyawa menunjukkan terdapat keterkaitan antara enzim PfTk dan PfDHODH (enzim yang berperan dalam perkembangan *P. falciparum*) dengan senyawa aktif pada *Haliclona sp.* yaitu *Manzamine* dan *Haliclonacyclamine A*. Analisis prediksi ADME terhadap senyawa *Haliclonacyclamine A* pada *Haliclona sp.* diketahui memenuhi kriteria Lipinski.

*Haliclonacyclamine A* masuk kedalam toksisitas kelas 4 dimana ini merupakan kelas yang sama dengan *Artemisinin*. *Haliclonacyclamine A* lebih direkomendasikan untuk dikembangkan sebagai kandidat antimalaria dibandingkan *Manzamine*, karena meskipun *Haliclonacyclamine A* masih menunjukkan tingkat toksisitas kelas 4, senyawa ini memenuhi kriteria Lipinski dan memiliki potensi inhibisi terhadap enzim target *Plasmodium*. Sebaliknya, *Manzamine* dikategorikan sangat toksik (toksisitas kelas 1) dan memerlukan modifikasi lebih lanjut sebelum dapat dipertimbangkan sebagai kandidat obat. Implikasi penelitian ini menunjukkan bahwa *Haliclonacyclamine A* berpotensi dikembangkan sebagai obat antimalaria alternatif yang aman dan efektif, serta dapat menjadi dasar penelitian lanjutan *in vitro* dan *in vivo*. Penelitian lanjutan secara *in vitro* perlu dilakukan untuk mengonfirmasi aktivitas antimalaria antara senyawa *Manzamine* dan *Haliclonacyclamine A* terhadap *Plasmodium falciparum* dalam kultur sel, termasuk uji sitotoksitas secara *in vitro* dan studi farmakokinetik (PK) dan farmakodinamik (PD) untuk mengetahui keamanannya.

### Daftar Pustaka

1. Azani A. *Andrographis paniculata* Nees dan *Holothuria Sp.*, Sumber Daya Alam Indonesia dengan Potensi Anti Malaria. Syifa' MEDIKA. 2018;9:45-50.
2. Lewinsca MY, Raharjo M, Nurjazuli N. Faktor Risiko yang Mempengaruhi Kejadian Malaria di Indonesia: Review Literatur 2016-2020. J Kesehatan Lingkungan. 2021;11:16-28.
3. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2024. Peta Jalan Eliminasi Malaria dan Pencegahan Penularan Kembali di Indonesia Tahun 2025-

2045. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
4. Priantono D, Purnama A, Nelwan EJ. Tantangan dalam Tata Laksana Malaria Berat di Rumah Sakit Daerah Terpencil di Indonesia. *J Penyakit Dalam Indones*. 2017;4:41-4.
  5. Utami PD, Hadi U, Dachlan YP, Suryokusumo G, Loeki EFR, Yudo V. Protection against brain histopathological damage in experimental cerebral malaria models after exposure to hyperbaric oxygen. *Res J Pharm Technol*. 2021;14:3833-8.
  6. Philothra BD, Alona I, Situmorang E, Limbardon P, Salsalina VG. Treatment-seeking behavior for malaria among communities in Indonesia: A systematic review. *Narra J*. 2023;3:e428. doi:10.52225/narra.v3i3.428.
  7. Suwandi JF. Gen PfATP6 dan Resistensi Plasmodium falciparum Terhadap Golongan Artemisinin. *JuKe Unila*. 2015;5:141-6.
  8. Utami PD. Antimalarial activity prediction analysis of sticophus hermanni on plasmodium falciparum hexose transporter (PfHT1). 2022;6:134-52.
  9. Murtihapsari. Aktivitas antimalaria ekstrak spons *Haliclona sp.* asal Papua. *Chem Prog*. 2012;5:43-8.
  10. Mani L, Petek S, Valentin A, Chevalley S, Folcher E, Aalbersberg W, et al. The in vivo anti-plasmodial activity of haliclona cyclamine A, an alkaloid from the marine sponge, *Haliclona sp.* *Nat Prod Res*. 2011;25:1923-30.
  11. Hasan AM, Mazumder HMH, Chowdhury SA, Datta A, Khan AM. Molecular-docking study of malaria drug target enzyme transketolase in Plasmodium falciparum 3D7 portends the novel approach to its treatment. *Source Code Biol Med*. 2015;10. doi: 10.1186/s13029-015-0037-3.
  12. Hoelz LV, Calil FA, Nonato MC, Pinheiro LC, Boechat N. Plasmodium falciparum dihydroorotate dehydrogenase: A drug target against malaria. *Future Medicinal Chemistry*. Future Medicine Ltd. 2018;10:1853-74.
  13. Kubota T, Kurimoto SI, Kobayashi J. The manzamine alkaloids. *Alkaloids Chem Biol*. 2020;84:1-124.
  14. Filgueira de Azevedo Jr Editor W. Docking Screens for Drug Discovery (Online) Januari 2019 di <http://www.springer.com/series/7651>. [diakses tanggal 23 Januari 2024].
  15. Bitencourt-Ferreira G, de Azevedo WF. Docking with SwissDock. *Methods Mol Biol*. 2019;2053:189-202.
  16. Benet LZ, Hosey CM, Ursu O, Oprea TI. BDDCS, the Rule of 5 and drug ability. *Adv Drug Deliv Rev*. 2016;101:89-98.
  17. Banerjee P, Eckert AO, Schrey AK, Preissner R. ProTox-II: A webserver for the prediction of toxicity of chemicals. *Nucleic Acids Res*. 2018;46:257-63.
  18. Murtihapsari. Aktivitas Antimalaria Ekstrak Spons *Haliclona sp.* Asal Papua. *Chem Prog*. 2012;5:43-48.
  19. Ang KKH, Holmes MJ, Higa T, Hamann MT, Kara UAK. In Vivo Antimalarial Activity of the Beta-Carboline Alkaloid Manzamine A. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000;44:1645-9.
  20. Anjum K, Abbas SQ, Shah SAA, Akhter N, Batool S, Hassan SS. Marine Sponges as a Drug Treasure. *Biomol Ther*. 2016;24:347-362.
  21. Waring MJ, Arrowsmith J, Leach AR, Leeson PD, Mandrell S, Owen RM, et al. An analysis of the attrition of drug candidates from four major pharmaceutical companies. *Nat Rev Drug Discov*. 2015;14:475-486.