

**ANALISIS *IN SILICO* PROTEIN PILI ADHESIN PADA BAKTERI
PATOGEN PENYEBAB PENYAKIT PNEUMONIA SEBAGAI
TARGET SENYAWA ANDROGRAPHOLIDE**

SKRIPSI

Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai
derajat Sarjana S-1 Program Studi Biologi



Disusun oleh :

Ulfa Nurrohmah Hikmawati

16640070

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UIN SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA
2023**

PENGESAHAN TUGAS AKHIR



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN KALIJAGA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
Jl. Marsda Adisucipto Telp. (0274) 540971 Fax. (0274) 519739 Yogyakarta 55281

PENGESAHAN TUGAS AKHIR

Nomor : B-2319/Un.02/DST/PP.00.9/08/2023

Tugas Akhir dengan judul : Analisis in silico protein pili adhesin pada bakteri patogen penyebab pneumonia sebagai target senyawa andrographolide.

yang dipersiapkan dan disusun oleh:

Nama : ULFA NURROHMAH HIKMAWATI
Nomor Induk Mahasiswa : 16640070
Telah diujikan pada : Senin, 14 Agustus 2023
Nilai ujian Tugas Akhir : A-

dinyatakan telah diterima oleh Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta

TIM UJIAN TUGAS AKHIR



Valid ID: 64e80a39b0606

Ketua Sidang

Jumailatus Solihah, S.Si., M.Si.
SIGNED



Valid ID: 64e7642568b74

Penguji I

Najda Rifqiyati, S.Si., M.Si.
SIGNED



Valid ID: 64e80935d43f8

Penguji II

Dr. Arifah Khusnuryani, S.Si., M.Si.
SIGNED



Valid ID: 64e8448f6f144

Yogyakarta, 14 Agustus 2023
UIN Sunan Kalijaga
Dekan Fakultas Sains dan Teknologi

Prof. Dr. Dra. Hj. Khurul Wardati, M.Si.
SIGNED

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertandatangan dibawah ini :

Nama : Ulfa Nurrohmah Hikmawati

NIM : 16640070

Program Studi : Biologi

Menyatakan dengan sesungguhnya skripsi saya ini adalah asli hasil karya atau penelitian penulis sendiri dan bukan plagiasi dari hasil karya orang lain kecuali pada bagian yang dirujuki sumbernya.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya agar dapat diketahui oleh anggota dewan penguji.

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIAGA
YOGYAKARTA

Yogyakarta, 08 Agustus 2023

Yang menyatakan,



Ulfa Nurrohmah H
NIM. 16640070

SURAT PERSETUJUAN SKRIPSI/TUGAS AKHIR

SURAT PERSETUJUAN SKRIPSI/TUGAS AKHIR

Hal : Persetujuan Skripsi/Tugas Akhir
Lamp : -

Kepada
Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta
di Yogyakarta

Assalamu'alaikum wr. wb.

Setelah membaca, meneliti, memberikan petunjuk dan mengoreksi serta mengadakan perbaikan seperlunya, maka kami selaku pembimbing berpendapat bahwa skripsi Saudara:

Nama : Ulfa Nurrohmah Hikmawati
NIM : 16640070

Judul Skripsi : Analisis *In Silico* Protein Pili Adhesin pada Bakteri
Patogen Penyebab Penyakit Pneumonia Sebagai Target
Senyawa Andrographolide

sudah dapat diajukan kembali kepada Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Strata Satu dalam Program Studi Biologi.

Dengan ini kami berharap agar skripsi/tugas akhir Saudara tersebut di atas dapat segera dimunaqsyahkan. Atas perhatiannya kami ucapkan terima kasih.

Wassalamu'alaikum wr. wb.

Yogyakarta, 5 Agustus 2023
Pembimbing,


Jumailatus Solihah S.Si, M.Sc
NIP. 19760624 200501 2 007

Analisis *In Silico* Protein Pili Adhesin pada Bakteri Patogen Penyebab Penyakit Pneumonia Sebagai Target Senyawa Andrographolide

Ulfa Nurrohmah Hikmawati
16640070

ABSTRAK

Pneumonia menjadi perhatian masyarakat karena menjadi salah satu penyebab utama morbiditas dan mortalitas anak berusia di bawah lima tahun. *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae* dan *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri patogen paling banyak ditemukan pada pasien pneumonia. Infeksi bakteri terhadap inang salah satunya didukung oleh pelekatan protein pili adhesin yang dimiliki oleh bakteri terhadap sel host. Upaya pencegahan terjadinya penyakit pneumonia dapat dilakukan dengan menggunakan antibiotik senyawa alami dari *Andrographis paniculata* (daun Sambiloto), yaitu Andrographolide. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui homologi protein pili adhesin bakteri patogen penyebab pneumonia dan mengetahui interaksi antara senyawa Andrographolide dengan protein pili adhesin bakteri patogen penyebab pneumonia. Penelitian ini menggunakan metode *in silico*. Homologi sekuen protein pili adhesin dilakukan dengan *Multiple Sequence Alignment* menggunakan *software* MEGA XI. Sedangkan untuk mengetahui interaksi protein pili adhesin dengan senyawa antibiotik Andrographolide dilakukan dengan cara *Docking* menggunakan *software* Pyrx. Hasil penelitian ini menunjukkan hasil persentasi *identity matrix* menggunakan Clustal Omega, bahwa isolat *Klebsiella pneumoniae* WP_253900340.1 memiliki similaritas tinggi terhadap 11 isolat bakteri lain yaitu isolat bakteri *Streptococcus pneumoniae*. Pada *Filogenetic tree* menunjukkan kedekatan evolusi dari bakteri yang diteliti. *Klebsiella pneumoniae* WP_253900340.1 berada satu klad dengan bakteri *Streptococcus pneumoniae*. Kedekatan evolusi tersebut diduga memiliki fungsi dan struktur yang sama. Protein target yang diteliti dapat dijadikan sebagai target antibiotik. Ditunjukkan pada nilai *binding affinity* yang rendah atau di bawah 0. Interaksi ligan senyawa Andrographolide dengan *Klebsiella pneumoniae* memiliki nilai *binding affinity* terendah yaitu -7,9 dan -7,8 interaksi *Klebsiella pneumoniae* dengan kontrol Tetrasiklin.

Kata kunci: andrographolide, *docking molecular*, *homology modelling*, pili adhesin, pneumonia

MOTTO

Tidak ada yang sia-sia dalam belajar. Karena ilmu akan tetap bermanfaat pada waktunya.

Keberhasilan dan kegagalan dimulai dari pikiran kita sendiri.

“Dan carilah pada apa yang telah dianugerahkan kepadamu (kebahagiaan) negeri akhirat dan janganlah kamu melupakan bagianmu dari (kenikmatan) duniawi.” (Q.S Al-Qashash:77)



STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

HALAMAN PERSEMBAHAN

Skripsi ini Penulis persembahkan kepada:

Kedua orang tua, Almarhum bapak Irsyadi dan Ibu Marfuah. Kepada kedua adik, Umi dan Aziz. Juga kepada suami, Usman dan *Baby* Sybilla.

Untuk keluarga dan almamater tercinta, Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.



KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji syukur atas izin Allah Skripsi ini dapat terselesaikan sebagaimana mestinya. Hasil skripsi yang berjudul “Analisis In Silico Protein Pili Adhesin pada Bakteri Patogen Penyebab Penyakit Pneumonia Sebagai Target Senyawa Andrographolide” ini disusun sebagai jalan untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan Pendidikan Strata I Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta. Adapun selesainya skripsi ini tidak lepas dari bantuan, dukungan, bimbingan serta doa dari berbagai pihak. Oleh karenanya, izinkan penulis menyampaikan rasa terima kasih yang tulus kepada:

1. Bapak Prof. Dr.Phil.Al Makin., MA. selaku rector UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta
2. Ibu Prof. Dr. Hj. Khurul Wardati, M.Si. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta
3. Ibu Najda Rifqiyati, S.Si., M.Si. selaku Ketua Program Studi Biologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta
4. Ibu Jumailatus Solihah, S.Si., M.Sc. selaku Dosen Penasehat Akademik sekaligus Dosen Pembimbing yang senantiasa meluangkan waktunya, tenaga dan pikiran selama proses pembuatan skripsi
5. Ibu Najda Rifqiyati, S.Si., M.Si. dan ibu Dr.Arifah Khusnuryani, S.Si.,M.Si. selaku penguji ujian skripsi yang senantiasa meluangkan waktunya, tenaga dan pikiran serta memberikan masukan kepada penulis
6. Teman-teman Program Studi Biologi 2016 yang secara langsung maupun tidak langsung memberikan semangat dan dukungan kepada penulis dalam penyusunan skripsi
7. Semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi.

Seiring dengan telah selesainya proses penyusunan skripsi, penulis sepenuhnya menyadari bahwa skripsi yang telah disusun ini masih banyak kekurangan serta jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan adanya masukan, kritik dan saran yang membangun dari pembaca demi kebaikan tulisan ini kedepannya. Di sisi lain, penulis berharap skripsi yang telah disusun ini dapat memberikan ilmu dan manfaat bagi pembaca.

Yogyakarta, 08 Agustus 2023
Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
PENGESAHAN TUGAS AKHIR	ii
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI.....	iii
SURAT PERSETUJUAN SKRIPSI/TUGAS AKHIR	iv
ABSTRAK	v
MOTTO	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
BAB I.....	1
PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah Penelitian.....	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
BAB II.....	5
TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Pneumonia	5
B. Bakteri Penyebab Pneumonia	6
C. Protein Pili Adhesin	8
D. Andrographolide	9
E. Molekuler <i>Docking</i>	10
BAB III	11
METODE PENELITIAN.....	11
A. Waktu dan Tempat Penelitian.....	11
C. Bahan	11
D. Prosedur Kerja	11

1. Pengumpulan Data	11
a. Sekuen protein pili adhesin bakteri	11
b. Persiapan Ligan.....	12
2. <i>Multiple Sequences Aligment</i> dan <i>Konstruksi Filogenetic Tree</i>	12
3. Modeling protein.....	12
4. <i>Molekuler Docking</i>	12
E. Analisis Data.....	13
BAB IV	14
HASIL DAN PEMBAHASAN.....	14
A. Pengumpulan Data.....	14
B. <i>Multiple Sequences Alignment</i>	16
C. <i>Phylogenetic Tree</i>	18
D. Pemodelan Struktur 3D.....	20
E. <i>Molecular Docking</i>	24
BAB V	29
PENUTUP	29
A. Kesimpulan.....	29
B. Saran	29
DAFTAR PUSTAKA	30
CURRICULUM VITAE.....	33

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Hasil persentasi <i>identity matrix</i> menggunakan Clustal Omega.....	18
Tabel 2. Hasil evaluasi model menggunakan Swiss-model	23
Tabel 3. Hasil nilai <i>Binding Affinity Docking</i> bakteri patogen dengan ligan (Andrographolide) dan kontrol (Tetrasiklin)	25



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Hasil BlastP Protein RrgA <i>Streptococcus pneumoniae</i> dengan bakteri patogen.	15
Gambar 2. Hasil <i>multiple alignment</i> menggunakan ClustalW pada MEGA XI	17
Gambar 3. Hasil konstruksi <i>filogenetic tree</i> menggunakan <i>construct/test maximum likelihood tree</i> pada MEGA XI	19
Gambar 4. Desain struktur 3D protein menggunakan Swiss-model, a. RrgA <i>Streptococcus pneumoniae</i> , b. <i>Streptococcus pneumoniae</i> WP_000757843.1, c. <i>Klebsiella pneumoniae</i> WP_253900340.1, d. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> MBG5844569.1, e. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> WP_186382958.1, f. <i>Klebsiella pneumoniae</i> MCY0529820.1. Keterangan: Struktur <i>Alpha Helix</i> (A) dan <i>Beta Sheet</i> (B)	21
Gambar 5. Visualisasi hasil <i>Docking</i> bakteri patogen dengan ligan Andrographolide dan tetrasiklin sebagai kontrol.	26
Gambar 6. Visualisasi 2D hasil <i>Docking</i> bakteri patogen dengan ligan	28

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Pneumonia merupakan infeksi saluran pernapasan yang mengenai jaringan paru (alveoli). Penyakit ini disebabkan oleh mikroorganisme seperti virus, bakteri atau jamur. Sebagian kecil juga disebabkan oleh hal lain seperti radiasi. Ketika seseorang menderita pneumonia, alveoli akan terisi dengan cairan yang menyebabkan rasa sakit ketika bernapas dan menghambat masuknya oksigen (Callistania & Indrawati, 2014). Pneumonia menjadi perhatian masyarakat karena menjadi salah satu penyebab utama morbiditas dan mortalitas anak berusia di bawah lima tahun. Setidaknya ada 2 juta anak balita meninggal setiap tahun disebabkan oleh pneumonia. Sebagian besar terjadi di Afrika dan Asia Tenggara.

Berdasarkan survey kesehatan nasional, tercatat sebanyak 27,6% kematian bayi dan 22,8% kematian balita di Indonesia disebabkan oleh penyakit respiratori, terutama pneumonia (Said, 2015). Berdasarkan laporan Perhimpunan Dokter Paru Indonesia (PDPI) (2003) dalam penelitian Septiyani (2014) menyatakan bahwa ditemukan bakteri *Klebsiella pneumoniae* merupakan bakteri yang paling banyak dijumpai pada pasien pneumonia yaitu sebesar 45,18%, selanjutnya diikuti oleh bakteri *Streptococcus pneumoniae* sebesar 14,04% dan *Pseudomonas aeruginosa* sebesar 8,56%. *Streptococcus pneumoniae* menjadi penyebab setidaknya 20-30% dari seluruh kasus pneumonia di Indonesia (Mandal *et al.*, 2008). Berdasarkan data *World Health Organization* (WHO) tahun 2017 menunjukkan sekitar 808.694 kasus pneumonia yang menyebabkan kematian pada anak balita setiap 20 detik. Infeksi *Streptococcus pneumoniae* diawali dengan adhesi bakteri ke sel inang.

Kemampuan *Streptococcus pneumoniae* untuk melekat pada sel inang didukung oleh beberapa protein permukaan, salah satunya adalah protein Pili adhesin. Pili adhesin memiliki peran adhesi yang pertama kali pada sel inang, kemudian diikuti oleh protein permukaan yang lain (Mufida *et al.*, 2018). Pili adhesin merupakan organel

yang memiliki kontribusi pada langkah awal infeksi yaitu adhesi dan kolonisasi terhadap sel inang (Mufida *et al.*, 2020). *Klebsiella pneumoniae* dilaporkan juga dapat menyebabkan infeksi serius pneumonia. Faktor virulensi yang penting pada *Klebsiella pneumoniae* tahap pelekatan awal bakteri untuk menginfeksi inang adalah Pili adhesin. Pili adhesin dapat mengikat secara spesifik dan berperan dalam patogenesis sel inang (Kurniawati *et al.*, 2021).

Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri Gram negatif yang mudah beradaptasi dengan lingkungan tempat tinggalnya. *P. aeruginosa* dapat menyerang manusia hingga menyebabkan infeksi serius. Patogen ini merupakan salah satu penyebab penyakit pneumonia yang paling umum (Yayan *et al.*, 2015). Patogenesis oleh *P. aeruginosa* dilakukan dengan cara memanfaatkan kontak permukaan bakteri dengan inang. *P. aeruginosa* yang berlekatan dengan inang dimediasi oleh beberapa adhesin, yaitu pili adhesin. Pili adhesin merupakan *fimbriae* bermotor yang berperan pada virulensi terhadap sel inang (Yayan *et al.*, 2015). Penelitian Hidayati (2010) membuktikan bahwa *P. aeruginosa* mempunyai protein adhesin dari pili dengan berat molekul 38,19 kDa.

Penelitian Mufida *et al.* (2020) menunjukkan bahwa protein Pili pada *Streptococcus pneumoniae* merupakan protein adhesi yang dapat dikembangkan sebagai kandidat vaksin dalam upaya pencegahan penyakit pneumonia. Penelitian Moghaddam *et al.* (2015) menyatakan bahwa RrgA merupakan bagian dari protein pili adhesin yang menjadi faktor virulensi dalam infeksi paru pada *Streptococcus pneumoniae*. Langkah untuk mengetahui profil protein pili yang diduga dapat menjadi target antibiotik pada penyakit pneumonia, diperlukan senyawa antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

Berdasarkan penelitian Sikumalay *et al.* (2016), Andrographolide merupakan senyawa antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Penelitian Alvarez *et al.* (2021) menunjukkan bahwa Andrographolide termasuk senyawa yang memiliki aktifitas antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus*

pneumoniae. Berdasarkan penelitian Huurun *et al.* (2020), menunjukkan senyawa kerentanan bakteri *Klebsiella pneumoniae* terhadap senyawa Andrographolide.

Senyawa Andrographolide merupakan komponen utama pada tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata*). Berdasarkan berbagai penelitian, Andrographolide diduga dapat melawan penyakit. Secara farmakologi disebutkan daun *Andrographis paniculata* mempunyai sifat sebagai antibakteri (Suaib, 2016). Berdasarkan hasil interaksi senyawa Andrographolide dengan pili adhesin akan menunjukkan profil protein pili adhesin dari bakteri patogen yang dapat digunakan sebagai target antibiotik pada penyakit pneumonia.

B. Rumusan Masalah Penelitian

1. Bagaimana homologi protein Pili adhesin pada bakteri *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Klebsiella pneumoniae* penyebab penyakit pneumonia?
2. Bagaimana interaksi antara senyawa Andrographolide dengan protein Pili adhesin pada bakteri *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Klebsiella pneumoniae* penyebab penyakit pneumonia?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui homologi sekuens protein Pili adhesin pada bakteri *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Klebsiella pneumoniae* penyebab penyakit Pneumonia.
2. Mengetahui interaksi antara senyawa Andrographolide dengan protein Pili adhesin pada bakteri *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Klebsiella pneumoniae* penyebab penyakit pneumonia.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini bermanfaat sebagai informasi terkait homologi protein Pili adhesin dari bakteri *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Klebsiella pneumoniae* yang menjadi kandidat protein targe antibiotik untuk pengobatan

pneumonia. Serta mengetahui potensi senyawa Andrographolide sebagai target antibiotik untuk mengobati penyakit pneumonia.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Pneumonia

Pneumonia merupakan peradangan yang mengenai jaringan paru (alveoli). Penyebab penyakit pneumonia adalah virus, bakteri jamur, pajanan bahan kimia atau kerusakan fisik dari paru-paru, atau pengaruh dari penyakit lainnya (Dahlan, 2014). *World Health Organization* melaporkan 14% dari total kematian anak di dunia disebabkan oleh pneumonia yaitu sebesar 740.180 anak pada tahun 2019 (WHO, 2021).

Pneumonia dapat diklasifikasikan dalam berbagai cara, klasifikasi paling sering ialah menggunakan klasifikasi berdasarkan tempat didapatkannya pneumonia (pneumonia komunitas dan pneumonia nosokomial), tetapi pneumonia juga dapat diklasifikasikan berdasarkan area paru yang terinfeksi (lobar pneumonia, multilobar pneumonia, bronchial pneumonia, dan interstisial pneumonia) atau agen kausatif. Pneumonia juga sering diklasifikasikan berdasarkan kondisi yang mendasari pasien, seperti pneumonia rekurens (pneumonia yang terjadi berulang kali, berdasarkan penyakit paru kronik), pneumonia aspirasi (alkoholik, usia tua), dan pneumonia pada gangguan imun (pneumonia pada pasien tranplantasi organ, onkologi, dan AIDS) (Dunn, 2007).

Proses patogenesis pneumonia terkait dengan tiga faktor yaitu keadaan (imunitas) pasien, mikroorganisme yang menyerang pasien dan lingkungan yang

berinteraksi satu sama lain. Dalam keadaan sehat, pada paru tidak akan terjadi pertumbuhan mikroorganisme, keadaan ini disebabkan oleh adanya mekanisme pertahanan paru. Adanyanya bakteri di paru merupakan akibat ketidakseimbangan antara daya tahan tubuh, mikroorganisme dan lingkungan, sehingga mikroorganisme dapat berkembang biak dan berakibat timbulnya sakit (Mandel *et al.*, 2007).

B. Bakteri Penyebab Pneumonia

1. Streptococcus pneumoniae

Streptococcus pneumoniae termasuk dalam Ordo Lactobacilales dan Famili *Streptococcaceae*. *S.pneumoniae* merupakan bakteri diplokokus Gram positif yang merupakan flora normal pada *nasofaring* memiliki lebih dari 90 serotipe. *S.pneumoniae* memiliki bentuk bulat hingga lanset. *S.pneumoniae* menjadi patogen bagi manusia dan menyebabkan *invasive pneumococcal disease*, yaitu sekelompok penyakit seperti pneumonia, sinusitis akut, konjungtivitis, meningitis, dan lain-lain (Larasati, 2019).

Streptococcus pneumoniae merupakan flora normal saluran napas bagian atas manusia sehat, terutama pada anak. Bakteri ini menyebar dari manusia ke manusia melalui udara (Donald *et al.*, 2016). Berdasarkan penelitian Ranuh *et al.* (2011), berkisar antara 5%-30% laju pertumbuhan bakteri di *nesofaring* dewasa, 20%-50% pada anak sehat, dan 25%-75% pada bayi. Faktor yang menjadi penyebab kolonisasi diantaranya : bayi tanpa ASI, infeksi saluran napas atas, perokok pasif, dan cuaca.

Tingkat efektifitas dari infeksi bakteri *S.pneumoniae* tergantung pada sistem imun pejamu. Sedangkan prinsip kerja faktor virulensi pada bakteri ini yaitu dengan cara menghindari dari sistem imun pejamu (Brooks *et al.*, 2018). Protein permukaan merupakan faktor virulensi yang membantu patogenesis pneumonia yang berperan sebagai adhesin dan menghambat sistem imun inang. Pili adalah bagian dari protein permukaan yang berfungsi untuk memberi dan

meningkatkan kemampuan bakteri dalam menempel pada epitel saluran napas manusia (Gentile *et al.*, 2011).

2. *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae merupakan bakteri gram negatif yang menjadi penyebab tersering penyakit infeksi nosokomial. *Klebsiella pneumoniae* terdapat pada tubuh manusia pada bagian saluran napas dan feses pada sekitar 5% orang normal. *Klebsiella pneumoniae* menjadi penyebab pneumonia yang menyerang pada jaringan paru-paru (alveoli). Infeksi dari *Klebsiella pneumoniae* ditunjukkan pada pembengkakan paru-paru, sehingga lobus kanan dan kiri paru-paru menjadi tidak sama, demam (panas-dingin), bronchitis, penebalan dinding mukosa dan dahak berdarah (Dewi, 2020).

Berdasarkan laporan Kazimoto *et al.* (2018), *Klebsiella pneumoniae* telah mengalami resistensi terhadap beberapa jenis antibiotik. *Klebsiella pneumoniae* memiliki beberapa faktor virulensi, salah satunya yaitu pili. Pili berperan dalam tahap awal perlekatan *Klebsiella pneumoniae* pada permukaan sel inang. Hal ini karena pili mengandung protein yang dapat berikatan dengan molekul gula penyusun membran sel inang, yang disebut dengan protein hemagglutinin serta protein yang dapat berikatan dengan reseptor permukaan sel inang yang disebut dengan protein adhesin (Dita *et al.*, 2019).

3. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa termasuk bakteri Gram negatif, berbentuk batang, menghasilkan enzim oksidase dan katalase, mampu memproduksi pigmen serta termasuk β -hemolysis. Bakteri ini menjadi sangat susah untuk diobati karena kemampuannya menghasilkan enzim beta laktamase dan biofilm (Carrol *et al.*, 2017). Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* merupakan mikroorganisme yang sering menyebabkan infeksi nosokomial. Bakteri ini sering menyebabkan infeksi luka pasca operasi, bakteremia, endokarditis bakterial, sinusitis, infeksi sistim respirasi dan saluran kemih (Syawalludin, 2019).

Banyak faktor-faktor penentu patogenitas dari bakteri ini diantaranya yang berhubungan dengan struktur sel seperti pili (fimbriae) dan bahan yang dikeluarkan seperti exotoxin A dan protease. *P. aeruginosa* mempunyai protein adhesin dari pili dengan berat molekul 38,19 kDa. Salah satu faktor virulensi *P. aeruginosa* untuk berinteraksi dan komunikasi dengan inang yang termasuk dalam GSP adalah pili (Hidayati, 2010). Pili dari *P. aeruginosa* pada dasarnya merupakan protein fiber yang memanjang dari satu atau kedua sel pole. Proses ini merupakan faktor penting untuk virulensi yang mem perantarai proses adhesi pada jaringan sel inang.

C. Protein Pili Adhesin

Pili bakteri Gram-negatif pertama kali ditemukan pada akhir 1940-an sebagai reseptor untuk bakteriofag. Sejak itu, pili telah menjadi fokus penelitian intensif dan banyak yang telah dipelajari tentang struktur, perakitan, modifikasi pascatranslasi, pengaturan ekspresi dan perannya terhadap penyakit. Salah satu bakteri Gram negatif ber-pili yang menyebabkan penyakit pneumonia adalah *Pseudomonas aeruginosa* (Proft & Baker, 2009). Sedangkan struktur pilus pada bakteri Gram-positif pertama kali dijelaskan pada tahun 1968, ketika sebuah studi mikroskop elektron menunjukkan batang fleksibel pada permukaan *Corynebacterium renale*. Bakteri Gram-positif yang terdapat pili adalah *Streptococcus pneumoniae* (Proft & Baker, 2009).

Subunit pilin tipe IV menjadi struktur pertama untuk pilin mayor Gram-positif. Ciri yang mencolok adalah kontras antara pili Gram-negatif dan Gram-positif. Sedangkan untuk bakteri Gram-negatif, dicirikan oleh pili Tipe I (atau P) dan Tipe IV, cenderung lebih tebal, dengan subunitnya terkait secara non-kovalen, dan cara perakitannya memberikan kekuatan dan stabilitas (Proft & Baker, 2009).

Seperti kebanyakan streptokokus, pada permukaan *S. pneumoniae* terdapat filamen panjang yang disebut pili. Pili pneumokokus sebelumnya telah dikaitkan dengan virulensi dan kemampuan mikroorganisme untuk melekat lebih baik pada sel epitel dan untuk merusak nasofaring. Pili adalah struktur multimerik yang terdiri dari

tiga protein (RrgA, RrgB, dan RrgC) yang dipolimerisasi oleh tiga enzim sortase (SrtC1, SrtC2, dan SrtC3) melalui pembentukan ikatan isopeptida antarmolekul kovalen. Secara khusus, banyak salinan RrgB dipolimerisasi untuk membentuk perancah pilus, sedangkan adhesin utama, RrgA, dan RrgC sebagai jangkar, masing-masing terlokalisasi di ujung dan di dasar pili (Ness & Hillerlingmann, 2021).

Berdasarkan penelitian Mufida *et al.* (2020) menunjukkan bahwa protein Pili pada *Streptococcus pneumoniae* merupakan protein adhesi yang dapat dikembangkan sebagai kandidat vaksin dalam upaya pencegahan penyakit pneumonia. Penelitian Moghaddam *et al.* (2015) menyatakan bahwa RrgA merupakan bagian dari protein pili adhesin yang menjadi faktor virulensi dalam infeksi paru pada *Streptococcus pneumoniae*.

D. Andrographolide

Senyawa antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae* dan *Pseudomonas aeruginosa* adalah senyawa Andrographolide yang tergolong dalam kelas senyawa Terpenoid (Huruun *et al.*, 2020., Alvarez *et al.*, 2021., Sikumalay *et al.*, 2016). Andrographolide merupakan diterpenoid lakton, berupa kristal bening dan mempunyai rasa yang sangat pahit dengan rumus molekul andrografolid $C_{20}H_{30}O_5$. Andrographolide memiliki sifat yang mudah larut dalam metanol, etanol, piridin, asam asetat dan aseton, tapi sedikit larut dalam eter dan air (Warditiani *et al.*, 2014).

Mekanisme kerja senyawa terpenoid sebagai zat antibakteri diduga melibatkan kerusakan membran oleh senyawa lipofilik. Terpenoid dapat bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat dan merusak porin, mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri sehingga sel bakteri kekurangan nutrisi dan menyebabkan pertumbuhan bakteri terhambat dan mati (Huurun *et al.*, 2020).

E. Molekuler *Docking*

Perkembangan teknologi komputer dan peningkatan data struktural, kimia, biologis yang tersedia terus bertambah. Sehingga pendekatan *in silico* sekarang memungkinkan penyaringan virtual jutaan senyawa dalam waktu yang terjangkau, sehingga mengurangi biaya awal identifikasi dan meningkatkan peluang untuk menemukan kandidat obat yang diinginkan. Saat ini, beberapa teknik pemodelan molekul tersedia untuk memfasilitasi tugas penemuan obat, sebagian besar diklasifikasikan ke dalam pendekatan berbasis struktur dan berbasis ligan (Luca & Giulio, 2019).

Molekuler *docking* adalah metode komputasi yang digunakan dalam memprediksi pengikatan suatu molekul calon obat dengan target proteinnya, memprediksi afinitas dan aktivitas dari suatu molekul calon obat serta melihat geometri tiga dimensi dari senyawa yang terikat pada sisi aktif protein (Pratama *et al.*, 2017). Molekuler *docking* merupakan salah satu metode *in silico* berbasis struktur yang tergolong berhasil dalam membantu memprediksi interaksi yang terjadi antara molekul dengan target. Proses ini biasanya dilakukan dengan terlebih dahulu memprediksi orientasi molekul ligan di dalam reseptor, dan kemudian memperkirakan komplementaritasnya melalui penggunaan fungsi skor (Luca & Giulio, 2019).

Terdapat dua komponen yang memengaruhi proses molekuler *docking* yaitu fungsi *scoring*. Fungsi *scoring* berhubungan dengan tingkat afinitas ikatan antara protein dengan ligan, sedangkan algoritma berhubungan dengan konformasi interaksi protein dengan ligan (Rachmania *et al.*, 2015). Berdasarkan proses molekuler *docking* menghasilkan nilai energi ikatan atau *Rerank score* yang menunjukkan jumlah energi yang dibutuhkan untuk proses *docking* antara ligan dengan reseptor. Semakin kecil nilai energi ikatan, maka semakin stabil ikatan tersebut. Dan semakin stabil ikatan ligan reseptor, maka aktivitas yang dihasilkan juga semakin besar (Azizah, 2019).

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara *in silico* pada bulan Juni-Juli 2023 di Yogyakarta.

B. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi laptop HP 32 bit yang terhubung dengan koneksi internet, *software* Pymol, *software* PyRx, *software* Discovey Studio Visualizer, website NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov), *website* pdb (www.pdb.org), *website* swissmodel (www.expasy.org).

C. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah struktur 3D senyawa Andrographolide sebagai antibakteri dan Tetrasiklin sebagai kontrol positif. Sekuen protein pili adhesin dari bakteri penyebab penyakit pneumonia yang, meliputi: sekuen protein RrgA *Streptococcus pneumoniae*, sekuen bakteri *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Klebsiella pneumoniae*.

D. Prosedur Kerja

1. Pengumpulan Data

a. Sekuen protein pili adhesin bakteri

Sekuens protein pili adhesin bakteri *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Klebsiella pneumoniae* dan sekuen gen RrgA *Streptococcus pneumoniae* diambil dari *website* NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov). Tahap pertama yaitu dengan mencari sekuen dari gen RrgA *Streptococcus pneumoniae*. Sekuen yang dihasilkan kemudian diBlastP terhadap bakteri *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumonia* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Kemudian sekuen yang dihasilkan, disimpan dalam format Fasta di notepad.

b. Persiapan Ligan

Ligan yang digunakan pada penelitian ini adalah senyawa Andrographolide. Ligan diambil dari PubChem (<https://pubchem.ncbi.nih.gov/>). Tetrasiklin merupakan antibiotik dengan spektrum luas dan digunakan sebagai kontrol positif yang dapat menghambat proses sintesis protein dan menghambat bakteri Gram positif dan negatif (Faridah *et al.*, 2022).

2. Multiple Sequences Aligment dan Konstruksi Filogenetic Tree

Data yang digunakan pada proses ini adalah data sekuen protein pili adhesin bakteri *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Streptococcus pneumoniae* dan sekuen protein RrgA *Streptococcus pneumoniae*. Multiple alignment dilakukan dengan menggunakan ClustalW pada software MEGA XI dan konstruksi *filogenetic tree* menggunakan *construct/test maximum likelihood tree* pada software MEGA XI.

3. Modeling protein

Data sekuens pemodelan struktur 3D protein pili adhesin diambil dari setiap *cluster* hasil *filogenetic tree* yang telah dibuat. Pemodelan struktur 3D dilakukan dengan menggunakan swiss-model. Tahap pertama yaitu menginput data sekuens protein. Kemudian mencari *template* yang sesuai. Selanjutnya dilakukan seleksi *template* dan pembentukan model dan diakhiri dengan estimasi kualitas model (Waterhouse *et al.*, 2018). Setelah pemodelan dari swiss-model, hasilnya dicek menggunakan software Pymol dan disimpan dalam format PDB (Karina *et al.*, 2019).

4. Molekuler Docking

Proses *Docking* dilakukan dengan mengacu pada penelitian Saputri *et al.* (2016) menggunakan software PyRx. Dimulai dengan klik *file*, *load molecule*, lalu dibuka *file* protein target. Pada molekul protein diklik kanan, *autodock*, dipilih *make macromolecule*. Selanjutnya klik *open babel* dan *insert new item* untuk menambahkan ligan. Pada judul ligan di klik dan dipilih *minimize selected*, ditunggu sampai energi

berhenti. Selanjutnya pada judul ligan diklik kanan pilih *Convert Selected to Autodock Ligand*.

Selanjutnya untuk memulai *docking* dipilih *Vina Wizard* kemudian ditambahkan ligan dan protein dengan dipilih ligan dan makromolekul pada daftar *Autodock*, selanjutnya dipilih *forward*. Selanjutnya di set *maximize* untuk *grid box* dan dipilih *forward*. Proses *docking* sedang berjalan dan ditunggu sampai hasil *docking* keluar. Hasil *docking* yang berupa data *scoring* kemudian disimpan. Interaksi antara protein dengan ligan dilihat dengan menggunakan *software* Pymol.

E. Analisis Data

Data homologi sekuen protein pili dari bakteri *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Klebsiella pneumonia* dan data hasil analisis interaksi protein pili dengan senyawa Andrographolide dan tetrasiklin ini dianalisis secara deskriptif.



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Pengumpulan Data

Pencarian data sekuens protein pili adhesin pada bakteri *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae* dan *Pseudomonas aeruginosa* digunakan sebagai bahan untuk proses *Multiple Alignment* dan Konstruksi *Filogenetic Tree*. Pencarian data sekuens menggunakan database protein yang terdapat pada website NCBI.

Pemilihan sekuen protein dilakukan dengan menggunakan protein RrgA pada bakteri *Streptococcus pneumoniae* dengan kode akses WP_281058159.1. Penggunaan protein RrgA mengacu pada penelitian Lovino *et al.* (2020) yang menunjukkan bahwa RrgA memiliki peran penting dalam virulensi dan kolonisasi pada pneumokokus. Kemudian diperkuat dengan penelitian Orrskog *et al.* (2012) bahwa RrgA berinteraksi dengan reseptor *complement 3* (CR3) pada *Streptococcus pneumoniae* yang menghasilkan stimulasi pneumokokus pada motilitas makrofag. Penggunaan protein RrgA dilakukan dengan harapan dapat mengidentifikasi sekuen yang homolog.

Sekuen protein RrgA tersebut kemudian di*BlastP* terhadap bakteri *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Penggunaan *BlastP* pada penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi sekuen protein dari ketiga bakteri patogen tersebut. Fungsi *blastP* yaitu dapat membandingkan suatu sekuen asam amino yang menyusun protein yang ingin diamati dengan *database* (Akinola *et al.*, 2019).

a

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
LPGTG cell wall anchor domain-containing protein [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	244	244	100%	2e-83	100.00%	123	MBG5844569.1
hypothetical protein [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	165	165	98%	7e-51	63.64%	213	MBI8803901.1
prealbumin-like fold domain-containing protein [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	56.2	56.2	79%	4e-09	36.70%	121	WP_166382958.1
LPGTG cell wall anchor domain-containing protein [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	37.7	37.7	35%	0.020	41.30%	83	MBW6194774.1

b

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
SpaA isopeptide-forming pilin-related protein [Klebsiella pneumoniae]	Klebsiella pneumoniae	231	231	12%	5e-70	100.00%	109	WP_253900340.1
SpaA isopeptide-forming pilin-related protein [Klebsiella pneumoniae]	Klebsiella pneumoniae	46.6	46.6	7%	0.006	38.24%	533	MCY0529820.1

c

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
PI-1 pilus tip adhesin RrgA [Streptococcus pneumoniae]	Streptococcus pneumoniae	1825	1825	100%	0.0	100.00%	886	WP_281058159.1
cell wall surface anchor family protein [Streptococcus pneumoniae]	Streptococcus pneumoniae	1823	1823	100%	0.0	99.77%	886	VXG98456.1
PI-1 pilus tip adhesin RrgA [Streptococcus pneumoniae]	Streptococcus pneumoniae	1823	1823	100%	0.0	99.89%	886	WP_000757843.1
cell wall surface anchor family protein [Streptococcus pneumoniae]	Streptococcus pneumoniae	1823	1823	100%	0.0	99.77%	886	VOK13197.1
PI-1 pilus tip adhesin RrgA [Streptococcus pneumoniae]	Streptococcus pneumoniae	1823	1823	100%	0.0	99.77%	886	WP_140223005.1
cell wall surface anchor family protein [Streptococcus pneumoniae]	Streptococcus pneumoniae	1823	1823	100%	0.0	99.77%	886	WP_088795383.1
cell wall surface anchor family protein [Streptococcus pneumoniae]	Streptococcus pneumoniae	1822	1822	100%	0.0	99.77%	886	VIR98326.1
PI-1 pilus tip adhesin RrgA [Streptococcus pneumoniae]	Streptococcus pneumoniae	1822	1822	100%	0.0	99.77%	886	VIU80673.1
cell wall surface anchor family protein [Streptococcus pneumoniae]	Streptococcus pneumoniae	1822	1822	100%	0.0	99.77%	886	WP_069289117.1
PI-1 pilus tip adhesin RrgA [Streptococcus pneumoniae]	Streptococcus pneumoniae	1822	1822	100%	0.0	99.77%	886	WP_084354610.1
cell wall surface anchor family protein [Streptococcus pneumoniae]	Streptococcus pneumoniae	1822	1822	100%	0.0	99.77%	886	VLM21009.1
PI-1 pilus tip adhesin RrgA [Streptococcus pneumoniae]	Streptococcus pneumoniae	1822	1822	100%	0.0	99.77%	886	VSC09121.1
cell wall surface anchor family protein [Streptococcus pneumoniae]	Streptococcus pneumoniae	1821	1821	100%	0.0	99.77%	886	WP_050072817.1
cell wall surface anchor family protein [Streptococcus pneumoniae]	Streptococcus pneumoniae	1821	1821	100%	0.0	99.77%	886	VJG21559.1
PI-1 pilus tip adhesin RrgA [Streptococcus pneumoniae]	Streptococcus pneumoniae	1821	1821	100%	0.0	99.77%	886	VPL93735.1
cell wall surface anchor family protein [Streptococcus pneumoniae]	Streptococcus pneumoniae	1821	1821	100%	0.0	99.77%	886	WP_083987354.1
cell wall surface anchor family protein [Streptococcus pneumoniae]	Streptococcus pneumoniae	1821	1821	100%	0.0	99.77%	886	VPY79228.1
PI-1 pilus tip adhesin RrgA [Streptococcus pneumoniae]	Streptococcus pneumoniae	1821	1821	100%	0.0	99.77%	886	WP_130886429.1
cell wall surface anchor family protein [Streptococcus pneumoniae]	Streptococcus pneumoniae	1821	1821	100%	0.0	99.77%	886	VIMN666.1

Gambar 1. Hasil BlastP Protein RrgA Streptococcus pneumoniae dengan bakteri patogen. a. protein RrgA Streptococcus pneumoniae terhadap Pseudomonas aeruginosa. b. protein RrgA Streptococcus pneumoniae terhadap Klebsiella pneumonia. c. protein RrgA Streptococcus pneumoniae terhadap Streptococcus pneumonia

Data sekuens yang diperoleh kemudian disimpan dalam format Fasta. Format Fasta merupakan format berbasis teks untuk mewakili sekuen nukleotida atau sekuen protein, yang mana pasangan basa atau asam amino yang diwakili dengan

menggunakan kode huruf tunggal. Penamaan dan penjelasan dibedakan dari sekuen yang terletak pada baris pertama yang didahului dengan simbol “>” (Suyono, 2010). Pertimbangan pada analisis *BlastP* yaitu dengan melihat *expected value* (*E-Value*). Jika *e-value* lebih rendah, maka menunjukkan keselarasan yang lebih signifikan dan jika hasil persentasi semakin mendekati 100% maka akan semakin akurat hasilnya (Anwar *et al.*, 2022). Kemudian nilai *bit score* yang menunjukkan seberapa baik keselarasan sekuen tersebut, semakin tinggi nilai *bit score* maka semakin baik pula keselarannya (Samal *et al.*, 2021).

Berdasarkan data sekuens *Pseudomonas aeruginosa* yang dihasilkan menunjukkan keselarasan yang rendah. Ditunjukkan pada nilai persentasi *identity* rata-rata kurang dari 100%, hanya pada sekuen dengan kode akses MBG5844569.1 yang memiliki nilai persentasi *identity* 100%. *E-value* yang tinggi juga menunjukkan keselarasan yang rendah dan nilai *bit score* yang tidak menjangkau seluruh urutan pada sekuen *query*.

Hasil *blastP* pada bakteri *Klebsiella pneumonia* meskipun nilai persentasi *identity* 100% namun *e-value* menunjukkan nilai besar yakni $4e-76$, yang berarti tingkat keselarasan dengan sekuen *query* rendah. Sekuen MCY0529820.1 menunjukkan tingkat keselarasan yang sangat rendah karena hanya memiliki nilai persentasi sebesar 38,24%. Sementara hasil *blastP* pada bakteri *Streptococcus pneumonia* menunjukkan tingkat keselarasan yang cukup tinggi. Ditunjukkan dengan hasil persentasi *identity* 100% dan *e-value* 0,0. Rendahnya keselarasan sekuen protein pili adhesin pada bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan sekuen *query* diduga karena adanya perbedaan gen yang dimiliki oleh masing-masing bakteri tersebut.

B. Multiple Sequences Alignment

Sekuens protein pili adhesin yang telah didapatkan tersebut dilakukan penyejajaran (*Multiple Alignment*) dengan menggunakan *software* MEGA XI. *Multiple Alignment Sequences* merupakan metode penyejajaran dua atau lebih sekuen

Metode ini digunakan untuk mempelajari evolusi sekuen dari leluhur yang sama (*common ancestor*). Ketidakcocokan (*mismatch*) dalam *alignment* diasosiasikan dengan proses mutasi, sedangkan kesenjangan (*gap*, tanda "-") diasosiasikan dengan proses penyisipan (insersi) atau penghapusan (delesi) (Suyono, 2010).



Berdasarkan Gambar 2 dapat dilihat bahwa penjajaran sekuen akan menunjukkan posisi sekuen yang tidak berubah atau disebut dengan *conserved*. Posisi sekuen yang berbeda dari *common ancestor* disebut *divergen*. *Multiple sequence alignment* dilakukan dengan menggunakan program ClustalW pada *software* MEGA XI. Program ClustalW paling banyak digunakan untuk penjajaran sekuen karena dapat menjajarkan beberapa sekuen sekaligus (Sari *et al.*, 2022).

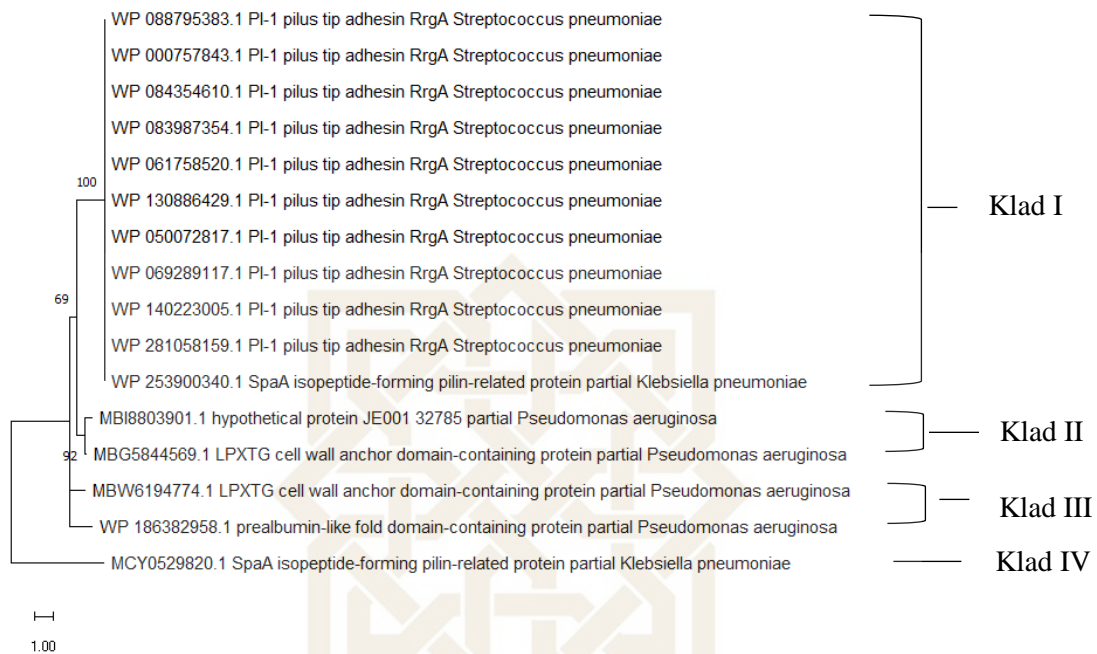
Tabel 1. Hasil persentasi *identity matrix* menggunakan Clustal Omega

		Isolat Bakteri															
1:	MCY0529820.1	100.00	19.37	19.37	19.37	19.37	19.37	19.37	19.37	19.59	19.37	16.67	19.37	14.52	23.00	28.43	20.56
2:	WP_061758520.1	19.37	100.00	99.77	99.77	99.77	99.77	99.77	99.77	99.77	99.89	100.00	99.77	22.54	20.18	26.96	24.02
3:	WP_130886429.1	19.37	99.77	100.00	99.77	99.77	99.77	99.77	99.77	99.77	99.89	100.00	99.77	22.54	20.18	26.96	24.02
4:	WP_083987354.1	19.37	99.77	99.77	100.00	99.77	99.77	99.77	99.77	99.77	99.89	100.00	99.77	22.54	20.18	26.96	24.02
5:	WP_050072817.1	19.37	99.77	99.77	99.77	100.00	99.77	99.77	99.77	99.77	99.89	100.00	99.77	22.54	20.18	26.96	24.02
6:	WP_084354610.1	19.37	99.77	99.77	99.77	99.77	100.00	99.77	99.77	99.77	99.89	100.00	99.77	22.54	20.18	26.96	24.02
7:	WP_069289117.1	19.37	99.77	99.77	99.77	99.77	99.77	100.00	99.77	99.77	99.89	100.00	99.77	22.54	20.18	26.96	24.02
8:	WP_088795383.1	19.37	99.77	99.77	99.77	99.77	99.77	99.77	100.00	99.77	99.89	100.00	99.77	22.54	20.18	26.96	24.02
9:	WP_140223005.1	19.59	99.77	99.77	99.77	99.77	99.77	99.77	99.77	100.00	99.89	100.00	99.77	22.54	20.18	26.96	24.02
10:	WP_000757843.1	19.37	99.89	99.89	99.89	99.89	99.89	99.89	99.89	99.89	100.00	100.00	99.89	22.54	20.18	26.96	24.02
11:	WP_253900340.1	16.67	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	22.06	20.75	29.41	23.53
12:	WP_281058159.1	19.37	99.77	99.77	99.77	99.77	99.77	99.77	99.77	99.77	99.89	100.00	100.00	22.54	20.18	26.96	24.02
13:	MBW6194774.1	14.52	22.54	22.54	22.54	22.54	22.54	22.54	22.54	22.54	22.54	22.06	22.54	100.00	26.83	23.68	23.68
14:	WP_186382958.1	23.00	20.18	20.18	20.18	20.18	20.18	20.18	20.18	20.18	20.18	20.75	20.18	26.83	100.00	34.55	30.00
15:	MBG5844569.1	28.43	26.96	26.96	26.96	26.96	26.96	26.96	26.96	26.96	29.41	26.96	23.68	34.55	100.00	62.60	62.60
16:	MBI8803901.1	20.56	24.02	24.02	24.02	24.02	24.02	24.02	24.02	24.02	23.53	24.02	23.68	30.00	62.60	100.00	100.00

Berdasarkan tabel 1 menunjukkan similaritas antar spesies dari bakteri patogen yang diteliti. Sekuen pili adhesin nomor 11 dimiliki oleh bakteri *Klebsiella pneumoniae* WP_253900340.1 memiliki similaritas tinggi dengan 11 spesies yang lain, yaitu bakteri *Streptococcus pneumoniae*. Ditunjukkan dengan persentase *identity* 100%. Similaritas yang tinggi ada kemungkinan memiliki fungsi dan struktur yang mirip.

C. Phylogenetic Tree

Analisis filogenetik merupakan salah satu metode yang umum digunakan untuk mengetahui keanekaragaman suatu organisme melalui rekonstruksi hubungan kekerabatan. Analisis filogenetik memberikan informasi proses evolusi yang dialami suatu organisme yang direpresentasikan dalam sebuah *phylogenetic tree* (Oktafia & Badruzsaufari, 2021). Konstruksi *phylogenetic tree* dilakukan menggunakan *software* MEGA XI dengan metode *maximum likelihood*. *Maximum likelihood* merupakan metode yang digunakan untuk menganalisis suatu gen atau protein untuk menemukan nilai kemiripan terbesar dari sebuah pohon. Parameter yang digunakan dalam metode ini yaitu menggunakan panjang cabang. Pendekatan *maximum likelihood* digunakan untuk mengetahui evolusi yang lebih kompleks (Amiroch *et al.*, 2018).



Gambar 3. Hasil konstruksi filogenetic tree menggunakan construct/test maximum likelihood tree pada MEGA XI

Berdasarkan Gambar 3 hasil konstruksi *filogenetic tree* menunjukkan bahwa hubungan kekerabatan terbagi atas 4 klad. Klad 1 terdiri atas 11 spesies, diantaranya spesies bakteri *Streptococcus pneumoniae* gen RrgA dan *Klebsiella pneumoniae* gen SpaA. Klad II terdiri atas spesies bakteri *Pseudomonas aeruginosa* MBI8803901.1 dan MBG5844569.1. Klad III terdiri atas spesies bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan kode akses MBG5844569.1 dan MBW6194774.1. Sedangkan pada Klad IV terdapat spesies bakteri *Klebsiella pneumoniae* dengan kode akses MCY0529820.1. Berdasarkan similaritas pada sekuen menunjukkan adanya indikasi kemiripan struktur dan fungsi protein. Perbedaan pada sekuens dapat menunjukkan adanya perbedaan struktur dan fungsi protein.

Menurut Hidayat dan Adi (2008), sebuah kelompok organisme yang anggotanya memiliki kesamaan karakter atau ciri dianggap memiliki hubungan yang sangat dekat dan diperkirakan diturunkan dari satu nenek moyang. Kemudian diasumsikan membawa sifat atau pola genetik dan biokimia yang sama. *Filogenetic tree* pada

penelitian ini diuji secara statistik menggunakan metode *bootstrap* sebanyak 500 ulangan. Nilai *bootstrap* ditunjukkan pada angka yang terletak pada cabang-cabang pohon filogenetik (gambar 3). Nilai tersebut memperlihatkan tingginya akurasi percabangan yang terbentuk (Oktafia & Badruzsaufari, 2021). Nilai *bootstrap* sebanyak 100 hingga 1000 ulangan digunakan untuk memperkirakan tingkat kepercayaan sebuah pohon filogenetik. Semakin besar nilai *bootstrap* maka semakin tinggi kepercayaan topologi pohon hasil rekonstruksi (Pangestika *et al.*, 2015). Nilai *bootstrap* dinilai tinggi karena suatu klad dapat dipercaya dengan nilai *bootstrap* 90% dan tidak dipercaya dengan nilai *bootstrap* 25% (Oktafia & Badruzsaufari, 2021). Berdasarkan hasil penelitian ini menunjukkan seluruh klad memiliki nilai *bootstrap* di atas 25% yang artinya dapat dipercaya bahwa spesies-spesies tersebut berada pada satu nenek moyang.

Analisis metode *maximum likelihood* merekonstruksi kekerabatan antar spesies berdasarkan panjang garis cabang. Panjang garis yang berbeda menunjukkan tingkat evolusi dari masing-masing spesies. Garis yang semakin panjang menunjukkan jarak evolusi yang semakin jauh sedangkan semakin pendek garis menunjukkan dekatnya jarak evolusi suatu spesies (Fietri *et al.*, 2021). Garis yang dihasilkan menunjukkan spesies *Klebsiella pneumoniae* dengan kode akses MCY0529820.1 memiliki garis evolusi terpanjang yang dapat dianggap paling jauh dengan moyang dari spesies lain yang dianalisis (Gambar 3). *Filogenetic tree* yang menunjukkan spesies bakteri *Klebsiella pneumoniae* MCY0529820.1 tidak berada dalam satu cabang dengan bakteri yang lain. Hal ini disebabkan karena adanya *gap* (ditandai oleh garis putus-putus) pada hasil *alignment*.

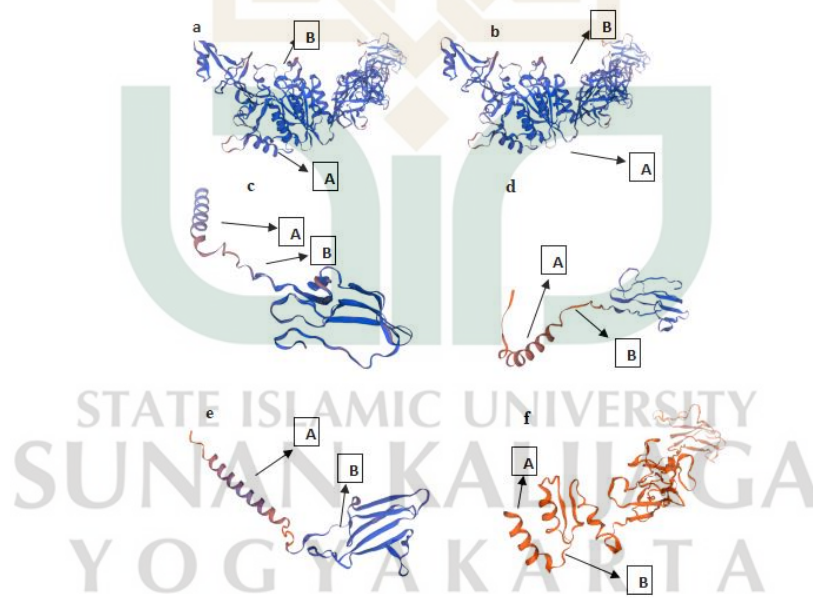
D. Pemodelan Struktur 3D

Pemodelan struktur 3D dilakukan dengan menggunakan *server* Swiss-model (<http://swissmodel.expasy.org>). Sekuen yang dibuat pemodelan struktur 3D pada tahap ini diambil dari setiap *cluster* hasil *filogenetic tree* dan sekuen gen RrgA *Streptococcus pneumoniae* WP_281058159.1 sebagai pembanding. Sekuen yang digunakan

pemodelan struktur 3D meliputi sekuen bakteri *Streptococcus pneumoniae* WP_000757843.1, *Klebsiella pneumoniae* WP_253900340.1 dan MCY0529820.1, *Pseudomonas aeruginosa* MBG5844569.1 dan WP_186382958.1.

Besarnya nilai *identity* menggambarkan tingkat kemiripan antara protein target dengan *template* (Suprianto & Budiarsa, 2021). Hasil identifikasi protein RrgA menunjukkan bahwa *template* dengan PDB-ID 2ww8.1.A adalah *template* yang digunakan dalam membangun struktur model, karena memiliki nilai *identity* tertinggi yaitu sebesar 99,55% dari 50 *template* yang teridentifikasi. Nilai *identity* yang diperoleh dari identifikasi *template* akan membantu dalam memperoleh akurasi model yang sebenarnya (Suprianto & Budiarsa, 2021).

Hasil penelitian menunjukkan struktur 3D protein bakteri patogen penyebab pneumonia memiliki daerah struktur *alpha helix* dan *beta sheet* (Gambar 4).



Gambar 4. Desain struktur 3D protein menggunakan Swiss-model, a. RrgA *Streptococcus pneumoniae*, b. *Streptococcus pneumoniae* WP_000757843.1, c. *Klebsiella pneumoniae* WP_253900340.1, d. *Pseudomonas aeruginosa* MBG5844569.1, e. *Pseudomonas aeruginosa* WP_186382958.1, f. *Klebsiella pneumoniae* MCY0529820.1. Keterangan: Struktur Alpha Helix (A) dan Beta Sheet (B)

Perbedaan struktur *alpha helix* dan *beta sheet* dalam struktur protein dipengaruhi oleh rantai samping asam amino penyusunnya. *Alpha helix* merupakan struktur yang

terbentuk helikal atau biasa disebut spiral. Setiap kelompok karboksil dan kelompok amina saling terkait dengan ikatan hidrogen yang menyebabkan pembentukan spiral. Sedangkan *beta sheet* merupakan rantai polipeptida yang terlipat secara terbalik pada setiap sisinya sehingga membentuk struktur seperti lembaran (Suprianto & Budiarsa, 2021).

Hasil konstruksi struktur 3D (Gambar 4) menunjukkan adanya kesamaan antara struktur gen RrgA dengan bakteri *Streptococcus pneumoniae*. Hal itu kemungkinan terjadi karena tingkat kedekatan evolusi dan memiliki sifat yang sama. Sedangkan pada struktur c,d, e dan f meskipun hampir memiliki kesamaan struktur, namun terdapat perbedaan yang signifikan dengan struktur 3D dari gen RrgA (Gambar 4a). Perbedaan sifat dan tingkat kedekatan evolusi yang rendah diduga menjadi penyebabnya. Berdasarkan struktur 3D yang dihasilkan pada Gambar 4 berwarna ungu yang menunjukkan asam amino tersebut mempunyai kualitas tinggi, warna kuning menunjukkan asam amino yang memiliki kualitas sedang dan warna merah serta merah keunguan menunjukkan kualitas asam amino yang rendah (Suprianto *et al.*, 2020).

Setelah didapatkan struktur 3D protein kemudian dilakukan evaluasi model dengan menggunakan Swiss-model. Nilai persentase sekuen *identity* antara target dan *template* adalah penilaian pertama terhadap kualitas model. Semakin besar nilai % sekuen *identity* maka model yang dibuat semakin mendekati yang sebenarnya (Wijaya & Hasanah, 2016). Berdasarkan hasil penelitian, hanya bakteri *Klebsiella pneumoniae* dengan kode akses MCY0529820.1 yang memiliki persentase sekuen *identity* yang rendah yaitu 14,95%. Hal itu menunjukkan bahwa model yang telah dibuat masih sangat jauh dengan model model yang sebenarnya.

Tabel 2. Hasil evaluasi model menggunakan Swiss-model

Evaluasi Model					
Nama Gen dan Spesies	Kode Akses	PDB-ID Template	Seq Identity	QMEAN	GMQE
Gen RrgA	WP_274044270.1	2ww8.1.A	99,55%	0,42	0,87
<i>Streptococcus pneumoniae</i> gen RrgA	WP_000757843.1	2ww8.1.A	99,77%	0,41	0,86
<i>Klebsiella pneumoniae</i> gen SpaA	WP_253900340.1	2ww8.1.A	100,00%	0,41	0,71
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> gen LPXTG	MBG5844569.1	A0A6B1XGH0.1.A	100,00%	-	0,76
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> LPXTG	WP_186382958.1	A0A1K2HFF7.1.A	95,87%	-	0,78
<i>Klebsiella pneumoniae</i> SpaA	MCY0529820.1	2ww8.1.A	14,95%	-7,47	0,18

Nilai *Quality Model Energy Analysis* (QMEAN) dan *Global Model Quality Estimation* (GMQE) digunakan untuk menunjukkan kualitas struktur protein yang telah dibuat. Nilai QMEAN digunakan untuk memperkirakan kualitas model sedangkan nilai GMQE menandakan kecocokan antara residu struktur target dan *template* atau mencerminkan ekspektasi akurasi model (Suprianto & Budiarsa, 2021).

Model struktur 3D gen RrgA memiliki nilai QMEAN 0,42, *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae* WP_253900340.1 memiliki nilai QMEAN 0,41, *Klebsiella pneumoniae* MCY0529820.1 memiliki nilai QMEAN -7,47. Sedangkan *Pseudomonas aeruginosa* tidak memiliki nilai QMEAN. Nilai QMEAN di bawah -4 merupakan batas toleransi kualitas model (Seprianto, 2018). Hal itu menunjukkan model pada struktur 3D bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Klebsiella*

pneumoniae MCY0529820.1 memiliki kualitas struktur yang rendah. Sedangkan nilai GMQE hasil penelitian menunjukkan kualitas yang baik namun pada *Klebsiella pneumoniae* MCY0529820.1 memiliki nilai GMQE 0,18 yang berarti kualitas model tersebut rendah. Karena nilai GMQE antara 0,6-1 adalah batas toleransi kualitas model (Seprianto, 2018).

E. Molecular Docking

Molecular docking adalah prosedur komputasi yang dapat digunakan untuk memprediksi ikatan kimia dari makromolekul (reseptor) dengan molekul kecil (ligan) secara efisien menggunakan strukturnya. Pemanfaatan *molecular docking* memungkinkan dalam meminimalisir biaya dan meningkatkan peluang secara efisien untuk menemukan kandidat obat baru yang diinginkan (Frimayanti *et al.*, 2021).

Penelitian ini menggunakan beberapa bakteri patogen penyebab pneumonia sebagai reseptor dan Andrographolide sebagai ligan. Andrographolide merupakan komponen utama yang dimiliki oleh *Andrographis paniculata* (Sambiloto). Penelitian Jayakumar *et al.* (2013) menyampaikan bahwa *Andrographis paniculata* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Streptococcus pneumoniae*. Sikumalay *et al.* (2016) juga menjelaskan bahwa andrographolide merupakan senyawa antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae*.

Penelitian ini juga menggunakan Tetrasiklin sebagai kontrol positif. Antibiotik Tetrasiklin digunakan sebagai kontrol positif karena memiliki spectrum yang luas dan dapat menghambat proses sintesis protein dan menghambat bakteri Gram positif dan negatif (Faridah *et al.*, 2022).

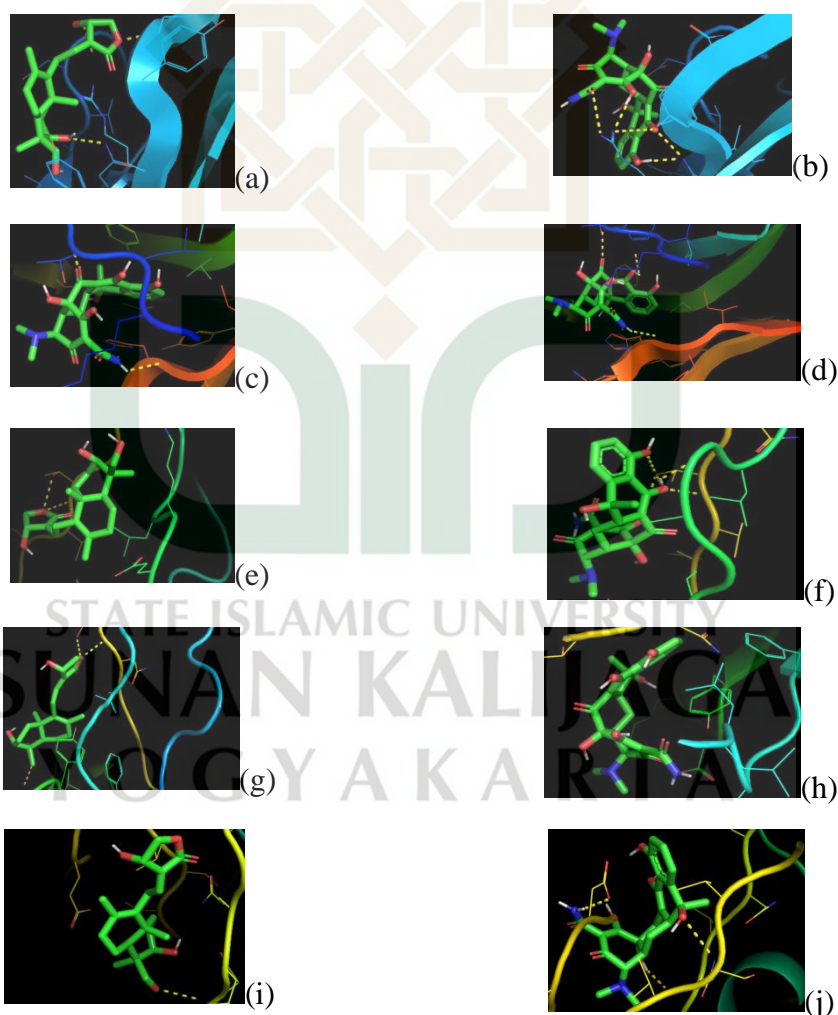
Tabel 3. Hasil nilai Binding Affinity Docking bakteri patogen dengan ligan (Andrographolide) dan kontrol (Tetrasiklin)

Bakteri	Binding Affinity (kcal/mol)	
	Ligan (Andrographolide)	Kontrol (Tetrasiklin)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-5,9	-6,2
<i>Klebsiella pneumoniae</i> WP_253900340.1	-7,9	-7,8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> MBG5844569.1	-5,8	-6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> WP_186382958.1	-6,2	-5,6
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MCY0529820.1	-6,4	-6,5

Parameter hasil yang digunakan dalam melakukan *molecular docking* adalah nilai *binding affinity*. Semakin rendah nilai *binding affinity*, maka ikatan kompleks senyawa dengan reseptor akan semakin kuat karena terjadi kestabilan (Prasetyawati *et al*, 2021). Berdasarkan penelitian, interaksi senyawa andrographolide dengan *Klebsiella pneumoniae* memiliki nilai *binding affinity* sebesar -7,9. Sedangkan interaksi *Klebsiella pneumoniae* WP_253900340.1 memiliki nilai *binding affinity* -7,8. Hasil tersebut menunjukkan interaksi ligan dengan *Klebsiella pneumoniae* WP_253900340.1 memiliki aktifitas yang lebih baik dibandingkan dengan yang lain. Karena *Klebsiella pneumoniae* WP_253900340.1 memiliki nilai *binding affinity* yang lebih kecil. Hal itu berarti ligan andrographolide dapat mengikat pili adhesin dan dapat dijadikan sebagai antibiotik alami untuk menonaktifkan bakteri penyebab pneumonia.

Gambar 5 menunjukkan (a) *Streptococcus pneumoniae* dengan andrographolide, (b) *Streptococcus pneumoniae* dengan kontrol, (c) *Klebsiella pneumoniae* WP_253900340.1 dengan andrographolide, (d) *Klebsiella pneumoniae* WP_253900340.1 dengan kontrol, (e) *Pseudomonas aeruginosa* MBG5844569.1 dengan andrographolide, (f) *Pseudomonas aeruginosa* MBG5844569.1 dengan

kontrol, (g) *Pseudomonas aeruginosa* WP_186382958.1 dengan andrographolide, (h) *Pseudomonas aeruginosa* WP_186382958.1 dengan kontrol, (i) *Klebsiella pneumoniae* MCY0529820.1 dengan andrographolide, (j) *Klebsiella pneumoniae* MCY0529820.1 dengan kontrol. Sisi aktif reseptor yang berpasangan dengan sisi aktif ligan terikat dengan asam amino (Gambar 5). Sedangkan ikatan reseptor dengan ligan dihubungkan oleh adanya ikatan hidrogen yang ditunjukkan dengan garis kuning putus-putus (Gambar 5). Ikatan sisi aktif reseptor dengan ligan dapat dilihat dengan terbentuknya ikatan hidrogen.



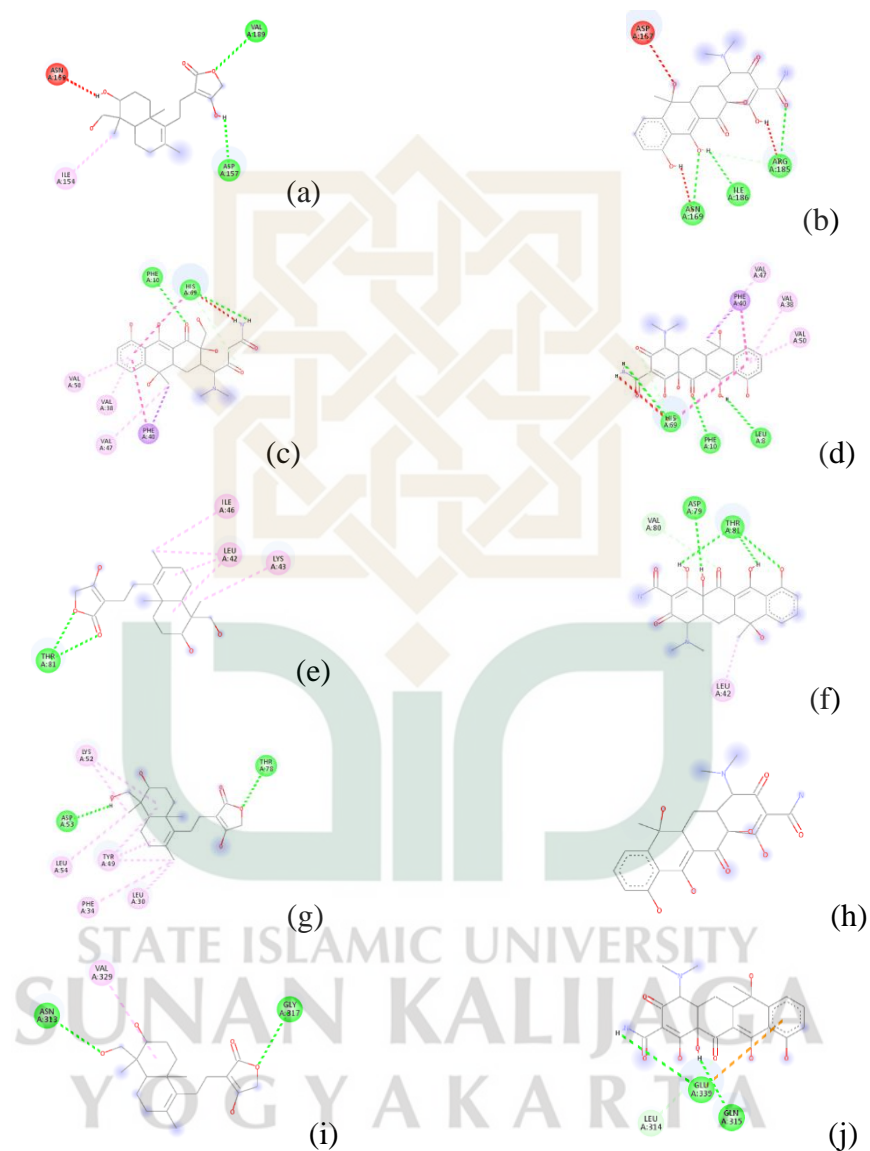
Gambar 5. Visualisasi hasil Docking bakteri patogen dengan ligan Andrographolide dan tetrasiklin sebagai kontrol

Pasangan sisi aktif reseptor *Streptococcus pneumoniae* dengan ligan andrographolide (Gambar 6a) diikat oleh asam amino Asn169, Val189, Ile154 dan Asp157. Pasangan sisi aktif reseptor *Klebsiella pneumoniae* WP_253900340.1 dengan ligan andrographolide (Gambar 6c) diikat oleh asam amino Phe10, His09, Val50, Val38, Val47 dan Phe40. Pasangan sisi aktif reseptor *Pseudomonas aeruginosa* MBG5844569.1 dengan ligan andrographolide (Gambar 6e) diikat oleh asam amino Ile46, Leu42, Lys43 dan Thr81. Pasangan sisi aktif reseptor *Pseudomonas aeruginosa* WP_186382958.1 dengan ligan andrographolide (Gambar 6g) diikat oleh asam amino Lys52, Thr78, Asp53, Leu54, Tyr49, Phe34 dan Leu30. Pasangan sisi aktif reseptor *Klebsiella pneumoniae* MCY0529820.1 dengan ligan andrographolide (Gambar 6i) diikat oleh asam amino Asn313, Val329 dan Gly317.

Gambar 6 menunjukkan (a) *Streptococcus pneumoniae* dengan andrographolide, (b) *Streptococcus pneumoniae* dengan kontrol, (c) *Klebsiella pneumoniae* WP_253900340.1 dengan andrographolide, (d) *Klebsiella pneumoniae* WP_000757843.1 dengan kontrol, (e) *Pseudomonas aeruginosa* MBG5844569.1 dengan andrographolide, (f) *Pseudomonas aeruginosa* MBG5844569.1 dengan kontrol, (g) *Pseudomonas aeruginosa* WP_186382958.1 dengan andrographolide, (h) *Pseudomonas aeruginosa* WP_186382958.1 dengan kontrol, (i) *Klebsiella pneumoniae* MCY0529820.1 dengan andrographolide, (j) *Klebsiella pneumoniae* MCY0529820.1 dengan kontrol.

Gambar 6B menunjukkan pasangan sisi aktif reseptor *Streptococcus pneumoniae* dengan ligan kontrol tetrasiklin diikat oleh asam amino Asp157, Asn169, Ile186 dan Arg185. Gambar 6D menunjukkan pasangan sisi aktif reseptor *Klebsiella pneumoniae* WP_253900340.1 dengan ligan kontrol tetrasiklin diikat oleh asam amino His69, Phe10, Leu8, Val50, Val38, Phe40 dan Val47. Gambar 6F menunjukkan pasangan sisi aktif reseptor *Pseudomonas aeruginosa* MBG5844569.1 dengan ligan kontrol tetrasiklin diikat oleh asam amino Val80, Asp79, Thr81 dan Leu42. Gambar 6H tidak menunjukkan asam amino yang mengikat pasangan sisi aktif reseptor *Pseudomonas aeruginosa* WP_186382958.1 dengan ligan kontrol tetrasiklin. Gambar

6J menunjukkan pasangan sisi aktif reseptor *Klebsiella pneumoniae* MCY0529820.1 dengan ligan kontrol tetrasiklin diikat oleh asam amino Leu314, Gln315 dan Glu339.



Gambar 6. Visualisasi 2D hasil Docking bakteri patogen dengan ligan

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Hasil dari penelitian ini dapat diambil beberapa kesimpulan, yaitu:

1. Isolat bakteri *Klebsiella pneumoniae* WP_253900340.1 yang memiliki similaritas tinggi dengan 11 isolat bakteri lain, yaitu *Streptococcus pneumoniae*.
2. Nilai *binding affinity* interaksi dengan ligan andrographolide dengan *Klebsiella pneumoniae* WP_253900340.1 lebih tinggi dibandingkan yang lain yaitu -7,9 dan -7,8 interaksi dengan ligan kontrol tetrasiklin. Pili adhesin pada bakteri patogen yang diteliti terutama merupakan protein target yang dapat dijadikan sebagai target antibiotik.

B. Saran

Dari penelitian ini diketahui protein pili adhesin dapat dijadikan sebagai target obat antibiotik, tetapi perlu dilakukan uji antigenisitas untuk mengetahui secara jelas bagian-bagian dari sekuen protein yang memiliki kemampuan tinggi untuk menginduksi respon imun. Analisis antigenisitas lebih lanjut dapat dilakukan salah satunya dengan menggunakan software CLC Main Workbench5. Pemanfaatan daun sambiloto yang mengandung senyawa andrographolide dapat digunakan sebagai upaya mencegah terjadinya infeksi bakteri pneumonia. Namun perlu dikaji lebih lanjut efektifitas efek samping dan dosis optimal dari pemanfaatan senyawa andrographolide untuk pencegahan pneumonia.

DAFTAR PUSTAKA

- Alvarez Martinez FJ, Barrajon Catal E, Herranz Lopez M, Micol V. (2021). Antibacterial plant compounds, extracts and essential oils: An updated review on their effects and putative mechanisms of action. *Phytomedicine*, 90, 153-626.
- Andri AP, Yusnita R, Asnah M. (2017). *Docking* Molekuler Senyawa 5,5'-Dibromometilsesamin. *Majalah Farmasi Dan Farmakologi*, 21(3), 67-69.
- Anwar M, Nurjanah S, Winiati dan Rahayu. (2022). Aplikasi *Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)* NCBI pada Penelitian Molekuler *Salmonella* spp. *Jurnal Ilmiah Indonesia*, 7 (11).
- Amiroch S, Pradana MS, Irawan MI, Mukhlas I. (2018). Maximum Likelihood Method on The Construction of Phylogenetic Tree for Identification the Spreading of SARS Epidemic. *International Symposium on Advanced Intelligent Informatics (SAIN)*, 9 (3).
- Azizah AA. (2019). Analisis In Silico Mutasi S394T Gen araA dari *Lactobacillus fermentum* Penyandi Enzim L-Arabinosa Isomerase. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga.
- Brooks LRK, Mias GI. (2018). *Streptococcus pneumoniae's* Virulence and Host Immunity: Aging, Diagnostics, and Prevention. *Front Immunol*. 22 (9), 1366.
- Callistania C, Indrawati W. (2014). *Kapita Selekta Kedokteran*, 4th Ed. Jakarta: Media Aesculapius.
- Carroll KC, Morse SA, Mietzner T, Miller S, Jawetz, Melnick and Adelberg's. (2017). *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi 27. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran.
- Dahlan Z, Setiati S, Alwi I, Sudoyo AW, Simadibrata M, Setyohadi B, Syam AF. (2014). *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. 6th ed. Jakarta: Pusat Penerbitan Ilmu Penyakit Dalam.
- Dita, RF, Agustina D, Rachmawati DA, Suswati E Mufida DC Shodikin MA. (2019). Peran Protein Pili 38,6 kDa *Klebsiella pneumoniae* sebagai Protein Hemagglutinin dan Adhesin yang Berfungsi sebagai Faktor Virulensi. *Journal of Agromedicine and Medical Sciences*, 5 (2).
- Dunn, L. (2007). Pneumonia : Classification, Diagnosis and Nursing Management. *Royal Collage of Nursing Standard Great Britain*, 19 (42), 50-54.
- Faridah, Afghani Jayuska, Puji Ardiningsih. (2022). Aktivitas Antibakteri Isolat Jamur Endofit Dari Daun Insulin (*Smallanthus Sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robb) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* dan *Staphylococcus Aureus*. *Pharmacon– Program Studi Farmasi, Fmipa, Universitas Sam Ratulangi*, 11 (2).
- Fietri WA, Razak A, Yuni A. (2021). Phylogenetic Analysis of Tuna (*Thunnus spp*) in North Maluku Waters Using COI (Cytochrome Oxidase I). *Bioma*, 6 (2), 31-39.
- Frimayanti N, Lukman A, Nathania L. (2021). Studi *Molecular Docking* Senyawa 1,5-benzothiazepine sebagai Inhibitor Dengue DEN-2 NS2B/NS3 Serine Protease. *Chempublish Journal*, 6 (1).
- Gentile MA, Melchiorre S, Emolo C, Moschioni M, Gianfaldoni C, Pancotto L, et al. (2011). Structural and functional characterization of the *Streptococcus pneumoniae* RrgB pilus backbone D1 domain. *J Biol Chem*, 22 (16), 286.
- Hancock RE, Speert DP. (2000). Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and impact on treatment. *Drug Resist Updat*, 3, 247–255.

- Hidayati, Dwi Y. N. (2011). Identifikasi Molekul Adhesi Pili *Pseudomonas Aeruginosa* Pada Human Umbilical Vein Endothelial Cells (HUVECs) Culture. *Journal of Experimental Life Science*, 1 (1).
- Huurun Iien, Lalu Zulkifli, Prapti Sedijani. (2020). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Turi (*Sesbania grandiflora* L.) Terhadap Pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae*. *Jurnal Biologi Tropis*, 20 (1), 219 – 225.
- Kurniawati LR, M Ali Sodikin, Dini Adan Kristianningrum DS. (2021). Protein Pili 96,4 Kda *Klebsiella Pneumoniae* Sebagai Protein Hemagglutinin Dan Adhesin. *Indonesian Journal for Health Science*, 5 (1).
- Luca Pinzi dan Giulio Rastelli. (2019). Molecular Docking: Shifting Paradigms in Drug Discovery. *Int J Mol Sci*, 20(18), 4331.
- Mandal. W., Dunbar & Mayon. (2008). *Penyakit infeksi*. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Mandell LA, Wunderink RG, Anzueto A, et al. (2007). Infectious Diseases Society of America/American Thoracic Society consensus guidelines on the management of community-acquired pneumonia in adults. *Clin Infect Dis*, 44 (2), S27–S72.
- Mufida Diana Chusna, Kusworini Handono, Sumarno Reto Prawiro, Sanarto Santoso. (2018). Identification of Hemagglutinin Protein from *Streptococcus pneumoniae* Pili as a Vaccine Candidate by Proteomic Analysis. *Turk J Immunol*, 6 (1), 8–15.
- Mufida, D. C., Fa'idha, A. F., & Febianti, Z. (2020). Peran Protein Hemagglutinin Pili *Streptococcus Pneumoniae* 54 Kda Sebagai Adhesin. *Journal of Health Sciences*, 13(2), 194–203.
- Mukesh B. & Rakesh K. (2011). Molecular Docking: A Review. *IJRAP*, 2 (6), 1746-1751.
- Ness S, Hilleringmann M. (2021). *Streptococcus pneumoniae* Type 1 Pilus - A Multifunctional Tool for Optimized Host Interaction. *Front Microbiol*, 9 (12), 615924.
- Oktafia RE dan Badruzsaufari. (2021). Analisis Filogenetik *Garcinia* spp. Berdasarkan Sekuens Gen rRNA. *Ziraa'ah*, 46 (2)
- Pangestika Y, Budiharjo A, Kusumaningrum HP. (2015). Analisis Filogenetik *Curcuma zedoaria* (Temu Putih) Berdasarkan Gen *Internal Transcribed Spacer* (ITS). *Jurnal Biologi*, 4 (4).
- Pratama AA, Rifai Y, dan Marzuki A. (2017). Docking Molekuler Senyawa 5,5'-Dibromometilsesamin. *Majalah Farmasi Dan Farmakologi*, 21 (3), 67-69.
- Proft T, Baker EN. (2009). Pili in Gram-negative and Gram-positive bacteria - structure, assembly and their role in disease. *Cell Mol Life Sci*, 66 (4), 613-35.
- Rachmania RA, Supandi, Larasati OA. (2015). Analisis In-Silico Senyawa Diterpenoid Lakton Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) Pada Reseptor Alpha-Glucosidase Sebagai Antidiabetes Tipe Ii. *Pharmacy: Jurnal Farmasi Indonesia (Pharmaceutical Journal Of Indonesia)*, 210-222.
- Syawalludin Romi. (2019). Kemampuan Madu Hitam Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Ilmu Kedokteran Dan Kesehatan*, 6 (4).
- Said M. (2015). *Buku Ajar Respirologi Anak, 1th Ed*. Jakarta: Ikatan Dokter Anak Indonesia.
- Saputri Alia. (2018). Analisis dan Visualisasi DNA *Multiple Sequence Alignment* Menggunakan *Dynamic Programming Needleman-Wunsch* dan *Neighbor-Joining Tree*. *Skripsi*, UIN Syarif Hidayatullah.
- Sari N, Fitri F, Nurseha T, Suliansyah I, Purwati E. (2022). Penentuan Spesies Bakteri Asam Laktat (BAL) Melalui Analisis Sekuen Gen 16S rRNA dan Pendekatan Bioinformatika. *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi Terapan*, 5 (1).

- Septiyani, Rizka Dewi. (2014). Isolasi, Identifikasi Dan Sensitivitas *Streptococcus Pneumoniae*, *Klebsiella Pneumoniae* Dan *Pseudomonas Aeruginosa* Dari Sputum Pasien Pneumonia Terhadap Antibiotik Empiris Yang Diresepkan. *Bachelor Thesis*. Universitas Muhammadiyah Purwokerto.
- Sikumalay A, Suharti N, dan Masri M. (2016). Efek Antibakteri dari Rebusan Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) dan Produk Herbal Sambiloto Terhadap *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 5 (1).
- Suaib Sri Lindawati. (2016). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis Paniculata*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli*. *Skripsi*. Universitas Negeri Gorontalo.
- Suyono, Yoyon. (2010). Penentuan Spesies Bakteri *Pseudomonas* dan Analisis *Phylogenetic Tree* Secara Bioinformatika. *Biopropal Industri*, 1 (2).
- Warditiani NK, Widjaja INK, Noviyanti NWR. (2014). Isolasi *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees menggunakan Metode Purifikasi dan Kristalisasi. *Jurnal Farmasi Udayana*, 1 (2), 2622-4607.
- Waterhouse A, Bertoni M, Bienert S, Studer G, Tauriello G, Gumienny R, Heer FT, et al. (2018). SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes. *Nucleic Acids Res*, 2 (46), W296-W303.
- Wijaya Hendra dan Hasanah Fitri. (2016). Prediksi Struktur Tiga Dimensi Protein Alergen Pangan dengan Metode Homologi Menggunakan Program Swiss-Model. *Biopropal Industri*, 7 (2), 83-94.
- World Health Organization. Pneumonia [Internet]. (2021). Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs331/en/>
- www.ncbi.nlm.nih.gov
- www.pdb.org
- Yayan J, Ghebremedhin B, Rasche K. (2015). Antibiotic Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* in Pneumonia at a Single University Hospital Center in Germany over a 10-Year Period. *PLoS One*, 10 (10), e0139836.