

Potensi Senyawa Kimia Ekstrak Etanol Kelakai (*Stenochlaena palustris*) Sebagai Antitrombotik

Indah Saputri^{1*}, Indah Setiawati², Mukarramah³, Windy Sidratul An'nisa⁴, Nor Afni Afdella⁵,
Noer Komari⁶

¹⁻⁶Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lambung Mangkurat
Banjarbaru, Kalimantan Selatan, Indonesia
nkomari@ulm.ac.id

ABSTRACT

Damage to blood vessels begins with the formation of platelet aggregation which then forms a thrombus in the artery, resulting in disruption of blood flow. Many efforts have been made to prevent platelet aggregation using herbal medicines. Kelakai is a typical Kalimantan plant thought to have antithrombotic potential. The aim of this research is to identify the potential of kelakai ethanol extract compounds as antithrombotics through *in silico* studies using virtual screening and molecular docking. The kelakai compound was obtained from GC-MS data taken from the ethanol extract of kelakai. The virtual screening results showed that the results of GC-MS analysis of ethanol extract found five compounds that had the potential to be antithrombotic. Molecular docking simulations with the antithrombin receptor protein (PDB ID: 1E04) show that the *n*-Hexadecanoic acid compound from kelakai ethanol extract has the lowest ΔG value of -8.72 kcal/mol. The *n*-Hexadecanoic acid compound from kelakai has potential as an antithrombotic.

Keywords: Antithrombin, Molecular docking, Virtual screening, Kelakai

ABSTRAK

Kerusakan pembuluh darah diawali dengan terbentuknya agregasi trombosit yang kemudian membentuk trombus pada arteri sehingga mengakibatkan terganggunya aliran darah. Usaha mencegah agregasi trombosit menggunakan obat herbal banyak dilakukan. Kelakai merupakan salah satu tanaman khas Kalimantan diduga mempunyai potensi antitrombotik. Tujuan penelitian ini untuk mengidentifikasi potensi senyawa ekstrak etanol kelakai sebagai antitrombotik melalui kajian *in silico* menggunakan *virtual screening* dan *molecular docking*. Senyawa kelakai didapat dari data GC-MS yang diambil dari ekstrak etanol kelakai. Hasil *virtual screening* menunjukkan hasil analisis GC-MS ekstrak etanol didapatkan lima senyawa yang berpotensi menjadi antitrombotik. Simulasi *molecular docking* dengan reseptor protein *antithrombin* (PDB ID: 1E04) menunjukkan senyawa asam *n*-Heksadekanoat dari ekstrak etanol kelakai mempunyai nilai ΔG paling rendah sebesar -8,72 kkal/mol. Senyawa asam *n*-Heksadekanoat kelakai berpotensi sebagai antitrombotik.

Kata kunci: Antithrombin, molecular docking, skrining virtual, kelakai

PENDAHULUAN

Kelakai (*Stenochlaena palustris*) adalah tumbuhan rawa lahan basah yang terdapat di Kalimantan Selatan yang sering digunakan untuk pengobatan tradisional dan memiliki berbagai macam manfaat. Kelakai adalah tumbuhan sejenis paku-pakuan anggota suku Blechnaceae. Tumbuhan kelakai ini banyak

dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai sayuran di berbagai daerah yang ada Kalimantan Selatan (Nurinayah *et al*, 2016). Kandungan kelakai meliputi: protein, kalsium, vitamin A, vitamin C, beta-karoten, potasium, fosfor, mangan, zat besi, tanin, flavonoid, steroid, dan alkaloid. Kelakai juga memiliki khasiat yang baik untuk kesehatan yaitu

memiliki kandungan antioksidan tinggi. Kelakai diketahui mengandung senyawa fenol dan flavonoid yang terdapat pada bagian akar tumbuhan kelakai (Fahruni *et al*, 2018)..

Kelakai merupakan tumbuhan obat sumber antioksidan yang dapat melindungi sel tubuh dari kerusakan, mencegah gangguan jantung, mencegah kanker, mengatasi insomnia, dan penambah zat darah (Rahmadahi *et al*, 2022). Kelakai yang dikonsumsi akan menambah kekuatan, bahkan juga menjadi obat alternatif untuk mengatasi demam, memulihkan badan lesu dan lemah, dan mengatasi tekanan darah rendah (Chanin *et al*, 2018). Berdasarkan Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2018 terdapat angka kejadian penyakit jantung dan pembuluh darah semakin meningkat. Setidaknya 15 dari 1000 orang di Indonesia menderita penyakit jantung. Menurut WHO, penyakit jantung dan pembuluh darah adalah penyebab kematian nomor satu secara global, diperkirakan 17,9 juta orang meninggal karena penyakit jantung dan pembuluh darah pada tahun 2016, mewakili 31% dari semua kematian global (Sawitri *et al*, 2023). Angka morbiditas dan mortalitas yang tinggi pada penyakit kardiovaskular ini memerlukan perhatian khusus melalui pengembangan terapi yang efektif. Terjadinya kerusakan pembuluh darah diawali dengan pembentukan agregasi platelet yang kemudian membentuk trombus pada arteri sehingga terjadi gangguan aliran darah (Kasifa *et al*, 2019).

Kajian antitrombotik ekstrak kelakai sebagai penghambat agregasi platelet dan trombosis sebagai dasar ilmiah terkait penggunaannya untuk pengobatan stroke dan penyakit jantung dilakukan dengan kajian *in silico*. Kajian antitrombotik secara *in silico* dilakukan menggunakan metode *virtual screening* dan *molecular docking* senyawa kimia pada ekstrak kelakai yang berpotensi sebagai antitrombotik dari komposisi senyawa pada herba kelakai menggunakan instrumen GC-

MS. Hal ini diharapkan dapat mengurangi angka kematian akibat penyakit jantung dan pembuluh darah yang ada di Indonesia.

METODOLOGI

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini berupa *rotary evaporator*, *waterbath*, corong pisah, peralatan gelas kimia, instrumen GC-MS (Shimadzu Japan QP2010 SE). dan alat penetas telur (inkubator). Adapun perangkat keras yang digunakan berupa laptop yang terhubung dengan internet. Perangkat lunak yang digunakan dalam penelitian ini adalah sistem operasi Windows 11 64-bit, program USCF *Chimera* 1.16 (<https://www.cgl.ucsf.edu/chimera/download.html>), database *Protein Data Bank* (<https://www.rcsb.org/>), PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>), *web server* SwissDock (<http://www.swissdock.ch/>), SwissADME (<http://www.swissadme.ch>).

Bahan

Bahan penelitian antara lain: sampel tumbuhan kelakai yang diambil di Banjarbaru, Kalimantan Selatan dan etanol pro analisis. Struktur 3D protein target yaitu *antithrombin* dengan PDB ID: 1E04 beserta ligan aslinya *Alpha-D-mannopyranose* (PubChem CID: 85698). Selain itu ligan yang digunakan yaitu pada obat *clopidogrel bisulfate* (PubChem CID: 115366). Serta senyawa kimia dari hasil analisis GC-MS.

Ekstraksi Etanol Kelakai

Serbuk tumbuhan kelakai ditimbang sebanyak 300.0 gram dan ditambahkan dengan 1 L etanol pro analisis, kemudian dimaserasi selama 3 kali 24 jam. Maserat disaring hingga diperoleh filtrat. Filtrat dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* sampai ¼ bagian dari pelarut awal maserat. Kemudian dilakukan penguapan menggunakan *waterbath*.

Preparasi Sampel GC-MS

Hasil ekstrak etanol kelakai yang diperoleh kemudian dianalisis untuk mengetahui informasi jenis senyawa yang terkandung menggunakan GC-MS QP 2010 (Shimadzu). Kondisi GC saat sampel diinjeksi adalah suhu injektor diatur pada 300°C, dengan mode *splitless*, dan kolom SP™ 2560, 100m x 0,25 mm, 0,2 µm. Volume sampel injeksi sebanyak 1,00 µl. Nitrogen digunakan sebagai gas pembawa dengan laju rata-rata 20 cm³/s. Temperatur kolom diatur pada suhu 100°C selama 5 menit. Dinaikkan ke 240°C pada suhu 4°C/min. Ditahan pada 240°C selama 40 menit. Setelah mencapai suhu akhir 300°C instrumen dibiarkan selama 3 menit. Suhu penghubung dan sumber ion diatur pada suhu 300°C dan 250°C. *Start* m/z sebesar 45 dan *end* m/z sebesar 500. Jika grafik sudah terlihat agak datar, analisis GC dapat dihentikan. Puncak grafik diidentifikasi pada tiap waktu retensi dari puncak awal sampai puncak akhir dan dicocokkan dengan data standar *National Institute of Standards and Technology* (NIST) dan *data base Wiley* pada program GC-MS. Hasil identifikasi akan menunjukkan komponen yang paling mirip dari beberapa komponen dari bobot molekul serta tinggi intens peaknya. Senyawa yang teridentifikasi akan dilanjutkan dalam analisis ADME dan *molecular docking*.

Analisis ADME, PkCMS, dan Protox Senyawa Ekstrak Etanol Kelakai

Web server SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>) diakses. Dimasukkan SMILES dari senyawa uji yang didapatkan dari web server Pubchem lalu ditekan *run*. Setelah itu, ditunggu beberapa saat sampai muncul halaman hasil prediksi dan dicatat parameter *bioavailability score* dan *Lipinski*.

Web server pkCSM (<http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsm/prediction>) diakses. Kemudian, dimasukkan SMILES dari senyawa uji yang didapatkan dari web

server Pubchem lalu ditekan ADMET. Setelah itu, ditunggu beberapa saat sampai muncul halaman hasil prediksi ADMET. Terakhir, dicatat hasil prediksi Absorpsi seperti *Caco2 permeability*, *intestinal absorption (human)*, dan *skin permeability*. Prediksi distribusi yaitu *Blood, Brain, Barrier (BBB) permeability*. Prediksi metabolisme yaitu *CYP2D6 substrate*, *CYP3A4 substrate*, *CYP1A2 inhibitor*, *CYP2C19 inhibitor*, *CYP2C9 inhibitor*, *CYP2D6 inhibitor*, dan *CYP3A4 inhibitor*. Ekstraksi yaitu *Total Clearance*. Toksisitas yaitu *AMES toxicity* dan *Hepatotoxicity*.

Protox Web Server (<http://tox.charite.de>) diakses, setelah terbuka, sorot menu bar, diklik menu '*TOX PREDICTION*' dan diarahkan pada halaman baru untuk uji toksisitas. Pada kolom '*search*' '*Pubchem-Name*' dimasukkan nama senyawa yang diteliti, setelah muncul senyawa yang dimaksud, maka akan ditampilkan pada lembar kerja struktur dari senyawa tersebut dalam tampilan 2D. Pada tampilan '*additional models*' centang semua model toksik prediksi kemudian tekan tombol '*start tox-prediction*' disebelah kanan bawah, ditunggu beberapa saat sampai muncul halaman hasil prediksi toksisitas. Setelah muncul halaman hasil prediksi toksisitas, maka ditampilkan prediksi *Lethal Dose-50 (LD₅₀)*, dan kategori kelas toksisitas.

Preparasi Reseptor Protein dan Ligan

Web server RCSB PDB (<https://www.rcsb.org/>) diakses menggunakan *software Google Chrome* pada perangkat keras komputer yang telah terhubung dengan koneksi internet. Protein target *antithrombin* (PDB ID: 1E04) diketik pada kolom pencarian dan diklik *search*. Dipilih struktur 1E04 untuk *Antithrombin* lalu diunduh dalam format PDB, kemudian masing-masing file tersebut dibuka dengan program USCF *Chimera* 1.16. Pada program *Chimera* 1.16, dipilih menu *select*

kemudian dipilih residu, lalu residu yang terdapat pada protein satu persatu dihilangkan dengan memilih menu *action* lalu *delete*. Protein yang sudah siap didocking disimpan dalam format PDB. Preparasi ligan menggunakan program UCSF Chimera 1.16 dilakukan dengan memasukkan PubChem CID masing-masing ligan yang sebelumnya telah dilihat melalui *web server PubChem* (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). CID ligan yang akan dipreparasi kemudian dimasukkan dengan cara mengklik menu *file* kemudian dipilih *Fetch by ID* lalu dipilih database berupa *PubChem* dan dimasukkan kode masing-masing ligan setelah itu mengklik menu *fetch*. Ligan kemudian dipreparasi dengan memilih menu *tools* lalu pilih *structure editing* dipilih *minimize structure* kemudian pilih *minimize* dan tekan ok.

Ligan yang sudah siap didocking disimpan dalam file PDB Protein *Antithrombin* (PDB ID: 1E04) diunduh melalui situs protein data bank dalam bentuk *.pdb. Kemudian, dipreparasi menggunakan program UCSF Chimera 1.16 dengan menghilangkan residu. Isolasi ligan alami dari protein target dengan menghapus semua gugus protein *Antithrombin* selain gugus *Alpha-D-mannopyranose*, lalu dipreparasi dan disimpan dalam bentuk mol2. Preparasi lima senyawa uji dan ligan *clopidogrel bisulfate* dapat menggunakan program UCSF Chimera 1.16 dilakukan dengan memasukkan *PubChem* CID masing-masing ligan yang sebelumnya telah dilihat melalui *web server PubChem*, lalu disimpan dalam bentuk mol2.

Molecular Docking

Docking dilakukan menggunakan Swissdock. Hasil docking dinyatakan dengan nilai energi bebas Gibbs (ΔG).

Visualisasi Hasil Docking

Visualisasi dilakukan menggunakan program UCSF Chimera 1.16 dengan cara memasukkan data protein target dalam format *.pdb dan hasil docking dalam format *.pdb. Visualisasi akan menunjukkan jenis interaksi

ikatan yang terbentuk dan asam amino yang menjadi lokasi pengikatan. Hasil visualisasi disimpan dalam format *.png.

HASIL DAN PEMBAHASAN

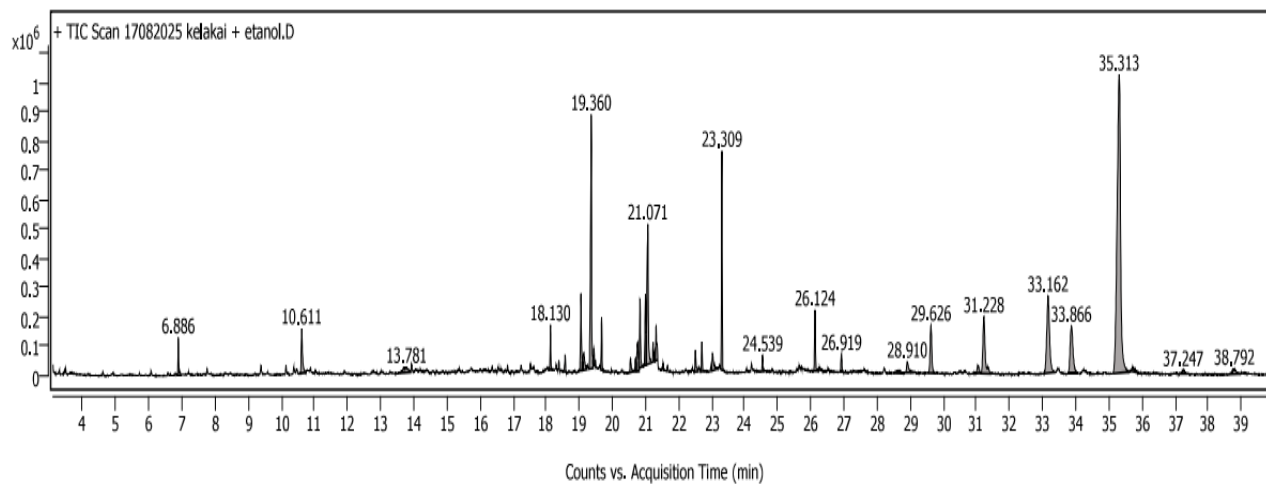
Hasil Ekstraksi

Kelakai (*Stenochlaena palustris*) didapatkan melalui metode maserasi selama 3 kali 24 jam dan dilakukan pengadukan agar proses ekstraksi berjalan optimal. Prinsip kerja ekstraksi dengan metode maserasi adalah proses tercapainya kesetimbangan konsentrasi antara senyawa aktif pada tanaman dengan yang telah berpindah ke pelarut (Agustina *et al*, 2018). Setelah didapatkan rendaman sampel, dilakukan penyaringan. Ekstrak etanol kelakai didapatkan sebanyak 7,84 gram.

Analisis GC-MS Ekstrak Etanol Kelakai

Analisis *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS) dilakukan untuk mengetahui komponen-komponen senyawa yang terkandung pada ekstrak etanol kelakai. GC adalah teknik kromatografi yang dapat mendeteksi komponen senyawa yang mudah menguap yang ditandai dengan munculnya puncak-puncak pada kromatogram. MS adalah metode spectrometer yang dapat mengidentifikasi senyawa berdasarkan bobot molekul dan dapat dibandingkan dengan data standar NIST [8]. Prinsip dari GC-MS adalah pemisahan komponen-komponen dari campurannya dengan kromatografi gas dan tiap komponen dapat dibuat spektrum massa dengan ketelitian lebih tinggi. Hasil Kromatografi gas menunjukkan kromatogram dari ekstrak etanol kelakai (**Gambar 2**). Kromatografi gas mampu membaca senyawa dengan konsentrasi terendah sehingga metabolit sekunder dalam tanaman dapat teridentifikasi dengan hasil berupa kromatogram dan spektrum massa. Identifikasi tiap puncak dalam kromatogram dilakukan dengan mencocokkan spektrum MS tiap puncak dengan data base Wiley dan NIST

untuk menentukan jenis senyawanya (Hotmian *et al*, 2021).

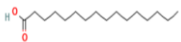
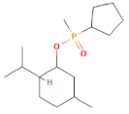
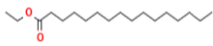

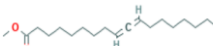
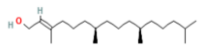
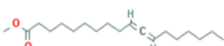
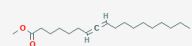
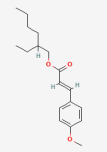
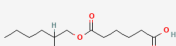
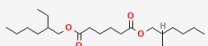
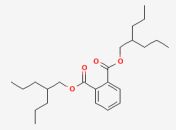
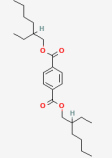
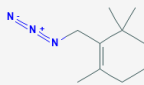
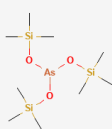


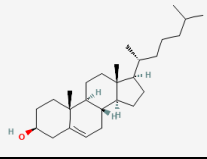
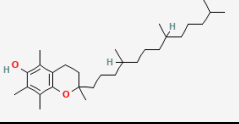
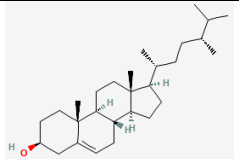
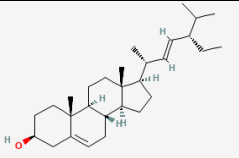
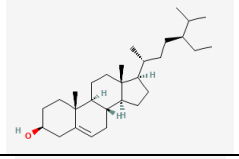
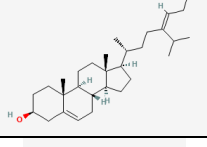
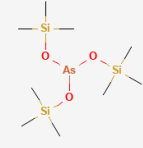
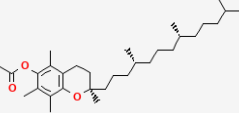
Gambar 2. Kromatogram hasil analisis GC-MS ekstrak etanol kelakai

Tabel 1. Daftar senyawa uji dari ekstrak etanol kelakai

Senyawa Uji	Nama Senyawa	Rumus Molekul	PubChem CID	Struktur Senyawa
1	Tetraethyl silicate	$C_8H_{20}O_4Si$	6517	
2	Ethanol, 1-(2-methyl-2H-tetrazol-5-yl)-2-[(thiophen-2-ylmethyl)amino]-	$C_9H_{13}N_5OS$	645724	
3	Borinic acid, diethyl-	$C_4H_{11}BO$	545119	
4	N-(5-Azidopentyl)-4-methyl-4-vinylazetid-2-one	$C_{11}H_{18}N_4O$	549328	
5	Diazoacetic acid, 2-isopropyl-5-methylcyclohexyl ester	$C_{12}H_{20}N_2O_2$	136360541	

Potensi Senyawa Kimia Ekstrak Etanol Kelakai (*Stenochlaena palustris*) Sebagai Antitrombotik

6	n-Hexadecanoic acid	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	985	
7	Cyclopentyl-methyl-phosphinic acid, 2-isopropyl-5-methyl-cyclohexyl ester	C ₁₆ H ₃₁ O ₂ P	590779	
8	Hexadecanoic acid, ethyl ester	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	12366	
9	Methyl 12,13-tetradecadienoate	C ₁₅ H ₂₆ O ₂	91692385	
10	Methyl 9,10-octadecadienoate	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	91694355	
11	Phytol	C ₂₀ H ₄₀ O	5280435	
12	Methyl 10,11-octadecadienoate	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	91694354	
13	Methyl 7,8-octadecadienoate	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	91694352	
14	Octinoxate	C ₁₈ H ₂₆ O ₃	5355130	
15	Mono(2-ethylhexyl) adipate	C ₁₄ H ₂₆ O ₄	20342	
16	Bis(2-ethylhexyl) adipate	C ₂₂ H ₄₂ O ₄	7641	
17	Di-n-2-propylpentylphthalate		191964	
18	Bis(2-ethylhexyl) terephthalate	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	22932	
19	2-Azidomethyl-1,3,3-trimethyl-cyclohexene	C ₁₀ H ₁₇ N ₃	578430	
20	Arsenous acid, tris(trimethylsilyl) ester	C ₉ H ₂₇ AsO ₃ Si ₃	180508	

21	Cholesterol	$C_{27}H_{46}O$	5997	
22	DL-alpha-Tocopherol	$C_{29}H_{50}O_2$	2116	
23	Campesterol	$C_{17}H_{14}ClN_3O_2$	712183	
24	Stigmasterol	$C_{29}H_{48}O$	5280794	
25	Clionasterol	$C_{29}H_{50}O$	457801	
26	29-Methylisofucosterol	$C_{30}H_{50}O$	6443745	
27	Arsenous acid, tris(trimethylsilyl) ester	$C_9H_{27}AsO_3Si_3$	180508	
28	Alpha-Tocopherol Acetate	$C_{31}H_{52}O_3$	86472	

Hasil Virtual Screening

Tabel 2. Hasil *screening* lipinski, bioavailabilitas, dan toksisitas senyawa uji

Senyawa Uji	AMES toxicity	Hepato-toxicity	LD ₅₀ (mg/kg)	Kategori toksisitas						Bioavail ability Score	Lipinski
				I	II	III	IV	V	VI		
1	No	No	6270						√	0,55	Yes
2	No	No	1190				√			0,55	Yes
3	No	No	740				√			0,55	Yes

Potensi Senyawa Kimia Ekstrak Etanol Kelakai (*Stenochlaena palustris*) Sebagai Antitrombotik

4	No	No	1210	√		0,55	Yes
5	No	No	5000		√	0,55	Yes
6	No	No	900	√		0,85	Yes
7	No	No	2250		√	0,55	Yes
8	No	No	5000		√	0,55	Yes
9	No	No	5000		√	0,55	Yes
10	No	No	5000		√	0,55	Yes
11	No	No	5000		√	0,55	Yes
12	No	No	5000		√	0,55	Yes
13	No	No	5000		√	0,55	Yes
14	No	No	9600		√	0,55	Yes
15	No	No	5000		√	0,85	Yes
16	No	No	5000		√	0,55	Yes
17	No	No	1340	√		0,55	Yes
18	No	No	3200		√	0,55	Yes
19	No	No	305	√		0,55	Yes
20	No	No	3000		√	0,55	Yes
21	No	No	890	√		0,55	Yes
22	No	No	5000		√	0,55	Yes
23	No	No	890	√		0,55	Yes
24	No	No	890	√		0,55	Yes
25	No	No	890	√		0,55	Yes
26	No	No	890	√		0,55	Yes
27	No	No	3000		√	0,55	Yes
28	No	No	5000		√	0,55	Yes

Keterangan:

Analisis SwissADME: *bioavailability* dan *Lipinski*

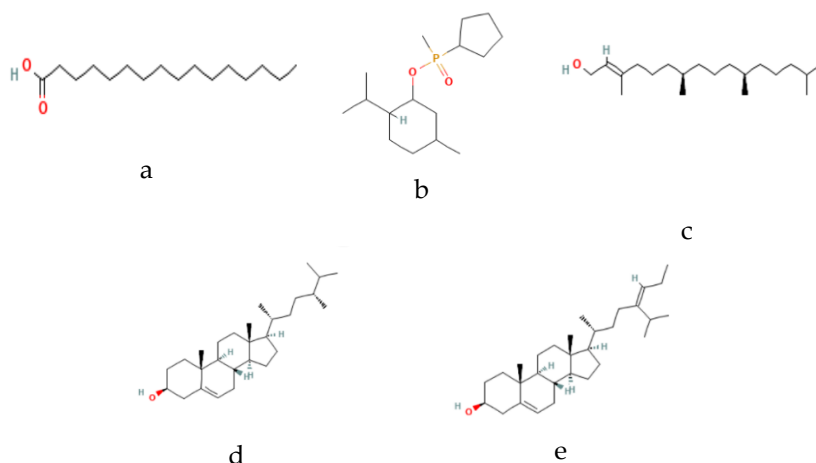
Analisis pkCSM: *AMES toxicity* dan *hepatotoxicity*

Analisis dengan *protox*: LD_{50} dan kategori toksisitas

No menunjukkan tidak memiliki sifat, Yes menunjukkan memiliki sifat

Hasil *virtual screening* dari 28 senyawa ekstrak etanol kelakai yang didapatkan dari analisis GC-MS, terdapat lima senyawa yang berpotensi sebagai antitrombotik. Senyawa tersebut berupa *n-Hexadecanoic acid* (**Gambar 3a**), *Cyclopentyl-methyl-phosphinic acid* 2-

isopropyl-5-methyl-cyclohexyl ester (**Gambar 3b**), *phytol* (**Gambar 3c**), *campesterol* (**Gambar 3d**), dan *29-Methylisofucosterol* (**Gambar 3e**).

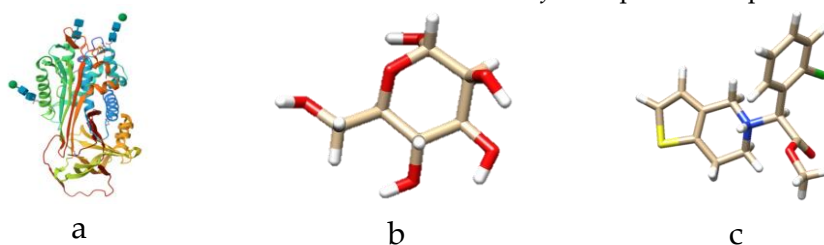


Gambar 3 Struktur 2D *n-Hexadecanoic acid* (a), *Cyclopentyl-methyl-phosphinic acid* 2-*isopropyl-5-methyl-cyclohexyl ester* (b), *phytol* (c), *campesterol* (d), dan *29-Methylisofucosterol* (e).

Molecular Docking

Preparasi protein target dan ligan untuk *molecular docking* menggunakan UCSF Chimera 1.16. Protein Target adalah *antithrombin* (PDB ID: 1E04), struktur 3D protein target *antithrombin* dapat dilihat pada Gambar 4a. Ligan alami *Alpha-D-mannopyranose* diambil dari protein target dan dipreparasi dengan meminimize energi. Tampilan struktur 3D ligan

alami Alpha-D-mannopyranose dapat dilihat seperti pada Gambar 4b. Ligan Clopidogrel bisulfate merupakan ligan yang berasal dari obat *Clopidogrel bisulfate* (CPG) yaitu obat yang dapat mencegah penyumbatan pembuluh darah dan dapat membantu melancarkan peredaran darah. Ligan *Clopidogrel bisulfate* dipreparasi dengan protein target kemudian meminimize energi. Tampilan 3D *Clopidogrel bisulfate* dapat dilihat pada Gambar 4c.



Gambar 4. Struktur 3D: a. protein *antithrombin*, b. ligan *Alpha-D-mannopyranose*, c. ligan *Clopidogrel bisulfate*

Molecular docking antara protein *antithrombin* (PDB ID: 1E04) (Gambar 4a) dengan lima ligan senyawa ekstrak etanol kelakai (Gambar 3), ligan alami *Alpha-D-mannopyranose* (Gambar 4b), dan ligan

Clopidogrel bisulfate (Gambar 4c) dilakukan menggunakan *web server SwissDock*. Parameter hasil docking berupa nilai energi bebas Gibbs (ΔG) dan interaksi ikatan ligan dengan residu asam amino. Tabel 1 menunjukkan hasil

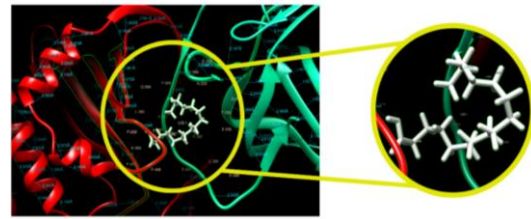
molecular docking antara ligan dan protein target. Energi bebas Gibbs (ΔG) menunjukkan seberapa kuat ikatan yang terjadi antara protein dan ligan, di mana nilai ΔG yang semakin negatif (rendah) menunjukkan bahwa senyawa tersebut memerlukan sedikit energi ketika pengikatan, sehingga dapat diartikan senyawa tersebut memiliki potensi dan

aktivitas yang lebih besar untuk berinteraksi dan membentuk ikatan yang kuat dengan protein target. Semakin negatif nilai ΔG menunjukkan tingkat kestabilan yang baik antara ligan dan reseptor, sehingga ikatan yang terbentuk akan semakin kuat (Rena *et al*, 2022).

Tabel 3. Hasil *molecular docking* ligan uji, ligan alami, dan obat *clopidogrel bisulfate*

Ligan	ΔG (kkal/ mol)	Residu Asam Amino	
		Ikatan Hidrogen	Interaksi Hidrofobik
Ligan Uji			
n-Hexadecanoic acid	-8.72	1.739Å	S 230, N 233, Y 253, Q 254, E 255, Q 268, L 285, P 286, K 287, P 288, K 290, I 390, A 391, G 392, R 393, S 294, L 395, V 388, V 399, R 399, R 406, P 407, F 408
Cyclopentyl-methyl-phosphinic acid, 2-isopropyl-5-methyl-cyclohexyl ester	-7.76	-	A 124, N 127, C 128, Y 131, R 132, S 142, A 143, N 144, R 145, E 163, L 164, V 165, Y 166, G 167, A168, K 169, W 189, K 193
Phytol	-8.54	2.384Å	S 230, E 232, N 233, Y 253, Q 254, E 255, R 262, G 266, Q 268, L 285, P 286, K 287, P 288, L 292, V 388, V 389, I 390, G 392, R 393, S 394, L 395, A 399, R 406, P 407, F 408
Campesterol	-7.91	2.374Å	K 70, D 74, N 75, D 200, P 203, D 327, E 326, D 327, G 328, F 329, S 330, D 366, F 368, HSD 369, K 370, L 395, N 395, N 396, P 397, N 398, V 400, T 401, F 402
29-Methylisofucosterol	-8.05	-	N 127, C 128, Y 131, R 132, V 141, S 142, A 143, N 144, R 145, E 163, L 164, Y 166, G 167, A 168, K 169, W 189, K 193
Ligan Alami			
Alpha-D-mannopyranose	-7.00	1.970Å 2.202Å	V 48, S 52, K 53, S 56, R 57, T 300, P 301, E 302, L 304, Q 305, L 308, R 413, N 418, T 419, I 420
Ligan Clopidogrel Bisulfate			
Clopidogrel bisulfate	-8.12	-	Q 118, T 115, I 18, M 17, D 117, I 22, P 19, P 16, I 15, R 13, F 121

Tabel 3 menunjukkan hasil *molecular docking* dari lima senyawa pada ekstrak etanol kelakai, ligan *clopidogrel bisulfate* terhadap protein *antithrombin*, ditemukan bahwa senyawa ekstrak etanol kelakai yaitu *n-Hexadecanoic acid* mempunyai harga ΔG paling negatif sebesar -8.72 kkal/mol. Semakin negatif harga ΔG , maka ikatan kompleks protein target-ligan akan semakin kuat karena kestabilan dan kekuatan interaksi non kovalen [11]. Senyawa *n-Hexadecanoic acid* diduga mempunyai potensi lebih bersifat memperlambat proses pembekuan darah dibandingkan senyawa lainnya dan dapat memungkinkan untuk menggantikan ligan alami sebagai antitrombotik. Senyawa *n-Hexadecanoic acid* dapat mempengaruhi faktor-faktor pembekuan darah, termasuk menghambat agregasi platelet dan mengurangi pelepasan molekul yang berperan dalam proses pembentukan gumpalan darah melalui protein *antithrombin*. *antithrombin* berperan dalam proses penyampaian transduksi sinyal. Proses ini berawal dari adanya stimulasi kinase pada permukaan sel, dilanjutkan dengan pengikatan antar kinase (dimerisasi). Proses dimerisasi ini dilanjutkan dengan fosforilasi yang merupakan proses perpindahan gugus fosfat dari satu protein ke protein berikutnya dalam jalur transduksi sinyal. Transfer gugus fosfat inilah yang menjadi kunci pengendali alur penyampaian sinyal dari permukaan ke inti sel, yang menjadi perintah bagi sel untuk melakukan proses proliferasi (pertumbuhan), division (pembelahan sel) diferensiasi (pematangan), apoptosis (kematian), atau metastasis (penyebaran). Mutasi protein *antithrombin* menyebabkan terjadinya aktivitas pembekuan darah semakin lambat. Mutasi *antithrombin* dapat terjadi pada aliran darah.



Gambar 5. Hasil *molecular docking* protein *antithrombin* dengan ligan *n-Heksadekanoic acid*

Gambar 5 menunjukkan visualisasi hasil *molecular docking*. Ligan *n-Hexadecanoic acid* berikatan dengan 23 residu protein *antithrombin* yaitu: S 230, N 233, Y 253, Q 254, E 255, Q 268, L 285, P 286, K 287, P 288, K 290, I 390, A 391, G 392, R 393, S 294, L 395, V 388, V 399, R 399, R 406, P 407, F 408. Lokasi pengikatan senyawa *n-Hexadecanoic acid* dengan protein *antithrombin* berada tepat pada sisi aktif yang mana memiliki kemiripan interaksi residu ligan alami *Alpha-D-mannopyranose* dengan protein *antithrombin*. *Binding site* (sisi aktif) merupakan suatu area pada protein yang akan menjadi tempat dimana ligan dan protein berikatan. Hasil analisis menunjukkan bahwa terdapat 28 *peak* dari ekstrak etanol. Komponen senyawa terbanyak dalam ekstrak etanol kelakai terletak pada *peak 8* dengan nilai *retention area* adalah 26,02% dan waktu retensi 19,360 dengan kemungkinan senyawa yang terdapat pada *peak 8* yaitu *n-Hexadecanoic acid*.

KESIMPULAN

Senyawa *n-Hexadecanoic acid* merupakan senyawa yang menghambat agregasi platelet dan mengurangi pelepasan molekul yang berperan dalam proses pembentukan gumpalan darah melalui protein *antithrombin* dengan $\Delta G = -8.72$ kkal/mol. Lokasi pengikatan senyawa *n-Hexadecanoic acid* dengan protein *antithrombin* berada tepat pada sisi aktif yang mana memiliki kemiripan interaksi residu ligan alami *Alpha-D-*

mannopyranose dengan protein *antithrombin*, selain itu senyawa *n-Hexadecanoic acid* memiliki ΔG lebih kecil dibandingkan dengan ΔG dari ligan obat *Clopidogrel bisulfate* yaitu sebesar -8.12 kkal/mol. Hal ini menyatakan bahwa senyawa *n-Hexadecanoic acid* yang terdapat pada ekstrak etanol kelakai berpotensi untuk memperlambat proses pembekuan darah.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Jenderal Pembelajaran dan Kemahasiswaan Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia melalui Program Kreativitas Mahasiswa (PKM) yang telah memberi dukungan finansial terhadap penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, E., F. Andiarna., N. Lusiana., R. Purnamasari, dan M. I. Hadi. (2018). Identifikasi Senyawa Aktif dari Ekstrak Daun Jambu Air (*Syzygium aqueum*) dengan Perbandingan Beberapa Pelarut pada Metode Maserasi. *Biotropic: The Journal of Tropical Biology*. 2:2 108–118.
- Chabib, L., Muhtadi, W. K., Rizki, M. I., Rahman, R. A., Suhendri, M. R. dan Hidayat, A. (2018). Potential medicinal plants for improve the immune system from Borneo Island and the prospect to be developed as nanomedicine. *MATEC Web of Conferences*. 1-6.
- Darmapatni, K. A. G. (2016). Pengembangan Metode GC-MS untuk Penetapan Kadar Acetaminophen pada Spesimen Rambut Manusia. *Jurnal Biosains Pascasarjana*. 18:3 1–13.
- Fahruni., H. Rezqi, dan N. Susi. (2018). Potensi Tumbuhan Kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. F.) Bedd.) asal Kalimantan Tengah sebagai Afrodisiaka. *Jurnal Surya Medika (JSM)*. 3:2 144-153.
- Hotmian, E., E. Suoth., F. Fatimawali, dan T. Tallei. (2021). Analisis Gc-Ms (Gas Chromatography-Mass Spectrometry) Ekstrak Metanol Dari Umbi Rumput Teki (*Cyperus rotundus* L.). *PHARMACON*. 10:3 849-856.
- Kasifa, W., Rohmah, M. K., Fickri, D. Z. dan Wahyuni, K. I. (2019). Uji Aktivitas Fibrinolisis Ekstrak Alkaloid Total Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata* (Vielli) K. Schum) Secara In Vitro. *Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika*. 2:1 1-29.
- Nurinayah, M. H., M. A. Soendjoto, dan Darmono. (2016). Jenis tumbuhan paku di Kawasan Rawa Sungai Lumbah, Kabupaten Barito Kuala. *Prosiding Seminar Nasional Lahan Basah*. 1:1 141-145.
- Rahmadani, N., Septiani, K.S., Yulianti R., Handayani, I.S., Haitomi, A. dan Al-Ghani, M.G. (2022). *Tentang Etnobiologi di Kalimantan Selatan*. CV. Batang, Kalimantan Selatan.
- Rena, S. R., Nurhidayah, dan Rustan. (2022). Analisis Molecular Docking Senyawa *Garcinia mangostana* L Sebagai Kandidat Anti SARS-CoV-2. *Jurnal Fisika UNAD (JFU)*. 11:1 82-88.
- Sawitri, H., N. Maulina., T. Y. Lutfi, dan N. Rahmi. (2023). Tingkat Risiko Penyakit Jantung dan Pembuluh Darah pada Dosen dan Karyawan Level of Coronary Heart Disease Risk for Lecturers and Employees. *Jurnal Ilmiah Manusia dan Kesehatan*. 6:1 37-43.
- Suhadi, A., Rizarullah, R. dan Feriyani, F. (2019). Simulasi Docking Senyawa Aktif Daun Binahong sebagai Inhibitor Enzyme Aldose Reductase. *Sel Jurnal Penelitian Kesehatan*. 6:2 55-65.