

**DISERTASI**

**ISOLASI DAN ELUSIDASI STRUKTUR METABOLIT SEKUNDER  
MAKROALGA *Gracilaria salicornia* DAN *Bornetella nitida* SERTA UJI  
BIOAKTIVITASNYA SEBAGAI ANTIBAKTERI,  
ANTIOKSIDAN, DAN ANTIKANKER**

**BAHRUN**

**H013201003**



**PROGRAM DOKTOR ILMU KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**

**ISOLASI DAN ELUSIDASI STRUKTUR METABOLIT SEKUNDER  
MAKROALGA *Gracilaria salicornia* DAN *Bornetella nitida* SERTA UJI  
BIOAKTIVITASNYA SEBAGAI ANTIBAKTERI,  
ANTIOKSIDAN, DAN ANTIKANKER**

**DISERTASI**

**Program Studi Ilmu Kimia**

**Disusun dan diajukan oleh**

**BAHRUN  
H013201003**

**Kepada**

**PROGRAM DOKTOR ILMU KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**

**DISERTASI**

**Isolasi dan Elusidasi Struktur Metabolit Sekunder Makroalga  
*Gracilaria salicornia* dan *Bornetella nitida* serta Uji Bioaktivitasnya  
sebagai Antibakteri, Antioksidan, dan Antikanker**

Disusun dan diajukan oleh:

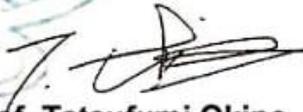
**BAHRUN**  
**NIM: H013201003**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Disertasi  
pada tanggal 24 Januari 2024  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,  
Komisi Penasehat

  
**Prof. Dr. Nunuk Hariani Soekamto, M.S**  
Promotor

  
**Dr. Herlina Rasyid, S.Si**  
Co-Promotor

  
**Prof. Tatsufumi Okino**  
Co-Promotor

Ketua Program Studi  
Ilmu Kimia,

  
**Prof. Dr. Paulina Taba, M.Phill**

Dekan Fakultas MIPA  
Universitas Hasanuddin,

  
**Dr. Eng. Amiruddin, M.Si**



## PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Bahrun  
Nomor Induk Mahasiswa : H013201003  
Program Studi : S3-Ilmu Kimia

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa disertasi yang saya tulis berjudul:

**ISOLASI DAN ELUSIDASI STRUKTUR METABOLIT SEKUNDER  
MAKROALGA *GRACILARIA SALICORNIA* DAN *BORNETELLA NITIDA*  
SERTA UJI BIOAKTIVITASNYA SEBAGAI ANTIBAKTERI,  
ANTIOKSIDAN, DAN ANTIKANKER.**

Benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebahagian atau keseluruhan disertasi ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 24 Januari 2024

Yang menyatakan,

A 10,000 Indonesian Rupiah stamp with a handwritten signature over it. The stamp features the number '10000' and the words 'METERAI' and 'TAMPEL'. The signature is written in black ink over the stamp.

Bahrun

## **PRAKATA**

*Assalamu 'Alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh,*

Alhamdulillah Rabbil 'Alamin penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas segala rahmat, karunia, dan ridho-Nya, sehingga penelitian dan penulisan disertasi ini dapat penulis rampungkan sebagai salah satu persyaratan untuk meraih gelar Doktor Ilmu Kimia pada Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin, Makassar.

Penulis banyak menghadapi hambatan dan kendala selama proses penelitian, mulai dari awal penelitian hingga penyelesaian disertasi ini. Namun, berkat Rahmat Allah SWT, dengan semangat, kesabaran dan usaha yang keras semuanya dapat teratasi. Penulis sangat menyadari bahwa semua ini dapat terwujud berkat doa, motivasi dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis dengan tulus dan Ikhlas menyampaikan penghargaan dan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Ibu Prof. Dr. Nunuk Hariani Soekamto, MS selaku promotor, Ibu Dr. Herlina Rasyid, S.Si dan Bapak Prof. Tatsufumi Okino, masing-masing selaku ko-promotor yang penuh kesabaran dan ketulusan untuk meluangkan waktu memberikan bimbingan, motivasi, nasihat, dan saran mulai dari perencanaan penelitian, pelaksanaan penelitian, hingga penulisan disertasi ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Tim penguji Prof. Dr. Dra Pratiwi Pudjiastuti, M.Si, Prof. Dr. Hasnah Natsir, M.Si, Dr. Syarifuddin Liong, M.Si dan Dr. Paulina Taba, M. Phill

Pada kesempatan ini, penulis juga mengucapkan terima kasih kepada:

1. Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan melalui Direktorat Sumber Daya Ditjen Pendidikan Tinggi atas kesempatan yang diberikan untuk menjadi bagian dari keluarga besar karyasiswa PMDSU tahun 2019.
2. Rektor Universitas Hasanuddin dan Direktur Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin yang telah memberikan kesempatan untuk mengikuti Pendidikan Program Doktor.
3. Dekan Fakultas MIPA Unhas, Bapak Dr. Eng Amiruddin, M.Si., beserta wakil-wakilnya yang telah memberikan fasilitas dan kemudahan dalam pelayanan administrasi selama mengikuti pendidikan.
4. Ibu Prof. Dr. Paulina Taba, M.Phil., dan Ibu Dr. St. Fauziah, S.Si., M.Si., selaku Ketua Program Studi Doktor Ilmu Kimia dan Kepala Departemen Kimia beserta Dosen dan Staf Departemen Kimia yang telah memberikan motivasi, bantuan dan kerjasaman dalam penyelesaian studi.
5. Kepala Laboratorium Kimia Fisika, Laboratorium Kimia Analitik, Laboratorium Kimia Terpadu beserta staf yang telah memberikan fasilitas dan kemudahan dalam melakukan penelitian.
6. Bapak Prof. Tatsufumi Okino yang telah memberikan fasilitasi dan kemudahan dalam melakukan penelitian pada Laboratorium Kimia Bahan Alam dan Laboratorium NMR Faculty of Environmental Earth Science Hokkaido University.

7. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, semoga Allah SWT membalasnya dengan pahala yang berlipat ganda.

Penulis menyadari bahwa disertasi ini masih jauh dari sempurna sehingga masih perlu saran dan kritikan yang membangun untuk melengkapi kekurangan tersebut. Akhir kata Penulis berharap disertasi ini dapat memberikan manfaat bagi umat manusia dan kontribusi pada perkembangan ilmu pengetahuan.

Wabillahi Taufiq wal Hidayah, Wassalamu Alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh.

Penulis

A handwritten signature in black ink, appearing to be the name 'Bahrun', written in a cursive style.

Bahrun

## ABSTRAK

**Bahrún.** Isolasi dan elusidasi struktur metabolit sekunder makroalga *Gracilaria salicornia* dan *Bornetella nitida* serta uji bioaktivitasnya sebagai antibakteri, antioksidan, dan antikanker (dibimbing oleh **Nunuk Hariani Soekamto, Herlina Rasyid, dan Tatsufumi Okino**).

Isolasi metabolit sekunder dari *Gracilaria salicornia* dan *Bornetella nitida* asal kepulauan Selayar, Sulawesi Selatan, telah dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi, mengelusidasi dan menentukan aktivitas antibakteri, antioksidan, antikanker serta analisis penambatan senyawa terhadap estrogen reseptor- $\beta$ . Tahapan isolasi senyawa meliputi, preparasi sampel, ekstraksi dengan metode maserasi bertingkat, fraksinasi dengan metode kromatografi, dan pemurnian senyawa. Struktur senyawa hasil isolasi ditentukan berdasarkan analisis data spektroskopi seperti FT-IR, MS, dan NMR. Bioaktivitas senyawa dianalisis secara *in vitro* terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*, peredaman aktivitas radikal bebas DPPH dan sitotoksitas terhadap sel MCF-7 dengan metode MTT. Studi *in silico* dengan penambatan molekul juga dilakukan untuk mengetahui mekanisme penghambatan senyawa terhadap estrogen reseptor- $\alpha$ . Sebanyak 5 senyawa berhasil diisolasi dari sampel *B. nitida* dan diidentifikasi sebagai senyawa 3-hexadecyloxy-1,2-propanediol (**1**), kolesterol (**2**),  $\beta$ -sitosteroltetrakosanoat (**3**), stigmasterol (**4**), dan 14-metil-stigmasterol (**5**). Senyawa tersebut untuk pertamakalinya ditemukan pada spesies *B. nitida*. Sementara itu, dari sampel *G. salicornia* diisolasi dan diidentifikasi 3 senyawa sebagai senyawa kolesterol (**2**), asam behenat (**6**), 4a,6a-dimetil-7-(6metilheptan-2-il)-1,2,3,4,4b,5,6,7,8,9,10,10b,11-tetradecahydrochryse-2-ol (**8**) dan 1 senyawa baru yaitu bis-floridoside (**7**). Hasil analisis antibakteri menunjukkan bahwa senyawa (**3**) memiliki aktivitas yang paling baik terhadap bakteri *E. coli* (zona hambat  $15,02 \pm 0,79$  mm), sedangkan aktivitas penghambatan yang paling baik terhadap *S. aureus* ditunjukkan oleh senyawa (**1**) (zona hambat  $9,31 \pm 3,34$  mm). Aktivitas sitotoksitas terbaik terhadap sel MCF-7 juga teramati pada senyawa (**1**) ( $IC_{50}$   $41,96 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ; kategori kuat). Sementara itu, aktivitas antioksidan senyawa secara keseluruhan termasuk dalam kategori lemah. Penambatan molekul menunjukkan bahwa secara umum senyawa yang dianalisis mampu menunjukkan afinitas yang baik terhadap estrogen reseptor- $\alpha$  melalui ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik.

**Kata kunci:** *Bornetella nitida*, *Gracilaria salicornia*, *in silico*, MCF-7, metabolit sekunder

## ABSTRACT

**Bahrn.** Isolation and structure elucidation of secondary metabolites of marine macroalgae *Gracilaria salicornia* and *Bornetella nitida* and their bioactivity test as antibacterial, antioxidant, and anticancer (supervised by **Nunuk Hariani Soekamto, Herlina Rasyid, and Tatsufumi Okino**).

Isolation of secondary metabolites from *Gracilaria salicornia* and *Bornetella nitida* from Selayar islands, South Sulawesi, has been studied. This study aims to isolate, elucidate, and determine the bioactivity evaluation of the isolated compounds for antibacterial, antioxidant, anticancer and molecular docking against estrogen receptor- $\alpha$ . Sample preparation, extraction via multilevel maceration, fractionation via chromatography technique, and compound purification are all stages of compound isolation. The structures of isolated compounds were elucidated based on spectroscopic data analysis such as FT-IR, MS, and NMR. *In vitro* bioactivity of the compounds was assessed against *E. coli* and *S. aureus*, scavenging of DPPH free radical activity, and cytotoxicity against MCF-7 cell lines by MTT method. *In silico* studies of the compound with molecular docking conducted to determine the inhibition mechanism against estrogen receptor- $\alpha$ . Total of 5 compounds were successfully isolated from *B. nitida* and identified as 3-hexadecyloxy-1,2-propanediol (**1**), cholesterol (**2**),  $\beta$ -sitosteroltetrakosanoate (**3**), stigmasterol (**4**), and 14-methyl-stigmasterol (**5**). These compounds were first discovered in *B. nitida* species. Meanwhile, from the *G. salicornia*, three compounds were isolated and identified as cholesterol (**2**), behenic acid (**6**), 4a,6a-dimethyl-7-(6methylheptan-2-yl)-1,2,3,4,4b,5,6,7,8,9,10a,10b,11-tetradecahydrochryse-2-ol (**8**), belong to a new compound, bis-floridoside(**7**). The antibacterial assay revealed that compound (**3**) had the best inhibitory against *E. coli* (inhibition zone  $15.02 \pm 0.79$  mm), while the best inhibitory against *S. aureus* was shown by compound (**1**) (inhibition zone  $9.31 \pm 3.34$  mm). The best cytotoxicity against MCF-7 cells was also observed in compound (**1**) ( $IC_{50}$   $41.96 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ; strong category). Meanwhile, the antioxidant of the compounds as a whole falls into the weak activity. Molecular docking showed that generally the isolated compounds were able to demonstrate strong affinity to estrogen receptor- $\alpha$  through hydrogen bond and hydrophobic interactions.

**Keywords:** *Bornetella nitida*, *Gracilaria salicornia*, *in silico*, MCF-7, secondary metabolite

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
ABSTRAK.....	iii
ABSTRACT.....	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	8
C. Tujuan Penelitian.....	8
D. Manfaat Penelitian.....	9
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	10
A. Tinjauan Umum Makroalga.....	10
B. Rhodophyta.....	11
1. <i>Gracilaria</i> .....	13
a. Senyawa Antibakteri.....	14
b. Senyawa Antioksidan.....	17
c. Senyawa Antikanker.....	18
2. <i>Gracilaria salicornia</i> .....	19
C. Chlorophyta.....	25

1. Dasycladales.....	25
a. Senyawa Antibakteri.....	26
b. Senyawa Antioksidan.....	28
c. Senyawa Antikanker.....	29
2. <i>Bornetella nitida</i> .....	31
D. <i>Molecular Docking</i> .....	33
E. Kerangka Pikir dan Hipotesis.....	35
1. Kerangka Pikir.....	35
2. Hipotesis.....	37
BAB III METODE PENELITIAN.....	39
A. Desain Penelitian.....	39
B. Waktu dan Lokasi Penelitian.....	39
C. Alat dan Bahan.....	39
1. Alat.....	39
2. Bahan.....	40
D. Prosedur Penelitian.....	40
1. Preparasi Sampel.....	40
2. Ekstraksi, Isolasi, dan Pemurnian.....	40
3. Uji Fitokimia.....	41
4. Penentuan Struktur.....	43
5. Uji Bioaktivitas.....	43
a. Uji Antibakteri.....	43
b. Uji Antioksidan.....	44
c. Uji Toksisitas.....	44
d. Uji Sitotoksisitas.....	45

e. Analisis <i>Molecular Docking</i> .....	46
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	48
1. Sampling dan Determinasi Makroalga.....	48
2. Ekstraksi Sampel.....	49
3. Uji Fitokimia.....	50
4. Bioaktivitas Ekstrak <i>G. salicornia</i> dan <i>B. nitida</i> .....	52
4.1. Uji Toksisitas.....	52
4.2. Antibakteri.....	54
4.3. Antioksidan.....	55
5. Senyawa Hasil Isolasi dari <i>B. nitida</i> dan <i>G. salicornia</i> .....	57
5.1 Isolat dari <i>B. nitida</i> .....	57
a. 3-heksadesiloksi-1,2-propanediol (1).....	57
b. Kolesterol (2).....	59
c. $\beta$ -sitosteroltetrakosanoat (3).....	62
d. Stigmasterol (4).....	65
e. 14-metil-stigmasterol (5).....	69
5.2 Isolat dari <i>G. salicornia</i> .....	71
a. Asam Behenat (6).....	71
b. Bis-Floridoside (7).....	70
c. Kolesterol (2).....	76
d. 4a,6a-dimetil-7-(6metilheptan-2-il)-1,2,3,4,4b,5,6,7,8,9,10a, 10b,11-tetradecahydrochryse-2-ol (8).....	76
6. Bioaktivitas Senyawa Berdasarkan Analisis <i>In vitro</i> dan <i>In silico</i> ...78	
a. Isolat dari <i>B. nitida</i> .....	78
b. Isolat dari <i>G. salicornia</i> .....	84

7. Biogenesis Senyawa Hasil Isolasi.....	86
BAB V PENUTUP.....	90
a. Kesimpulan.....	90
b. Saran.....	91
DAFTAR PUSTAKA.....	92
LAMPIRAN.....	107

## DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Senyawa Antibakteri dari Genus <i>Gracilaria</i> .....	16
2. Senyawa Antioksidan dari Genus <i>Gracilaria</i> .....	17
3. Senyawa Antikanker dari Genus <i>Gracilaria</i> .....	18
4. <i>Gracilaria salicornia</i> .....	20
5. Senyawa Metabolit Sekunder <i>G. salicornia</i> .....	24
6. Senyawa Antibakteri dan Antioksidan Dasycladaceae.....	27
7. Senyawa Antikanker dari Family Dasycladaceae.....	30
8. <i>Bornetella nitida</i> .....	32
9. Kerangka Pikir.....	37
10. Peta Lokasi Pengambilan Sampel.....	48
11. Morfologi Makroalga (a) <i>B. nitida</i> (b) <i>G. salicornia</i> (Foto pribadi) .....	49
12. Reaksi Senyawa Alkaloid dengan Reagen Mayer dan Dragendorff...51	
13. Reaksi Senyawa Fenolik dengan ion Fe <sup>3+</sup> .....	51
14. Korelasi Tingkat Kematian Larva Udang <i>A. salina</i> L. terhadap Peningkatan Konsentrasi Ekstrak <i>G. salicornia</i> (a) dan <i>B. nitida</i> (b).....	53
15. Struktur Senyawa 3-hexadecyloxy-1,2-propanediol (1).....	59
16. Struktur Senyawa Kolesterol (2).....	60
17. Struktur Senyawa (3) .....	65
18. Struktur Senyawa Stigmasterol (4) .....	67
19. Struktur Senyawa 14-metil-stigmasterol (5).....	71
20. Struktur Senyawa Asam Behenat (6) .....	73
21. Struktur Senyawa Bis-Floridoside (7).....	74

22. Struktur Senyawa (8).....	78
23. Tumpang Tindih Senyawa Resveratrol Sebelum (hijau tua) dan Sesudah <i>Re-docking</i> (hijau muda), .....	82
24. Visualisasi Interaksi 2 Dimensi Senyawa Resveratrol dan Senyawa (1) dengan Estrogen Receptor- $\alpha$ .....	83
25. Visualisasi Interaksi 2 Dimensi Senyawa (7) dengan Estrogen Receptor- $\alpha$ .....	85
26. Hubungan antara Senyawa yang Diisolasi dari <i>G. salicornia</i> dan <i>B. nitida</i> .....	88
27. Hubungan antara Pembentukan Senyawa (1) dan (7).....	89

## DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Bobot Ekstrak <i>B. nitida</i> dan <i>G. salicornia</i> .....	50
2. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak <i>G. salicornia</i> dan <i>B. nitida</i> .....	52
3. Toksisitas Ekstrak <i>G. salicornia</i> dan <i>B. nitida</i> terhadap Larva Udang <i>A. salina</i> L.....	54
4. Hasil Uji Antibakteri Ekstrak <i>B.nitida</i> dan <i>G. salicornia</i> .....	55
5. Hasil Uji Antioksidan Ekstrak <i>B.nitida</i> dan <i>G. salicornia</i> .....	56
6. Data NMR Senyawa (1) <sup>a</sup> dan 3-heksadesiloksi-1,2-propanediol <sup>b</sup> .....	58
7. Data NMR Senyawa (2) <sup>a</sup> dan Senyawa Kolesterol <sup>b</sup> .....	61
8. Data NMR Senyawa (3) <sup>a</sup> dan Senyawa $\beta$ -sitosterol <sup>b</sup> .....	64
9. Data NMR Senyawa (4) <sup>a</sup> dan Senyawa Stigmasterol <sup>b</sup> .....	68
10. Data NMR Senyawa (5).....	70
11. Data <sup>13</sup> C-NMR dan <sup>1</sup> H-NMR Senyawa (6).....	72
12. Perbandingan Data NMR Senyawa (7) <sup>a</sup> dengan Floridoside <sup>b</sup> .....	75
14. Data NMR Senyawa (8).....	77
15. Bioaktivitas Senyawa yang diisolasi dari Sampel <i>B. nitida</i> .....	79
16. Bioaktivitas Senyawa yang diisolasi dari Sampel <i>G. salicornia</i> .....	84

## DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Bagan Kerja Preparasi Sampel.....	107
2. Bagan Kerja Esktraksi Sampel.....	108
3. Bagan Kerja Uji Aktivitas Antibakteri.....	109
4. Bagan Kerja Uji Aktivitas Antioksidan.....	110
5. Bagan Kerja Uji Toksisitas dengan Metode BSLT.....	112
6. Bagan Kerja Uji Sitotoksisitas.....	115
7. Bagan Kerja Analisis Molecular Docking.....	117
8. Tabel Transformasi Nilai Probit.....	119
9. Hasil Identifikasi Sampel.....	120
10. Bagan Isolasi Senyawa dari Ekstrak n-Heksan <i>B. nitida</i> .....	122
11. Bagan Isolasi Senyawa dari Ekstrak Etil asetat <i>B. nitida</i> .....	123
12. Bagan Isolasi Senyawa dari Ekstrak Metanol <i>B. nitida</i> .....	124
13. Bagan Isolasi Senyawa dari Ekstrak n-Heksan <i>G. salicornia</i> .....	125
14. Bagan Isolasi Senyawa dari Ekstrak Kloroform <i>G. salicornia</i> .....	126
15. Bagan Isolasi Senyawa dari Ekstrak Metanol <i>G. salicornia</i> .....	127
16. Spektrum <sup>1</sup> H-NMR (a) dan <sup>13</sup> C-NMR (b) Senyawa (1).....	128
17. Spektrum FT-IR Senyawa Kolesterol (2).....	129
18. Spektrum <sup>1</sup> H-NMR (a) dan <sup>13</sup> C-NMR (b) Senyawa (2).....	130
19. Spektum FT-IR Senyawa β-sitosteroltetrakosanoat (3).....	131
20. Spektrum <sup>1</sup> H-NMR (a) dan <sup>13</sup> C-NMR (b) Senyawa (3).....	132
21. Spektrum FT-IR Senyawa Stigmasterol (4) .....	133
22. Spektrum <sup>1</sup> H-NMR (a) dan <sup>13</sup> C-NMR (b) Senyawa (4) .....	134
23. Spektrum HMQC (a) dan HMBC (b) Senyawa (4) .....	135
24. Spektrum COSY Senyawa (4) .....	136
25. Spektrum <sup>1</sup> H-NMR (a) dan <sup>13</sup> C-NMR (b) Senyawa (5) .....	137
26. Spektrum HMQC (a) dan HMBC (b) Senyawa (5) .....	138

27. Spektrum COSY Senyawa (5) .....	139
28. Spektrum FT-IR Senyawa Asam Behenat (6) .....	140
29. Spektrum $^1\text{H-NMR}$ (a) dan $^{13}\text{C-NMR}$ (b) Senyawa (6) .....	141
30. Spektrum HSQC (a) dan HMBC (b) Senyawa (6) .....	142
31. Spektrum COSY Senyawa (6) .....	143
32. Spektrum ESI-MS Senyawa (7).. .....	144
33. Spektrum $^1\text{H-NMR}$ (a) dan $^{13}\text{C-NMR}$ (b) Senyawa (7) .....	145
34. Spektrum HMQC (a) dan HMBC (b) Senyawa (7) .....	146
35. Spektrum COSY Senyawa (7) .....	147
36. Spektrum $^1\text{H-NMR}$ (a) dan $^{13}\text{C-NMR}$ (b) Senyawa (8) .....	148
37. Spektrum HSQC (a) dan HMBC (b) Senyawa (8).....	149
38. Spektrum COSY Senyawa (8) .....	150
39. Nama Senyawa berdasarkan Nomor.....	151

## DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN

<b>Istilah/Singkatan</b>	<b>Arti/Keterangan</b>
ABTS	2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid
A375-S2	<i>Human Melanoma Cell Line</i>
A549	<i>Human Lung Adenocarcinoma Cell Line</i>
BM	Berat Molekul
COSY	<i>Homonuclear Correlation Spectroscopy</i>
CYP1	<i>Cytochrome P450 Cell Line</i>
dd	<i>Doublet of Doublet</i>
DIZ	<i>Diameter of Inhibition Zone</i>
DNP	<i>Dictionary of Natural Products</i>
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
ESI-MS	<i>Electron Spray Ionization-Mass Spectrometry</i>
FAO	<i>Food and Agriculture Organization</i>
FRAP	<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>
GLOBOCAN	<i>Global Cancer Observatory</i>
HepG2	<i>Hepatocellular Carcinoma Cell Line</i>
HICs	<i>High-Income Countries</i>
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>
HMQC	<i>Heteronuclear Multiple Quantum Coherence</i>
HSQC	<i>Heteronuclear Single Quantum Coherence</i>
HT29	<i>Colon Cell Line</i>
Hz	Hertz
<i>J</i>	Konstanta Kopling
Ki	Konstanta Inhibisi
LIPi	Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia
<i>m/z</i>	<i>Mass-to-Charge Ratio</i>
MBC	<i>Minimum Bactericide Concentration</i>

MCF-7	<i>Human Breast Cancer Cell Line</i>
MFC	<i>Minimum Fungicide Concentration</i>
MIC	<i>Minimum Inhibitory Concentration</i>
MTT	3-(4,5-dimethyliazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromide
ODS	Octadecylsilyl
PANC-1	<i>Pancreatic Carcinoma Cell Line</i>
ppm	<i>Part per Million</i>
RMSD	<i>Root Mean Square Deviation</i>
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
SGC-7901	<i>Gastric Adenocarcinoma Cell Line</i>
δ	Pergeseran kimia

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### A. Latar Belakang

Kanker merupakan salah satu penyebab kasus kematian tertinggi di dunia (*leading cause of death*) (Bray dkk., 2018). Kasus kematian pada negara dengan tingkat perekonomian yang baik bahkan merupakan yang tertinggi dan telah mengalahkan jumlah kasus penyakit kardiovaskuler (Demarinis, 2020). Berdasarkan data yang dilansir oleh badan *International Agency for Research on Cancer* dalam database *Global Cancer Observatory* (GLOBOCAN), pada tahun 2018 terdapat 9,6 juta (53,04%) kasus kematian dari 18,1 juta orang yang didiagnosis menderita kanker (Bray dkk., 2018). Adanya mutasi genetik pada sel yang memicu terjadi pertumbuhan sel yang tidak normal pada jaringan tubuh merupakan penyebab terbentuknya penyakit ini. Kondisi tersebut disebabkan oleh stres oksidatif yang timbul akibat radikal bebas dan *Reactive Oxygen Species* (ROS) sebagai akibat dari metabolisme tubuh maupun paparan polutan dari luar tubuh (Kusmardika, 2020).

Kanker dapat diobati dengan melakukan kemoterapi, yaitu pengobatan medis internal standar untuk menyembuhkan penderita kanker (Yuan dkk., 2017). Akan tetapi, beberapa kasus terapi kanker telah dilaporkan memberikan dampak terhadap peningkatan kemungkinan pasien untuk mengalami penyakit infeksi, terutama infeksi oleh bakteri (Fujita dkk., 2019).

Fujita dkk. (2016) telah melaporkan adanya infeksi pada pasien terapi kanker paru-paru dengan Nivolumab. Kasus serupa terjadi pada terapi kanker melanoma yang disertai infeksi pada pasien sebanyak 7,3% (del Castilo dkk., 2016). Kasus infeksi ditengarai masih menjadi penyebab morbiditas yang substansial dan kematian pada pasien kanker. Sebanyak 60% kasus kematian dari 140 pasien kanker disertai infeksi yang telah terbukti secara mikrobiologis (Bhat dkk., 2021). Akan tetapi, mekanisme munculnya penyakit infeksi pada pasien terapi kanker belum diketahui secara pasti dan masih ditelusuri lebih lanjut (Belluomini dkk., 2021).

Tantangan lainnya dalam terapi kanker adalah peningkatan kasus resistensi obat. Kasus tersebut telah menjadi masalah yang cukup serius dan mendesak (Ferdous & Yusof, 2020). Sekitar 80-90% kasus kematian dikaitkan dengan resistensi obat pada pasien penderita kanker (Yuan dkk., 2017). Kondisi tersebut dapat menjadi ancaman yang cukup serius jika terus berlangsung karena akan menjadi penghambat dalam terapi kanker dan berbagai macam penyakit lainnya (Jia dkk., 2020). Masalah tersebut menjadi landasan para peneliti melakukan pencarian kandidat senyawa obat baru (Agbaje-Daniels dkk., 2020; Breijyeh dkk., 2020). Agen antikanker multi-target dengan toksisitas rendah dan sensitivitas tinggi diperlukan dalam kasus ini (Dutta dkk., 2019; Ferdous & Yusof, 2020). Banyak studi praklinis dan klinis menunjukkan bahwa antioksidan alami dapat membantu memerangi karsinogenesis dan mengurangi efek buruk pada terapi kanker (Ferdous & Yusof, 2020). Senyawa antioksidan memiliki kemampuan sebagai agen

proteksi yang dapat berperan mencegah stres oksidatif sel. Melalui mekanisme tersebut, senyawa antioksidan dapat digunakan sebagai agen terapi penyakit kanker yang potensial (Kusmardika, 2020).

Senyawa bioaktif yang telah terbukti memiliki aktivitas antioksidan dapat diperoleh dari bahan alam (Yuan dkk., 2017), terutama bahan alam laut (Fernando dkk., 2016). Selain itu, senyawa bioaktif dari bahan alam juga memiliki struktur kimia yang beragam sehingga senyawa tersebut dapat digunakan sebagai sumber senyawa yang efektif dalam mengatasi resistensi obat (Yuan dkk., 2017). Keuntungan lain dari bahan alam adalah tingkat ketersediaan yang tinggi dan kandungan senyawa metabolit sekunder yang memiliki kemiripan sifat dengan senyawa obat (*drug-likeness property*) (Liu dkk., 2019). Senyawa dari bahan alam juga lebih mudah diaplikasikan dan dapat diterima dengan pendekatan terapeutik dengan toksisitas minimum. Berbagai faktor tersebut menjadi alasan mengapa bahan alam termasuk bahan alam laut digunakan sebagai obat tradisional terhadap berbagai penyakit sejak dahulu (Dutta dkk., 2019).

Bahan alam laut memiliki potensi senyawa bioaktif yang sangat menjanjikan untuk pengembangan senyawa obat karena bahan tersebut terbentuk dari habitat yang unik, memiliki struktur senyawa yang beragam dari berbagai jalur biogenesis serta cakupan bioaktivitas yang luas (Liu dkk., 2019). Indonesia sebagai negara dengan garis pantai terpanjang kedua di dunia (sepanjang 95.181 km) memiliki kekayaan bahan alam laut dengan

potensi yang sangat besar (Widowati dkk., 2014). Salah satu komoditas bahan alam laut Indonesia yang potensial adalah makroalga. Berdasarkan laporan *Food and Agriculture Organization* (FAO) pada tahun 2016, Indonesia merupakan salah satu produsen makroalga terbesar di dunia (Buschmann dkk., 2017).

Keanekaragaman makroalga di Indonesia merupakan yang terbesar dibandingkan dengan negara lain (Suparmi & Sahri, 2009). Ekspedisi Sibolga pada tahun 1899-1900 mencatat lebih dari 700 spesies makroalga berada di perairan Indonesia (Pangestuti & Limantara, 2010). Perkembangan terbaru yang dilaporkan oleh LIPI, tercatat 903 spesies dan 268 marga yang terdiri dari phylum Chlorophyta (201 spesies), Phaeophyta (138 spesies), dan Rhodophyta (564 spesies) (Atmadja & Reine, 2014). Potensi ini didukung oleh kondisi perairan Indonesia yang beriklim tropis sehingga sangat cocok untuk pertumbuhan makroalga. Namun demikian, potensi aktivitas farmakologi sebagian besar spesies makroalga belum dieksplorasi secara optimal (Prasedya dkk., 2018).

Makroalga memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang sangat besar dan beragam (Qin, 2018). Senyawa metabolit sekunder makroalga merupakan sumber senyawa antioksidan dan antikanker baru yang potensial. Metabolit sekunder seperti asam fenolik, flavonoid, terpenoid, dan tanin dapat memiliki implikasi terhadap bioaktivitas tersebut dan bioaktivitas lainnya seperti antimikroba, antivirus, antiinflamasi, dan

antidiabetes (Ferdous & Yusof, 2020; Perez-Rodriguez dkk., 2001; Pradhan dkk., 2020). Metabolit sekunder diproduksi oleh makroalga untuk menjaga kelangsungan hidupnya dari induksi lingkungan yang ekstrim seperti paparan cahaya yang rendah, konsentrasi garam yang tinggi, suhu perairan yang bervariasi, dan gangguan organisme lain. Kemampuan adaptasi makroalga dengan relung ekologi yang berbeda tersebut menyebabkan organisme ini tetap eksis dan menjadi salah satu organisme tertua. Hal ini disebabkan oleh produksi metabolit sekunder makroalga yang secara signifikan berbeda dari tanaman darat. Kondisi ini mendorong para peneliti untuk melakukan eksplorasi metabolit sekunder dari makroalga (Qin, 2018; Singh dkk., 2020).

Metabolit sekunder dari makroalga belum sepenuhnya dieksplorasi, hanya sepertiga informasi tentang keragaman metabolit sekunder makroalga yang telah diungkap (Vuong dkk., 2018). Berdasarkan data yang dihimpun oleh *Dictionary of Natural Products* (DNP) (2017), tercatat hanya sebanyak kurang lebih 4.000 senyawa metabolit sekunder yang telah teridentifikasi dari makroalga, masing-masing berasal dari Chlorophyta (633 senyawa), Rhodophyta (1.999 senyawa), dan Phaeophyta (1.487 senyawa). Informasi tersebut masih sangat minim jika melihat banyaknya spesies makroalga yang telah diidentifikasi, yaitu sebanyak kurang lebih 15.000 spesies yang terbagi ke dalam phylum Rhodophyta (7.086 spesies), Chlorophyta (6.379 spesies), dan Phaeophyta (2.046 spesies) (Guiry & Guiry, 2020).

Makroalga yang belum dieksplorasi secara mendalam kandungan

senyawa bioaktifnya antara lain *Bornetella* dan *Gracilaria* (Chakraborty & Antony, 2019; Notarte dkk., 2015), terutama di perairan Indonesia. Beberapa penelitian telah menunjukkan keberadaan senyawa metabolit sekunder yang potensial dalam genus makroalga tersebut. Eksplorasi senyawa metabolit sekunder dan bioaktivitas dari genus *Bornetella* masih sangat terbatas. Sejauh penelusuran yang dilakukan, eksplorasi bioaktivitas dari genus tersebut hanya ditemukan pada spesies *Bornetella oligospora* yang mengandung senyawa terpenoid dan memiliki potensi sebagai antikanker (Notarte dkk., 2015).

Berbeda dengan genus *Bornetella*, eksplorasi metabolit sekunder dari *Gracilaria* terutama yang berada di luar perairan Indonesia sudah cukup banyak serta menunjukkan potensi yang sangat menjanjikan. Metabolit sekunder dari genus *Gracilaria* telah dilaporkan memiliki aktivitas antikanker terhadap sel *human melanoma* (A375-S2) (Sun dkk., 2006), sel *human breast cancer* (MCF-7) (Sheeja dkk., 2016), dan sel HeLa (Dewi dkk., 2018). Potensi tersebut didukung oleh bioaktivitas sebagai antioksidan dengan aktivitas yang lebih baik jika dibandingkan dengan senyawa antioksidan komersial (Makkar & Chakraborty, 2018a). Selain itu, terdapat pula beberapa laporan terkait data antibakteri dengan spektrum aktivitas yang luas oleh isolat maupun ekstrak dari genus tersebut.

Eksplorasi senyawa metabolit sekunder sebagai upaya penelusuran maupun perancangan senyawa obat telah mengalami perkembangan metode yang sangat pesat. Salah satu metode yang saat ini sedang diminati oleh

banyak peneliti adalah metode *molecular docking* (Peng dkk., 2018). *Molecular docking* merupakan salah satu teknik *in silico* yang telah diketahui memainkan peran penting dalam penelusuran senyawa obat (Konappa dkk., 2020). Analisis *molecular docking* menerapkan metode yang inovatif dengan menggabungkan prinsip fisikokimia dengan algoritma perhitungan ilmiah yang kompleks (Gao dkk., 2020). Pendekatan tersebut dapat memberikan gambaran tentang bioaktivitas suatu senyawa (ligan) berdasarkan pada interaksi (Safarizadeh & Garkani-Nejad, 2019) dan energi ikat yang terbentuk (Sathishkumar dkk., 2019). Semakin kecil energi yang terkalkulasi, maka semakin sesuai senyawa tersebut dengan sisi aktif protein target (Aljabal dkk., 2020).

*Molecular docking* dapat digunakan untuk memverifikasi aktivitas suatu senyawa terhadap protein target (Liu dkk., 2020). Penerapan metode ini merupakan salah satu solusi yang sangat efektif dan efisien dalam penelusuran senyawa obat (Lee & Kim, 2019). Jiao dkk. (2021) telah melaporkan peran *molecular docking* dalam percepatan pengembangan senyawa obat berbasis bahan alam. Kontribusi penting lainnya yaitu dapat mengidentifikasi senyawa dengan aktivitas terapeutik yang menjanjikan (Desai dkk., 2019). Meskipun demikian, evaluasi senyawa lebih lanjut baik secara *in vitro* dan atau *in vivo* perlu dilakukan (Chen dkk., 2014).

Berdasarkan uraian tersebut, maka perlu dilakukan isolasi dan elusidasi struktur senyawa metabolit sekunder dari genus *Bornetella* (*Bornetella nitida*) dan *Gracilaria* (*Gracilaria salicornia*). Upaya tersebut

dilakukan untuk pencarian senyawa rujukan obat (*lead compound*) dengan bioaktivitas sebagai antikanker, antioksidan, dan antibakteri secara *in vitro*. Pendekatan secara komputasi dengan metode *molecular docking* dilakukan untuk mengetahui interaksi metabolit sekunder yang berhasil diisolasi dengan protein target.

### **B. Rumusan Masalah**

Berdasarkan uraian latar belakang penelitian ini, maka dapat dibuat rumusan masalah sebagai berikut:

1. bagaimana profil metabolit sekunder ekstrak *G. salicornia* dan *B. nitida*?
2. bagaimana struktur molekul metabolit sekunder yang diisolasi dari *G. salicornia* dan *B. nitida*?
3. bagaimana aktivitas antibakteri, antioksidan serta antikanker dari ekstrak dan isolat *G. salicornia* dan *B. nitida*?
4. bagaimana prediksi interaksi metabolit sekunder *G. salicornia* dan *B. nitida* dengan protein target berdasarkan analisa *molecular docking*?
5. bagaimana jalur biogenesis senyawa metabolit sekunder *G. salicornia* dan *B. nitida*?

### **C. Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. membuat profil metabolit sekunder ekstrak *G. salicornia* dan *B. nitida*,
2. merekonstruksi struktur isolat *G. salicornia* dan *B. nitida*,

3. mengategorikan aktivitas antibakteri, antioksidan serta antikanker dari ekstrak dan isolat *G. salicornia* dan *B. nitida*,
4. menampilkan interaksi metabolit sekunder *G. salicornia* dan *B. nitida* dengan protein target berdasarkan analisa *molecular docking*,
5. mendesain jalur biogenesis isolat *G. salicornia* dan *B. nitida*.

#### **D. Manfaat Penelitian**

Penelitian merupakan salah satu upaya dalam memanfaatkan kekayaan sumber daya alam laut Indonesia yang diharapkan dapat memberikan kontribusi dalam pengembangan senyawa bioaktif potensial untuk industri obat-obatan.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Tinjauan Umum Makroalga**

Makroalga adalah organisme laut yang tidak dapat dibedakan antara akar, batang, dan daunnya, sehingga seluruh tubuhnya disebut *thallus* (Soenardjo, 2011). Makroalga tergolong organisme *eukaryotik* yang sebagian besar ditemukan dalam ekosistem air laut atau air tawar. Secara umum makroalga bersifat fotoautotrofik sehingga memainkan peran penting dalam ekosistem perairan karena berfungsi sebagai sumber nutrisi pada semua tingkatan tropik (Garibay dkk., 2010). Makroalga merupakan salah satu sumber daya berkelanjutan dalam ekosistem laut yang kaya akan kandungan metabolit primer maupun sekunder dengan beragam manfaat dan bioaktivitas (Chauhan & Kature, 2014).

Pemanfaatan makroalga telah dilakukan sejak lama yakni sebagai sumber makanan, pakan ternak, pupuk, produk industri, dan farmasi (Sharmila & Rebecca, 2014). Potensi pengembangan industri farmasi secara khusus telah didukung oleh banyaknya peneliti yang telah mengamati bioaktivitas metabolit sekunder makroalga secara ekstensif (del Val dkk., 2001). Hal ini mengindikasikan bahwa makroalga merupakan salah satu sumber yang potensial untuk penemuan berbagai metabolit sekunder baru seperti terpenoid, phlorotannin, steroid, fenolik, keton terhalogenasi, haloalkana, dan polisulfida siklik (Mtolera & Semesi, 2000). Senyawa tersebut

telah dikembangkan untuk pengobatan penyakit kanker, inflamasi, infeksi virus, bakteri, dan jamur serta inhibitor terhadap beberapa jenis enzim (Chauhan & Kasture, 2014; Ghannadi dkk., 2013).

Kelimpahan makroalga di alam salah satunya dipengaruhi oleh kondisi lingkungan perairan (Han & Liu, 2014; Hurrey dkk., 2013). Umumnya, makroalga hidup di kawasan intertidal yang memiliki variasi faktor lingkungan yang cukup tinggi dibandingkan dengan bagian ekosistem laut yang lain (Satyam & Thiruchitrambalam, 2018). Beberapa faktor lingkungan yang bervariasi tersebut di antaranya seperti suhu, salinitas dan substrat. Karakteristik lingkungan yang berbeda berdampak pada keragaman jenis makroalga yang berada di suatu lingkungan perairan (Cleary dkk., 2016). Keragaman struktur dan komposisi senyawa metabolit sekunder makroalga juga sangat dipengaruhi oleh kondisi geografis termasuk cahaya, suhu, nutrisi, dan salinitas serta interaksi biotik (Stengel dkk., 2011).

Makroalga dibedakan menjadi tiga phylum berdasarkan kandungan pigmen yang terdapat dalam *thallus* yaitu: phylum Chlorophyceae, Rhodophyceae dan Phaeophyceae. Ketiga kelas makroalga tersebut bernilai ekonomis penting karena kandungan senyawa metabolit sekundernya (Soenardjo, 2011).

## **B. Rhodophyta**

Rhodophyta (alga merah) memiliki bentuk morfologi dan warna yang sangat bervariasi, mulai dari warna pink lembut hingga warna merah, ungu

bahkan merah kehitaman. Penampakan warna tersebut ditentukan oleh jenis dan kuantitas pigmen warna yang dimilikinya. Rhodophyta di habitat air laut berwarna pink cerah yang disebabkan oleh pigmen warna phycoerythrin dan phycocyanin, sedangkan Rhodophyta di habitat air tawar berwarna kehijauan. Selain pigmen warna merah, Rhodophyta juga memiliki pigmen warna hijau (klorofil), akan tetapi masih didominasi oleh pigmen warna merah (phycoerythrin dan phycocyanin) (Kim, 2011; Kreischer & Schuttelaar, 2016). Proses dekomposisi spesies Rhodophyta akan menghasilkan perubahan warna spesimen menjadi hijau atau jika terpapar sinar matahari akan berubah warna menjadi coklat atau kuning (Wells, 2007).

Sekitar 6.500 spesies Rhodophyta telah diidentifikasi, secara umum ditemukan di habitat perairan laut dan dalam jumlah kecil ditemukan di habitat air tawar. Umumnya Rhodophyta ditemukan di daerah pasang surut hingga kedalaman 100 meter dibawah permukaan laut (Kim, 2011; Kreischer & Schuttelaar, 2016). Habitat tersebut sejalan dengan kemampuan beberapa spesies Rhodophyta yang lebih baik dalam mengabsorb cahaya berwarna biru dari spektrum cahaya matahari dibandingkan dengan kelas makroalga lainnya. Namun, beberapa spesies juga dapat ditemukan di habitat perairan dangkal. Pertumbuhan Rhodophyta secara umum berlangsung lebih lambat jika dibandingkan dengan Phaeophyta maupun Cholophyta. Kondisi perairan yang hangat sangat cocok untuk pertumbuhan Rhodophyta, terutama di temukan dalam jumlah yang melimpah di negara-negara Asia termasuk Indonesia (Kreischer & Schuttelaar, 2016).

Rhodophyta secara umum dimanfaatkan untuk keperluan bahan konsumsi (Kreischer & Schuttelaar, 2016). Akan tetapi, beberapa tahun terakhir menunjukkan adanya pengembangan metabolit sekunder dari spesies Rhodophyta untuk keperluan industri farmasi dan obat-obatan. Studi literatur menunjukkan bahwa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh Rhodophyta adalah golongan senyawa terpenoid, steroid, acetogenin, senyawa aromatik, dan senyawa terhalogenasi terutama senyawa hasil brominasi (Dayuti, 2018; Kasanah dkk., 2015). Aktivitas farmakologi senyawa tersebut sangat beragam seperti antimikroba, antioksidan, dan antikanker (Dayuti, 2018).

### **1. *Gracilaria***

*Gracilaria* merupakan salah satu genus dalam Rhodophyta yang termasuk dalam kelas Florideophyceae, ordo Gracilariales, dan family Gracilariaceae (Guiry & Guiry, 2020). Florideophyceae merupakan kelas dari Rhodophyta dengan populasi terbanyak, yakni terdiri dari 6.700 spesies (Dawes, 2016). Sebanyak lebih dari 200 spesies dalam genus *Gracilaria* telah diidentifikasi dan memiliki sebaran habitat yang sangat luas yaitu mencakup perairan tropis maupun subtropis (Brodie & Zuccarello, 2007; Dawes, 2016). Menurut Ariani dkk. (2017), secara umum spesies dari genus *Gracilaria* dapat ditemukan pada habitat yang memiliki substrat karang berpasir pada perairan dangkal dengan kondisi perairan yang hangat.

*Gracilaria* merupakan salah satu genus yang kaya akan metabolit

sekunder dan telah terbukti memiliki efek farmakologi terhadap infeksi bakteri dan proses oksidasi sel (antioksidan) (Assaw dkk., 2018). Beragam efek farmakologi lainnya dari senyawa metabolit sekunder yang diisolasi dari genus *Gracilaria* yang telah dilaporkan seperti antijamur, antivirus, dan aktivitas sitotoksik (de Almeida dkk., 2011). Efek farmakologi tersebut berasal dari golongan senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, saponin (Dayuti, 2018), steroid, terpenoid, dan senyawa turunan eicosanoid acid (asam lemak) (Gerwick & Bernart, 1993; Kasanah dkk., 2015). Senyawa bioaktif ini juga dapat digunakan dalam mengobati penyakit gangguan sistem saraf, kardiovaskuler, gangguan sistem peredaran darah, antihipoglikemik, dan agen kontrasepsi (de Almeida dkk., 2011). Berikut ini adalah uraian metabolit sekunder yang telah diisolasi dari genus *Gracilaria* yang dikelompokkan berdasarkan bioaktivitasnya.

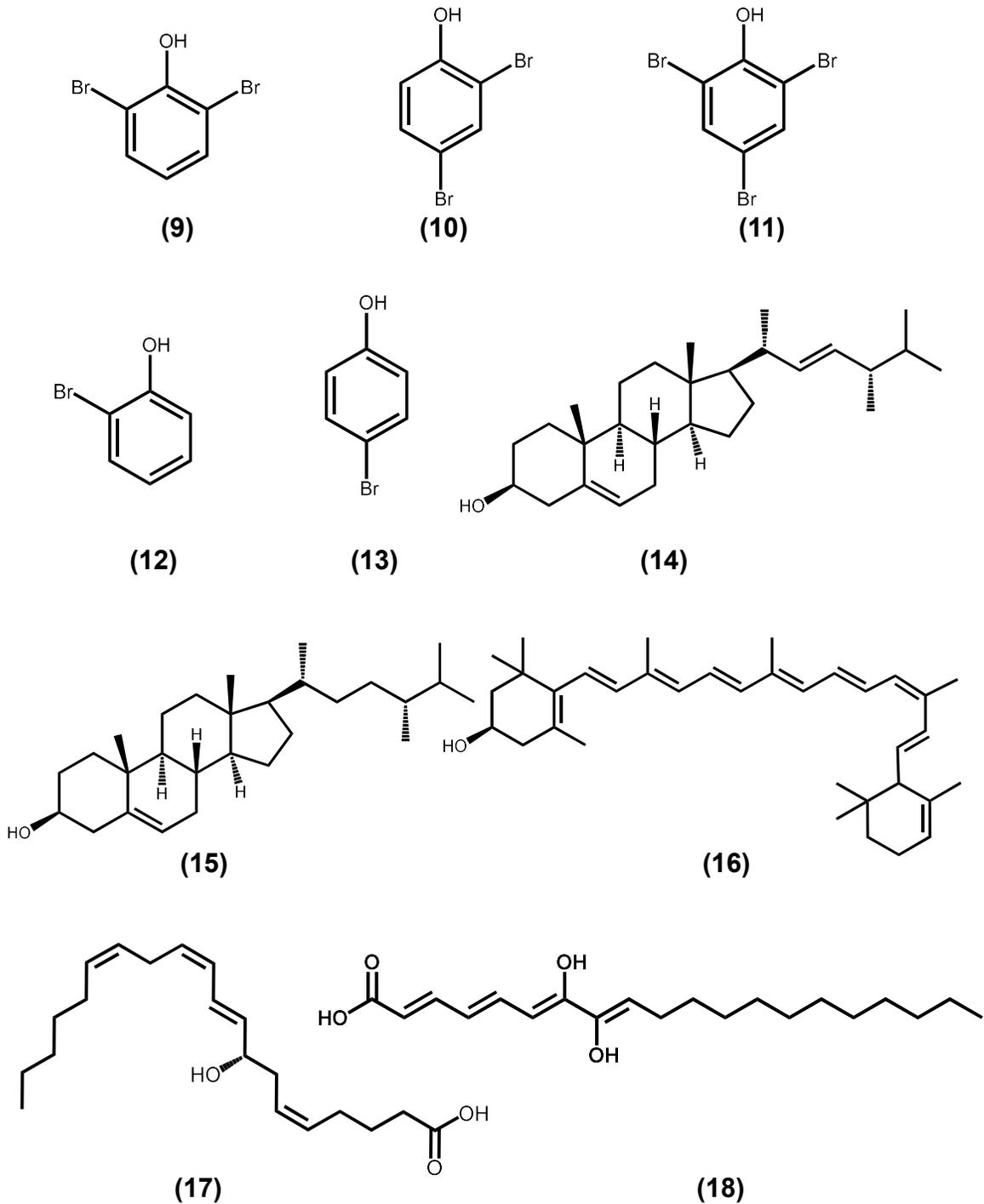
#### **a. Senyawa Antibakteri**

Senyawa fenol terbrominasi atau bromophenol dan turunannya telah diidentifikasi pada beberapa spesies makroalga, secara farmakologi senyawa tersebut memiliki aktivitas sebagai antibakteri, antidiabetes, antioksidan, dan antikanker serta memiliki efek antitrombosit (Liu dkk., 2011; Xu dkk., 2003). Whitfield dkk. (1999) telah mengidentifikasi senyawa bromophenol (**9-13**) dari *Gracilaria edulis* dan *Gracilaria secundata* yang diperoleh dari perairan bagian timur Australia. Senyawa tersebut berperan sebagai pelindung dari infeksi jamur dan bakteri terhadap makroalga tersebut (Whitfield dkk., 1999).

Senyawa golongan steroid (**4**, **14**, **15**) juga telah dilaporkan memiliki bioaktivitas sebagai antibakteri (Gerwick & Bernart, 1993; Kasanah dkk., 2015). Senyawa terpenoid (**16**) telah diidentifikasi sebagai komponen metabolit sekunder *Gracilaria lichenoides* (Aihara & Yamamoto, 1968). Sementara itu, senyawa golongan asam lemak (**17**, **18**) yang diperoleh dari fraksi diklorometana *Gracilaria chilensis* diidentifikasi memainkan peran sebagai agen proteksi pada makroalga tersebut (Puglisi dkk., 2014). Struktur senyawa metabolit sekunder dari genus *Gracilaria* dengan aktivitas sebagai antibakteri dapat dilihat pada Gambar 1.

Selain aktivitas antibakteri dari isolat murni, beberapa laporan penelitian telah menunjukkan aktivitas antibakteri ekstrak beberapa spesies *Gracilaria*. Ekstrak metanol *Gracilaria sp* dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan nilai (*minimum inhibitory concentration*) MIC 0,156 mg.mL<sup>-1</sup> (Assaw dkk., 2018). Ekstrak *Gracilaria corticata* memiliki sifat antibakteri dengan kategori sangat aktif terhadap bakteri gram negatif *Proteus mirabilis* (Kanjana dkk., 2011). Ekstrak *Gracilaria verrucosa* yang mengandung metabolit sekunder golongan flavonoid, alkaloid, dan saponin memiliki daya hambat terhadap *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* (Dayuti, 2018), dan *Candida albicans* (Mubarak dkk., 2018). Ekstrak *Gracilaria multipartita* yang diperoleh dari perairan Jeddah (Saudi Arabia) juga menunjukkan aktivitas antibakteri. Sementara itu, ekstrak petroleum eter dan dietil eter *Gracilaria multipartita* menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap bakteri

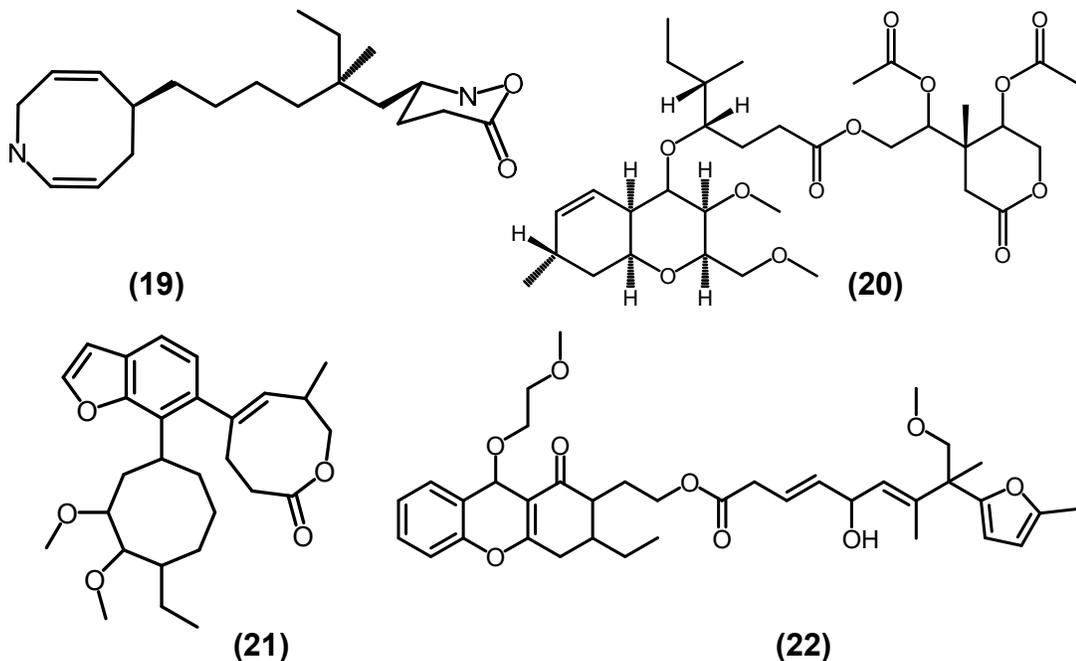
uji dengan MIC secara berturut-turut adalah  $1,25 \mu\text{g.mL}^{-1}$  terhadap *Bacillus subtilis* dan  $2,5 \mu\text{g.mL}^{-1}$  terhadap *Staphylococcus aureus* (Omar dkk., 2012).



**Gambar 1.** Senyawa Antibakteri dari Genus *Gracilaria*

## b. Senyawa Antioksidan

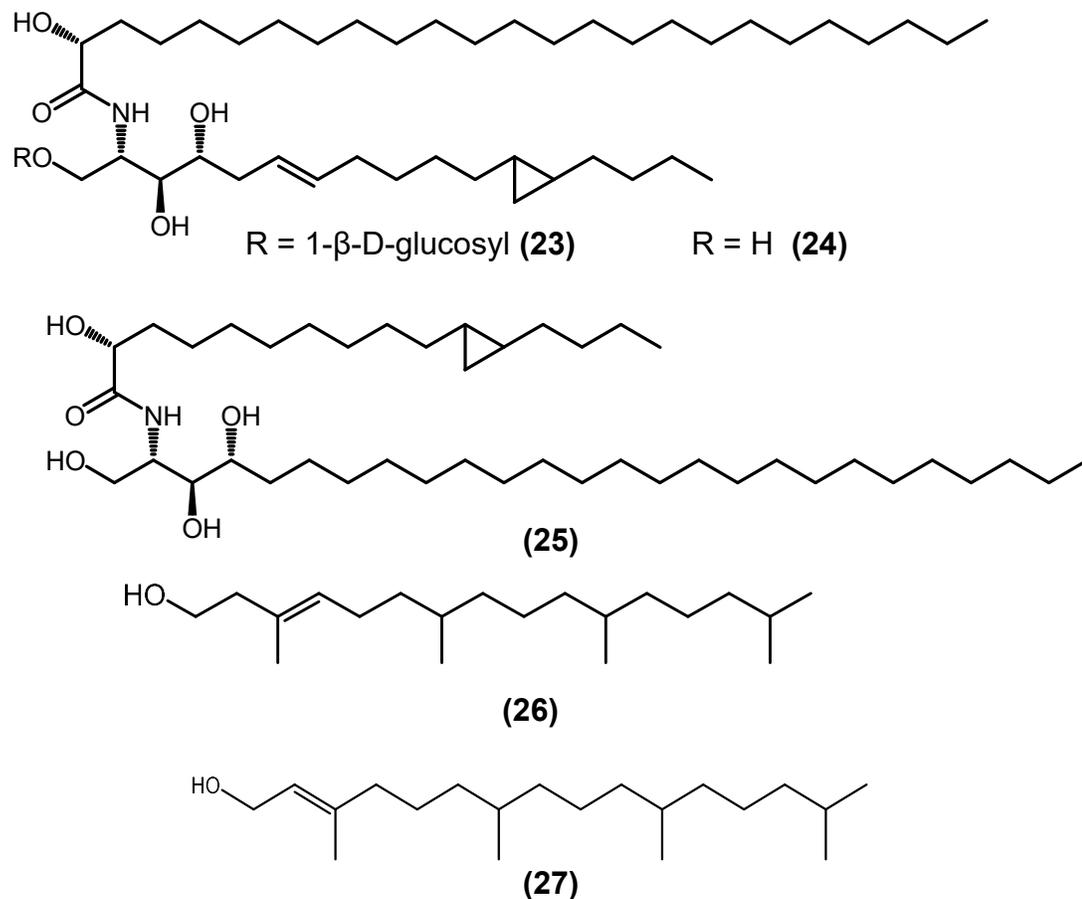
*Gracilaria* merupakan sumber senyawa antioksidan yang cukup potensial, terbukti dari senyawa yang diperoleh pada umumnya memiliki aktivitas yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan senyawa antioksidan komersial (Makkar & Chakraborty, 2018a). Senyawa alkaloid **(19)** (Makkar & Chakraborty, 2018a) serta senyawa **(20-22)** (Makkar & Chakraborty, 2018b) adalah senyawa dengan aktivitas sebagai antioksidan yang telah diisolasi dari ekstrak metanol-etil asetat (metode refluks) *Gracilaria opuntia* yang hidup di perairan teluk Mannar India. Senyawa lainnya yang memiliki potensi antioksidan adalah senyawa bromophenol **(9-13)** dari spesies *G. edulis* dan *G. secundata* (Whitfield dkk., 1999) serta senyawa **(28-40)** dari spesies *G. salicornia* (Chakraborty dkk., 2019). Struktur senyawa dari genus *Gracilaria* dengan aktivitas antioksidan dapat dilihat pada Gambar 2.



**Gambar 2.** Senyawa Antioksidan dari Genus *Gracilaria*

### c. Senyawa Antikanker

Gracilaria telah dilaporkan memiliki senyawa dengan aktivitas sebagai antikanker, struktur senyawa dapat dilihat pada Gambar 3. Senyawa golongan amida (**23-25**) untuk pertama kalinya berhasil diisolasi dari genus *Gracilaria* yaitu *Gracilaria asiatica*. Sun dkk. (2006) mengisolasi senyawa tersebut dari ekstrak metanol *Gracilaria asiatica* yang berasal dari perairan Indonesia. Hasil uji bioaktivitas senyawa tersebut menunjukkan potensi antikanker dengan sitotoksisitas sedang terhadap sel *human melanoma* (A375-S2) (Sun dkk., 2006).



**Gambar 3.** Senyawa Antikanker dari Genus *Gracilaria*

Golongan senyawa lainnya yaitu senyawa diterpenoid (**27**) juga menunjukkan aktivitas antikanker. Aktivitas antikanker senyawa tersebut diuji dengan menggunakan metode MTT terhadap sel *human breast cancer* (MCF-7) dengan  $IC_{50}$  125  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ . Senyawa tersebut diisolasi dari spesies *Gracilaria edulis* (Sheeja dkk., 2016). Senyawa tersebut juga ditemukan pada spesies *Gracilaria foliifera* bersama senyawa diterpenoid lainnya (**26**) (Alarif dkk., 2010). Potensi antikanker juga ditemukan pada ekstrak n-heksana, kloroform, etil asetat, dan etanol *Gracilaria verrucosa* yang menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap sel HeLa dengan nilai  $IC_{50}$  masing-masing ekstrak secara berturut-turut adalah 14,94; 15,74; 16,18; dan 19,43  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ . Data tersebut memberikan gambaran akan potensi senyawa antikanker dari genus *Gracilaria* (Dewi dkk., 2018).

## **2. *Gracilaria salicornia***

*Gracilaria salicornia* memiliki ciri morfologi berupa *thallus* yang berbentuk silindris dengan diameter 0,5-2 mm dan panjang sekitar 6,5 cm, beruas-ruas (biasanya terdiri dari 6 ruas) dengan panjang masing-masing ruas sekitar 1 cm, rimbun, dan hidup soliter. Ruas pada bagian *holdfast* memiliki ukuran yang lebih panjang dan lebih kecil dibandingkan ruas pada ujung *thallus* yang mengalami pembesaran ukuran dengan bentuk yang tumpul. Ikatan antar ruas sangat rapuh sehingga akan patah dengan mudah apabila terhempas gelombang. Umumnya setiap ruas memiliki cabang dengan pola percabangan *dichotomous* (formasi dua-dua) dan *trichotomous* (formasi tiga-tiga). Tekstur permukaan *thallus* licin dengan warna hijau pada ruas

bagian *holdfast* dan warna hijau kekuningan pada bagian ujung. Namun, *thallus* akan mengalami perubahan warna menjadi lebih gelap apabila telah dikeringkan (Atmadja dkk., 1996; Iyer dkk., 2004). Visualisasi morfologi *thallus* *G. salicornia* dapat dilihat pada Gambar 4.

Rhodophyta pada umumnya yang berwarna merah namun, spesies *G. salicornia* justru memiliki *thallus* berwarna hijau. Warna hijau tersebut disebabkan oleh dominasi pigmen klorofil terhadap pigmen warna merah (phycoerythrin). Hal ini disebabkan karena habitatnya berada pada perairan dangkal yang memiliki intensitas cahaya matahari yang tinggi (Atmadja dkk., 1996; Iyer dkk., 2004). Menurut Shobir dkk. (2019), habitat *G. salicornia* berada pada daerah rata-rata terumbu karang dengan substrat berupa batu kerikil. Distribusi geografis spesies ini dapat ditemukan pada beberapa lokasi perairan seperti: Samudera Hindia; Asia (Cina, Jepang, Malaysia, Filipina, Taiwan, Thailand, Singapura, Vietnam); Australia (Papua Nugini), dan Samudera Pasifik (Mariana, Mikronesia, Fiji, Guam, Hawaii, Pulau Solomon) (Pereira, 2016; Sakthivel & Devi, 2014).



**Gambar 4.** *Gracilaria salicornia* (Guiry & Guiry, 2020)

Taksonomi makroalga *G. salicornia* (Guiry & Guiry, 2020)

Kingdom : Plantae  
Phylum : Rhodophyta  
Class : Florideophyceae  
Order : Gracilariales  
Family : Gracilariaceae  
Genus : *Gracilaria*  
Spesies : *Gracilaria salicornia*

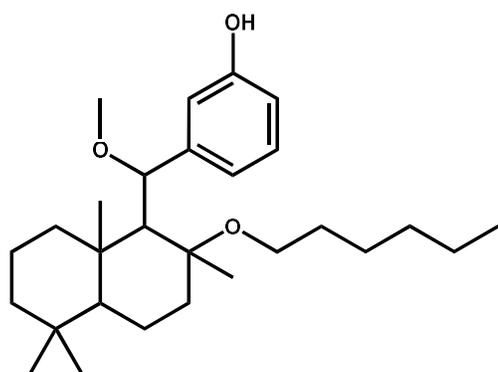
Berdasarkan studi literatur, diketahui bahwa *G. salicornia* memiliki metabolit sekunder yang telah diisolasi dan ditentukan strukturnya. Senyawa yang berhasil diisolasi dari ekstrak metanol-etil asetat *G. salicornia* yang hidup di perairan teluk Mannar India adalah seskuiterpen bisiklik **(20-30)** (Chakraborty dkk., 2019), senyawa dengan kerangka spiro **(31, 33)** (Chakraborty & Antony, 2019), diterpenoid **(33)** (Antony & Chakraborty, 2018), makrolida **(34-36)** (Chakraborty & Antony, 2020), dan chromene **(37, 38)** (Antony & Chakraborty, 2019). Senyawa lainnya yang juga diisolasi dari sampel *G. salicornia* pada lokasi yang sama dari ekstrak metanol adalah senyawa polieter triterpenoid **(39, 40)** (Antony & Chakraborty, 2020). Sementara itu, golongan senyawa sterol **(2, 4, 41, 42)** dan asam lemak **(43)** diisolasi dari sampel makroalga yang diperoleh dari teluk Persia (Nasir dkk., 2011).

Senyawa **(28-30)** merupakan yang memiliki potensial yang kuat sebagai agen antiinflamasi sekaligus sebagai antioksidan (Chakraborty dkk.,

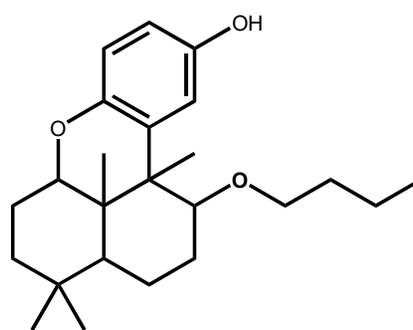
2019). Aktivitas dengan kategori serupa juga telah dilaporkan pada senyawa **(31-40)** (Chakraborty & Antony, 2020; Antony & Chakraborty, 2019; Antony & Chakraborty, 2020). Potensi tersebut terlihat dari kemampuannya dalam meredam senyawa radikal bebas (DPPH dan ABTS) maupun dalam menghambat aktivitas enzim pro-inflammatory (Chakraborty dkk., 2019; Antony & Chakraborty, 2020). Struktur senyawa metabolit sekunder dari *G. salicornia* ditunjukkan pada Gambar 5.

Potensi bioaktivitas lainnya juga telah dilaporkan dari ekstrak *G. salicornia*. Ekstrak air *G. salicornia* yang diambil dari perairan teluk Persia menunjukkan aktivitas antivirus terhadap herpes simplex tipe 2 (Zandi dkk., 2007). Ekstrak *G. salicornia* yang diambil di perairan Kepulauan Qeshm (Iran) memiliki aktivitas penghambatan terhadap *Aeromonas hydrophila* (Rasooli dkk., 2015). Ekstrak etanol *G. salicornia* yang diperoleh dari pantai Kaimana (USA) juga menunjukkan aktivitas antibakteri sekaligus antioksidan (Vijayavel & Martinez, 2010).

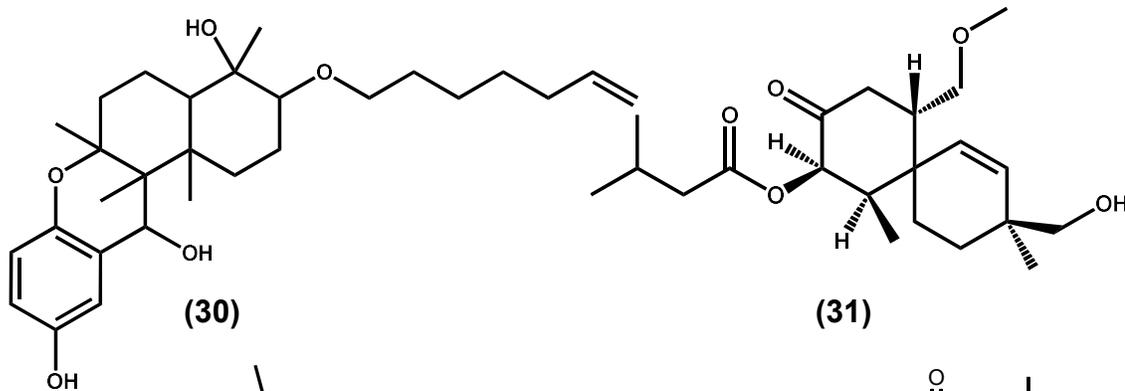
Beberapa laporan juga telah menunjukkan adanya aktivitas pada ekstrak *G. salicornia*. Potensi tersebut telah teridentifikasi pada ekstrak etil asetat *G. salicornia* (dari teluk Persia) dengan toksisitas kategori toksik ( $LC_{50}$  3  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ). Potensi lainnya dalam penelitian yang sama telah dilaporkan sebagai antibakteri. Ekstrak yang sama menunjukkan aktivitas antibakteri kategori sedang dengan MIC 2  $\text{mg.mL}^{-1}$  terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (Saeidnia dkk., 2009).



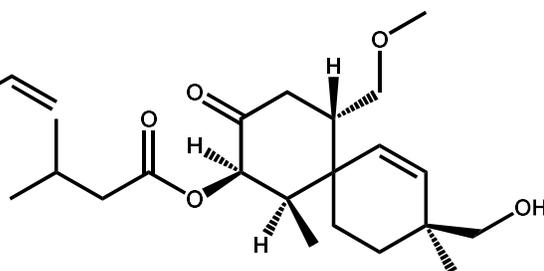
(28)



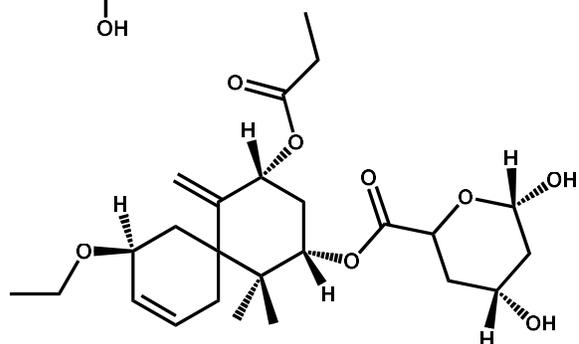
(29)



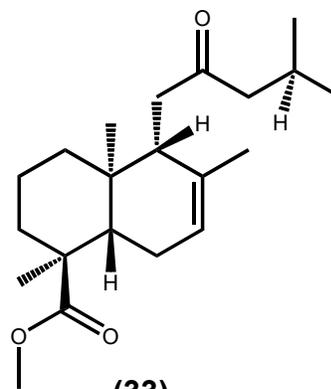
(30)



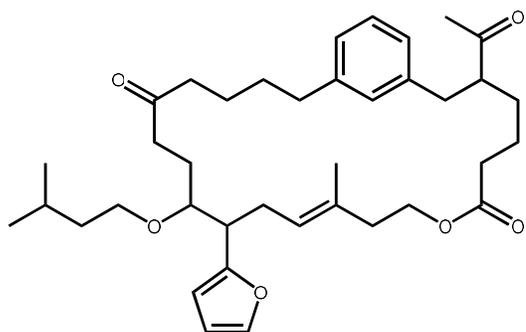
(31)



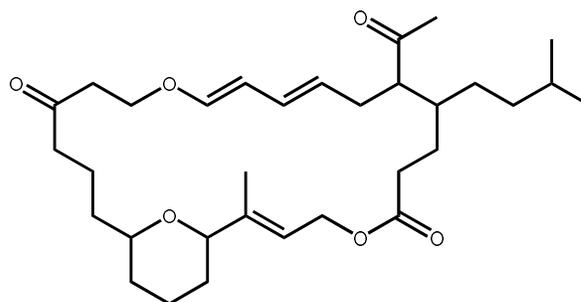
(32)



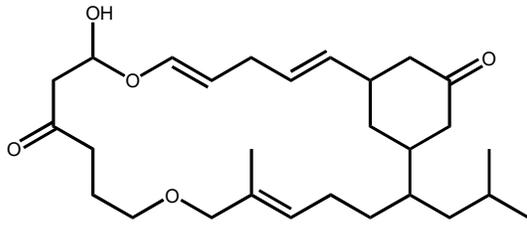
(33)



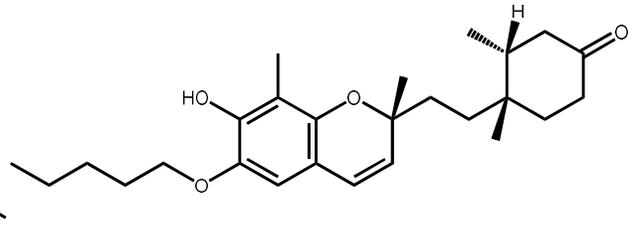
(34)



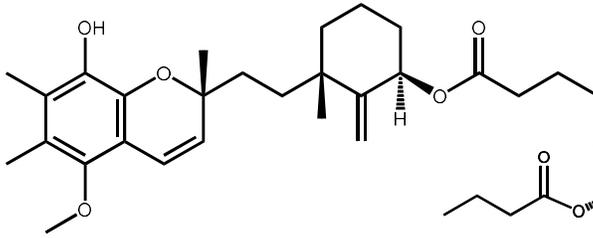
(35)



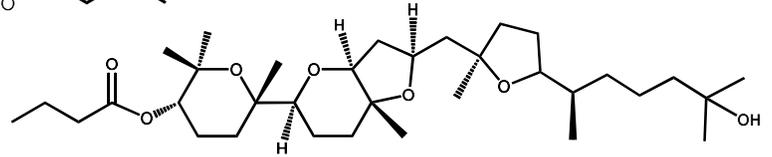
(36)



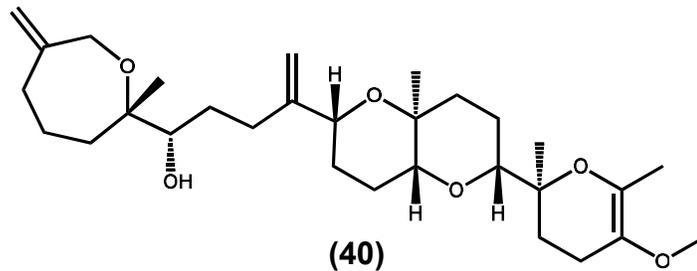
(37)



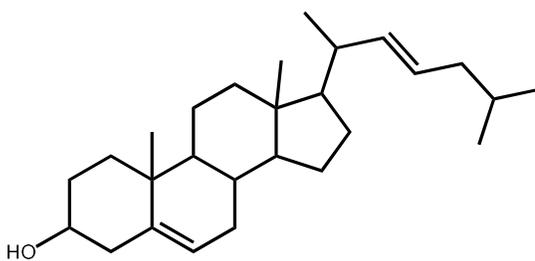
(38)



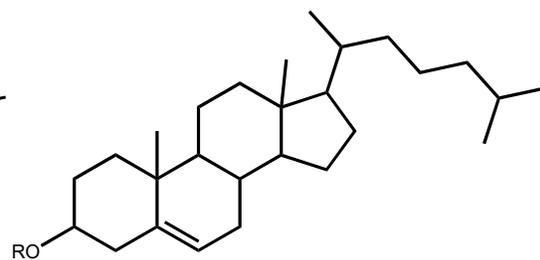
(39)



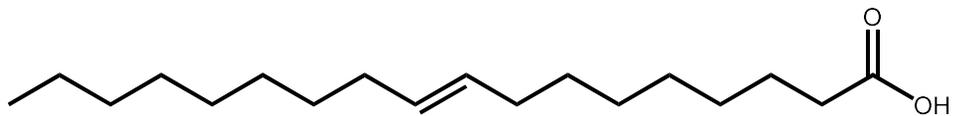
(40)



(41)



(42)



(43)

**Gambar 5.** Struktur Senyawa Metabolit Sekunder *G. salicornia*

## C. Chlorophyta

Chlorophyta adalah kelompok makroalga dengan pigmen warna hijau (klorofil) pada tubuhnya. Chlorophyta mengandung pigmen fotosintesis yang sama dengan tumbuhan darat, yaitu klorofil a dan b. Kelompok makroalga tersebut ditemukan sebagai organisme uniseluler dan multiseluler yang terdiri dari kurang lebih 2.000 spesies. Umumnya Chlorophyta hidup di air laut dan sebagian kecil dapat ditemukan pada air tawar. Organisme tersebut dapat hidup sepanjang garis pantai yang kaya akan kandungan nutrisi seperti fosfat dan nitrat (Kreischer & Schuttelaar, 2016).

Seperti halnya Rhodophyta, Chlorophyta diketahui kaya akan kandungan metabolit sekunder golongan fenolik. Senyawa golongan fenolik tersebut diantaranya adalah bromofenol, flavonoid, dan asam fenolat (Gómez-Guzmán dkk., 2018; Wells dkk., 2017). Potensi ini menjadikan Chlorophyta sebagai sumber antioksidan alami yang potensial dan menjanjikan sebagai agen terapi kanker, inflamasi, dan obesitas (Sivaramakrishnan dkk., 2017).

### 1. Dasycladales

Dasycladales adalah salah satu ordo dalam Chlorophyta yang terdiri dari 2 family, 11 genus, dan 44 spesies. Ciri khas dari ordo Dasycladales yang dengan mudah dapat dikenali adalah *thallus* yang berbentuk radial simetris, sesil, bercabang atau anastomosis dan memiliki *holdfast* dengan fungsi seperti akar. Seluruh atau sebagian dari *thallus* ditutupi oleh mantel yang tersusun dari kalsium karbonat. Organ reproduksi (kista) terdapat di

dalam batang atau di dalam lateral atau diantaranya (Bahari dkk., 2020; Ohba dkk., 2017; Valet, 1969).

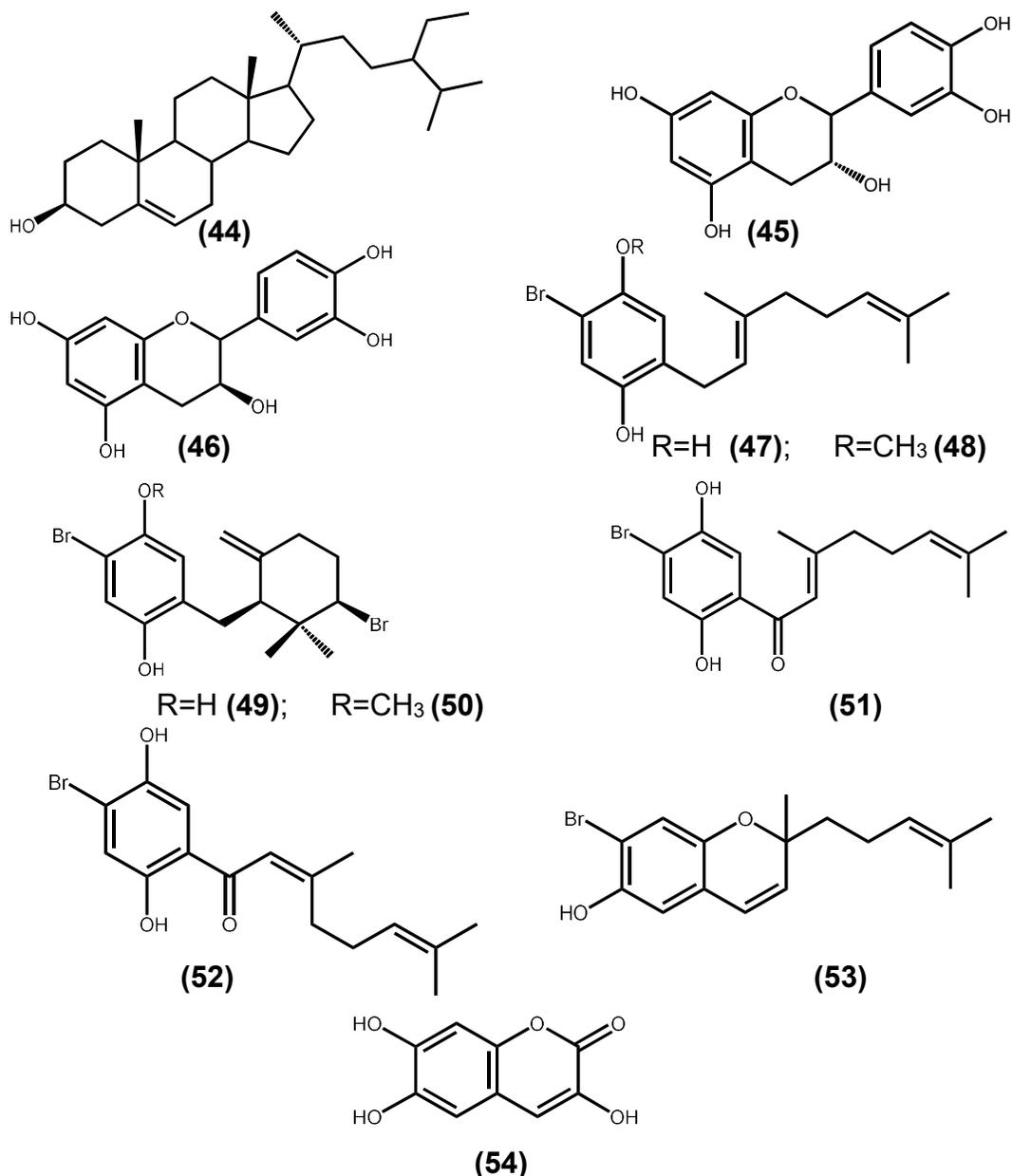
Habitat alamiah Dasycladales yaitu pada perairan yang jernih dengan kedalaman 10-12 meter, suhu sedang hingga hangat (antara 20-28 °C). Namun, beberapa spesies seperti *Bornetella sphaerica* dapat tumbuh pada perairan tropis dengan suhu yang lebih tinggi (Berger dkk., 1997; Ohba dkk., 2017). Sebaran populasi Dasycladales secara umum ditemukan pada daerah pantai berpasir atau berlumpur di sekitar zona pasang surut (intertidal/litoral) atau pada daerah parit laut (laguna dangkal) (Berger dkk., 1997; Ohba dkk., 2017). Dasycladales memiliki kemampuan yang unik yaitu mampu beradaptasi terhadap berbagai kondisi salinitas perairan (*euryhaline*) (Bahari dkk., 2020).

Kajian tentang metabolit sekunder dan bioaktivitas dari family Dasycladaceae umumnya ditemukan pada *Acetabularia*, *Cymopolia*, *Dasycladus*, dan *Neomeris*. Laporan bioaktivitas yang telah ditelusuri yaitu sebagai antibakteri, antioksidan, dan antikanker. Berikut ini merupakan uraian metabolit sekunder dari family Dasycladaceae yang dikelompokkan berdasarkan bioaktivitasnya.

#### **a. Senyawa Antibakteri**

Senyawa antibakteri yang telah diisolasi dari family Dasycladaceae merupakan senyawa golongan steroid, flavonoid, dan fenolik. Senyawa golongan steroid (**44**) telah diisolasi dari *Acetabularia caliculus* (Dahmen dkk., 2017). Senyawa tersebut memiliki aktivitas daya hambat terhadap berbagai

jenis bakteri dan jamur dengan diameter zona bening berkisar antara 26-34 mm. Nilai MIC senyawa tersebut terhadap bakteri uji berkisar antara 12,5-25  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  dan nilai *minimum bactericide concentration* (MBC) berkisar antara 25-100  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  serta nilai *minimum fungicide concentration* (MFC) sebesar 50  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  terhadap *Candida krusei* (Odiba dkk., 2014).



**Gambar 6.** Senyawa Antibakteri dan Antioksidan dari Dasycladaceae

Senyawa antibakteri dari genus *Acetabulaira* juga telah dilaporkan pada spesies lainnya. Spesies *Acetabularia ryukyuensis* diidentifikasi mengandung senyawa golongan flavonoid **(45, 46)** (Yoshie dkk., 2000). Senyawa tersebut telah dilaporkan memiliki efek penghambatan terhadap *Salmonella sp* (Cetin-Karaca & Newman, 2015; Urbanaviciute dkk., 2020).

Senyawa bromohydroquinone terprenilasi **(47-53)** diisolasi dari *Cymopolia barbata* yang hidup di perairan Bermuda memiliki potensi sebagai antibiotik dan anti jamur (Hogberg & Thornson, 1976; Mcconnell dkk., 1982). Sementara itu, senyawa coumarin **(54)** diperoleh dari *Dasycladus vermicularis* juga menunjukkan aktivitas antibakteri. Senyawa golongan fenolik tersebut juga telah dilaporkan penemuannya pada anggota Dasycladaceae lainnya yaitu *Cymopolia barbata* dan *Batophora oerstedii* (Menzel dkk., 1983). Keseluruhan struktur yang telah diuraikan dapat dilihat pada Gambar 6.

#### **b. Senyawa Antioksidan**

Senyawa dengan aktivitas antioksidan umumnya ditunjukkan oleh golongan flavonoid dan fenolik. Senyawa antioksidan dari Dasycladaceae ditemukan pada golongan senyawa flavonoid **(45, 46)** yang diisolasi dari *Acetabularia ryukyuensis* (Yoshie dkk., 2000). Sementara itu, golongan senyawa fenolik berupa bromohydroquinone terprenilasi **(47-53)** telah teridentifikasi pada spesies *Cymopolia barbata*, namun belum ada laporan aktivitas antioksidan dari senyawa tersebut (Hogberg & Thornson, 1976; Mcconnell dkk., 1982). Senyawa fenolik lainnya **(54)** ditemukan dari

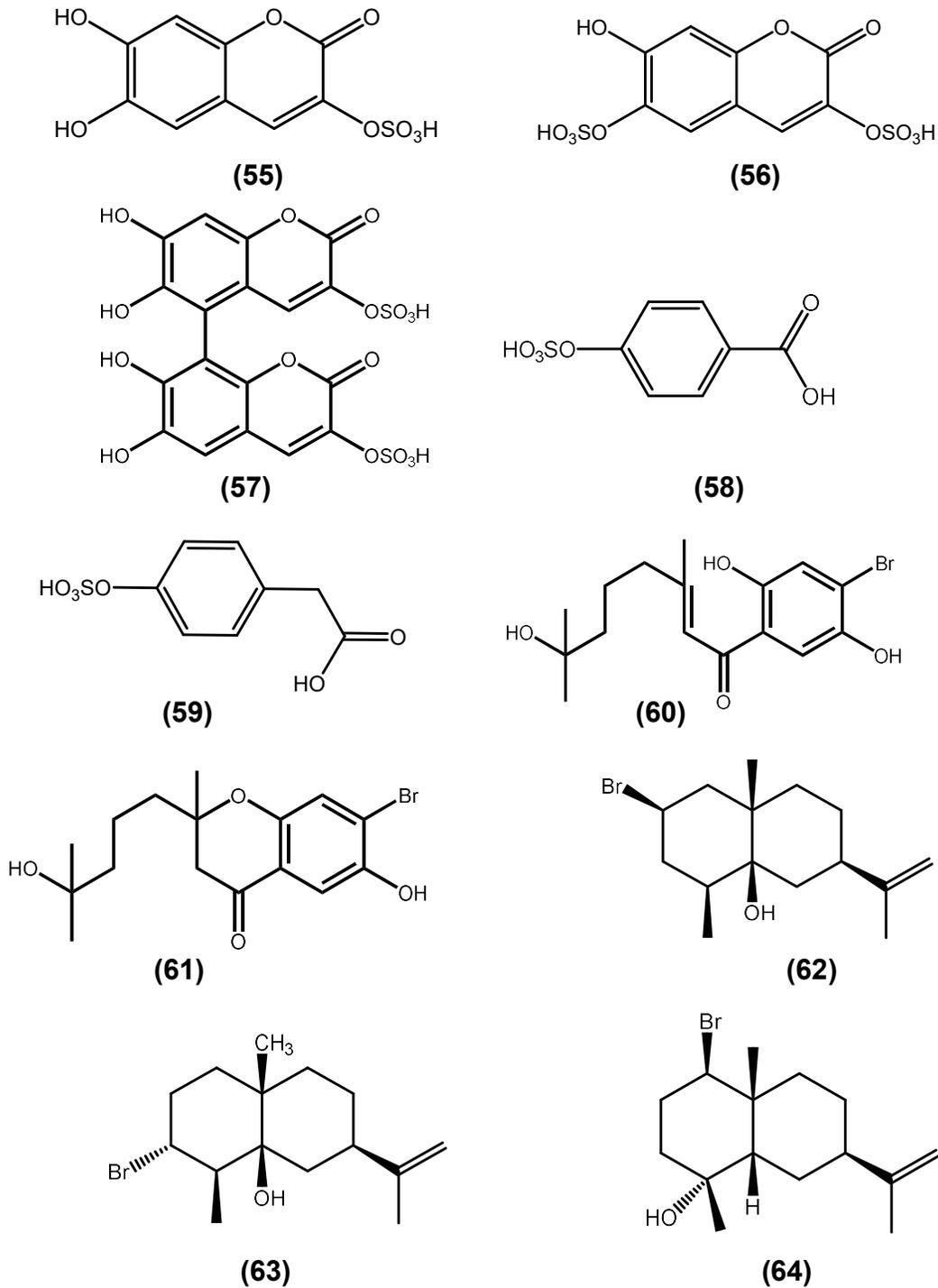
*Dasycladus vermicularis* dengan aktivitas antioksidan yang setara dengan asam askorbat (Perez-Rodriguez dkk., 2001; Pérez-Rodríguez dkk., 2003). Sementara itu, pada ekstrak metanol *Acetabularia acetabulum* memiliki aktivitas antioksidan sebesar 25,34 mg.g<sup>-1</sup> (uji DPPH), 12,38 mg.g<sup>-1</sup> (uji ABTS) dan 156,21 µg.g<sup>-1</sup> (uji FRAP) dengan kandungan total fenolik 3,12 mgGAE.g<sup>-1</sup>, flavonoid 7,15 mgRE.g<sup>-1</sup> dan karotenoid 36,02 µg.g<sup>-1</sup> (Sivaramakrishnan dkk., 2017).

### c. Senyawa Antikanker

Spesies *Acetabularia caliculus* diidentifikasi memiliki beberapa jenis komponen metabolit sekunder golongan steroid (Dahmen dkk., 2017). Salah satu diantaranya yaitu β-sitosterol (**44**) yang dilaporkan memiliki aktivitas antitumor sekaligus sebagai *antihyperlipidemic* (Iyer & Patil, 2012). Dasycladaceae (*Dasycladus vermicularis*, *Cymopolia barbata*, dan *Neomeris annulata*) juga mengandung senyawa coumarin (**54**) dan coumarin tersubstitusi gugus sulfat (**55-59**) (Kurth dkk., 2015). Laporan bioaktivitas dari senyawa tersebut hanya ditemukan pada senyawa (**54**) yaitu sebagai antibakteri (Hartmann dkk., 2018).

Hasil penelusuran literatur menunjukkan bahwa senyawa dengan struktur dasar coumarin (benzo-α-pyrone) memiliki potensi bioaktivitas yang sangat luas. Morsy dkk. (2017) telah melaporkan potensi aktivitas antikanker senyawa hasil modifikasi dari senyawa coumarin terhadap sel *breast carcinoma* (MCF-7) dan sel *hepatocellular carcinoma* (HePG-2). Senyawa

coumarin dan turunannya memiliki aktivitas sebagai antikanker (Zhang dkk., 2019), antioksidan dan antibakteri (Hu dkk., 2018; Ristić dkk., 2019).



**Gambar 7.** Senyawa Antikanker dari Family Dasycladaceae

Selain senyawa dengan struktur coumarin beserta turunannya, senyawa bromohydroquinone terprenilasi (**60, 61**) juga ditemukan sebagai komponen metabolit sekunder *Cymopolia barbata*. Senyawa tersebut menunjukkan aktivitas terhadap sel *colon* (HT29) dan inhibitor enzim *cytochrome* P450 (CYP1) (Badal dkk., 2012). Senyawa dengan aktivitas antikanker lainnya adalah senyawa sesquiterpen terbrominasi (**62-64**). Senyawa tersebut diisolasi dari spesies *Neomeris annulata* (dari perairan Onon Guam) yang juga memiliki bioaktivitas sebagai agen protektif dari herbivora (*Scarus schlegeli*) (Lumbang & Paul, 1996; Paul dkk., 1993). Senyawa tersebut termasuk sering ditemukan pada alga hijau terutama pada genus *Laurencia*. Senyawa terhalogenasi seperti sesquiterpen terbrominasi memiliki aktivitas yang luas seperti efek toksisitas, antikanker, antibakteri, dan antioksidan (Durán dkk., 2020; Mao & Guo, 2010; Sun dkk., 2005). Struktur senyawa dengan aktivitas antikanker yang diperoleh dari family Dasycladaceae dapat dilihat pada Gambar 7.

## **2. *Bornetella nitida***

*Bornetella* merupakan salah satu Chlorophyta yang termasuk ordo Dasycladales dalam kelas Ulvophyceae (Ohba dkk., 2017). Ciri morfologi *Bornetella nitida* yaitu memiliki *thallus* berbentuk silinder dengan diameter yang semakin melebar pada ujung *thallus*. Makroalga tersebut memiliki korteks dengan bentuk persegi. Morfologi *Bornetella nitida* dapat dilihat pada Gambar 8



**Gambar 8.** *Bornetella nitida* (Guiry & Guiry, 2020)

Taksonomi makroalga *Bornetella nitida* (Guiry & Guiry, 2020)

Kingdom : Plantae  
Phylum : Chlorophyta  
Class : Ulvophyceae  
Order : Dasycladales  
Family : Dasycladaceae  
Genus : *Bornetella*  
Spesies : *Bornetella nitida*

*Bornetella nitida* melekat pada substrat melalui *rhizoid* yang bercabang (Berger dkk., 1997). Umumnya melekat pada substrat seperti karang mati dan batuan, terutama batuan karbonat dan silika (Ohba dkk., 2017) yang terlindungi dari gelombang (Valet, 1979). *Bornetella* hanya dapat ditemukan pada perairan Indo-Pasifik dan belum pernah dilaporkan penemuannya di perairan Mediterania maupun samudra Atlantik (Berger & Kaeffer, 1992).

Uraian metabolit sekunder genus *Bornetella* masih sangat terbatas, hal ini disebabkan oleh minimnya penelitian terhadap organisme dari genus

tersebut. Penelitian yang dilakukan oleh Notarte dkk. (2015) menunjukkan bahwa fraksi kloroform *Bornetella* memiliki potensi sebagai agen kemoterapi. Hingga proposal ini disusun, laporan tersebut merupakan satu-satunya data yang memuat informasi tentang potensi bioaktivitas spesies *Bornetella*. Namun, penelusuran metabolit sekunder dalam tingkatan taksonomi yang lebih tinggi dapat dilakukan sebagai upaya untuk mengungkap golongan metabolit sekunder yang mungkin ditemukan. Hal ini berkaitan dengan *chemotaxonomy* yang berlaku secara umum pada organisme. Organisme dalam golongan genus ataupun family yang sama cenderung akan memiliki kemiripan profil metabolit sekunder (Giner dkk., 2009; Oppong dkk., 2020). Uraian tersebut telah disajikan dalam sub bab sebelumnya.

#### **D. Molecular Docking**

*Molecular docking* adalah metode komputasi (*in silico*) yang dapat digunakan untuk memprediksi pengikatan senyawa (ligan) pada reseptor tertentu (protein target) (Abu dkk., 2018). Metode ini dapat menunjukkan interaksi pada tingkat atom dan mengidentifikasi orientasi antara ligan dan protein target (Murugavel dkk., 2018). Interaksi senyawa (ligan) dengan protein target mengacu pada pencarian konformasi ligan yang akurat dalam pada sisi aktif protein yang ditargetkan (Chen dkk., 2014). Konformasi ligan yang stabil akan terbentuk pada orientasi ikatan yang memiliki energi yang paling rendah (Liu dkk., 2020), hal ini merupakan parameter utama dalam metode ini. Orientasi dengan energi ikat di bawah  $-5,0 \text{ kkal.mol}^{-1}$  dapat

dianggap sebagai interaksi yang optimum (Yin dkk., 2019). Selain energi bebas ikatan, konstanta inhibisi (Ki) juga merupakan parameter lain yang dapat ditentukan melalui *molecular docking* (Wan dkk., 2020).

Saat ini, *molecular docking* merupakan metode yang efektif dan murah untuk merancang dan menguji senyawa obat (Lee & Kim, 2019). Metode ini dapat membantu industri untuk fokus pada senyawa dengan potensi tinggi terhadap target tertentu (Gao dkk., 2020). Meskipun penambatan molekuler (*molecular docking*) adalah proses alami yang terjadi di dalam sel, tetapi secara komputasi istilah *molecular docking* mengacu pada suatu metode untuk menyelidiki bagaimana dua atau lebih struktur molekul saling berinteraksi (Lengauer & Rareyt, 1996). Metode ini akan mengeksplorasi konformasi ligan pada sisi aktif target makromolekul dan memperkirakan energi bebas ikatan dengan menilai fenomena yang terlibat dalam proses interaksi antarmolekul (Abu dkk., 2018).

Keberhasilan proses *molecular docking* dapat diuji dengan melakukan validasi parameter *docking*. Validasi atau uji akurasi metode *docking* dapat dilakukan dengan membandingkan hasil *re-docking* (*docking* ligan *native* dengan reseptornya) terhadap struktur kristalnya. Hasil dari perbandingan tersebut dinyatakan dengan nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD). Nilai RMSD kurang dari 2 Å menunjukkan hasil *docking* dapat diterima atau valid (Ye dkk., 2021).

## E. Kerangka Pikir dan Hipotesis

### 1. Kerangka Pikir

Kanker merupakan salah satu penyakit dengan tingkat kematian yang cukup tinggi (*leading cause of death*). Terjadinya mutasi genetik yang memicu pertumbuhan sel tidak normal pada jaringan tubuh merupakan penyebab terbentuknya penyakit tersebut. Kondisi ini disebabkan oleh stres oksidatif yang timbul akibat radikal bebas terutama ROS sebagai akibat dari metabolisme tubuh maupun paparan polutan dari luar tubuh. Kemoterapi adalah salah satu pengobatan yang dapat dilakukan untuk mengobati penyakit tersebut. Akan tetapi, beberapa kasus menunjukkan tingginya kematian akibat infeksi bakteri pada proses kemoterapi penderita kanker. Selain itu, tingginya kasus resistensi obat dapat menjadi hambatan yang sangat serius dalam kasus ini, baik resistensi pada obat kanker maupun antibiotik.

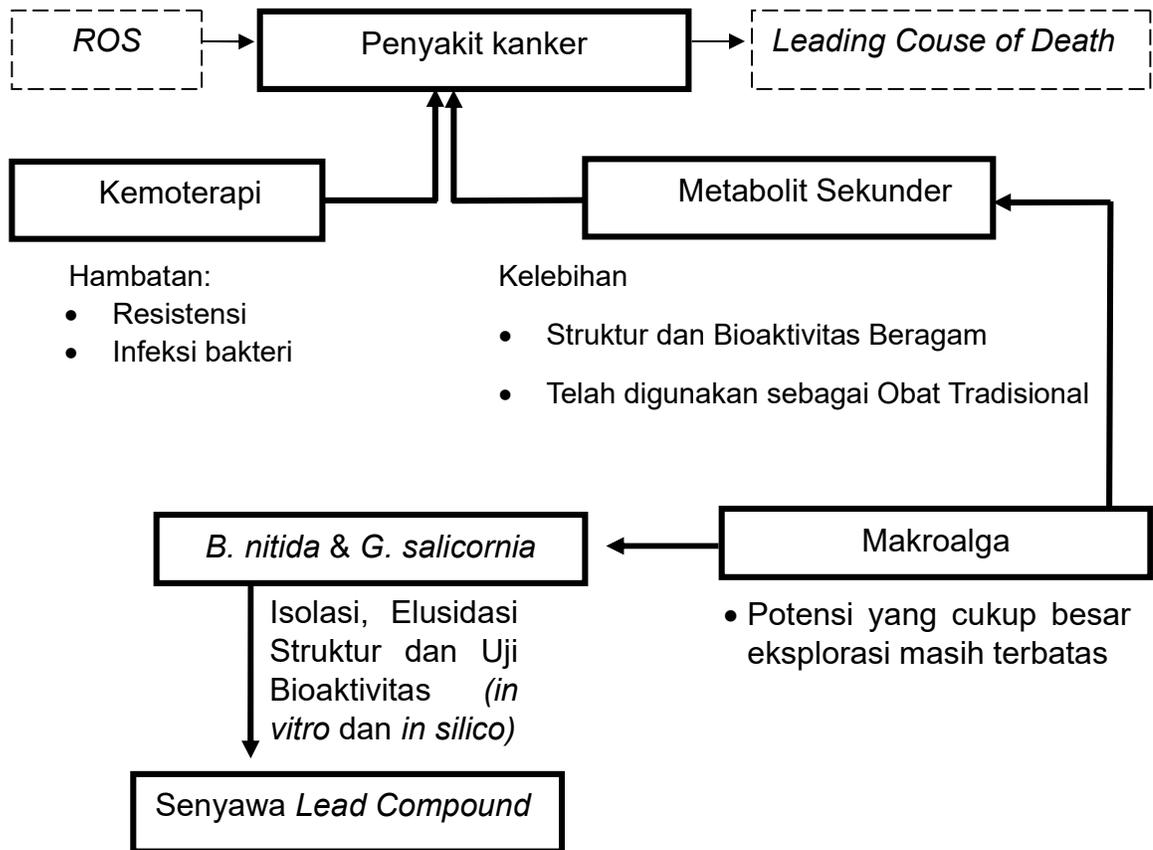
Pencarian senyawa obat antikanker multi-target dengan toksisitas rendah dan sensitivitas tinggi diperlukan dalam kasus ini. Senyawa metabolit sekunder terutama senyawa dengan aktivitas antioksidan telah terbukti secara klinis dapat berperan sebagai agen proteksi yang dapat mencegah stres oksidatif sel dan membantu menurunkan karsinogenisitas dan efek buruk pada terapi kanker. Senyawa metabolit sekunder dari bahan alam terutama bahan alam laut merupakan sumber senyawa dengan kriteria tersebut. Hal ini disebabkan oleh keragaman struktur dan bioaktivitas

senyawa bioaktifnya. Selain itu, bahan alam laut memiliki tingkat ketersediaan yang tinggi dan mengandung senyawa metabolit sekunder yang memiliki kemiripan sifat dengan senyawa obat (*drug-likeness property*).

Makroalga merupakan salah satu bahan alam laut dengan kandungan senyawa metabolit sekunder terbesar dan sangat beragam. Senyawa metabolit sekunder makroalga merupakan sumber senyawa antioksidan dan antikanker baru yang potensial. Metabolit sekunder seperti asam fenolik, flavonoid, terpenoid, dan tanin dapat memiliki implikasi terhadap bioaktivitas tersebut dan beragam bioaktivitas lainnya. Potensi tersebut telah dimanfaatkan sejak dahulu sebagai salah satu alternatif obat tradisional. Namun demikian, potensi aktivitas farmakologi sebagian besar spesies makroalga belum dieksplorasi secara optimal.

*B. nitida* dan *G. salicornia* adalah beberapa contoh dari banyak spesies makroalga yang belum dieksplorasi secara mendalam senyawa bioaktifnya, terutama di perairan Indonesia. Meskipun demikian, penelusuran literatur telah menunjukkan potensi yang cukup besar dari kedua spesies tersebut sebagai sumber senyawa rujukan (*lead compound*) yang potensial dengan aktivitas yang beragam.

Oleh karena itu, perlu dilakukan isolasi, elusidasi struktur, dan kajian bioaktivitas senyawa metabolit sekunder dari spesies tersebut baik melalui pendekatan secara *in vitro* maupun berdasarkan pendekatan *in silico*. Konsep pemikiran ini diilustrasikan secara skematik pada Gambar 9.



**Gambar 9.** Kerangka Pikir Penelitian

## 2. Hipotesis

1. Profil fitokimia ekstrak *G. salicornia* dan *B. nitida* memiliki keragaman golongan metabolit sekunder yang cukup tinggi terutama golongan flavonoid, steroid, dan alkaloid.
2. Struktur molekul isolat *G. salicornia* dan *B. nitida* dapat ditentukan berdasarkan teknik spektroskopi.
3. Ekstrak dan isolat dari *G. salicornia* dan *B. nitida* dapat menunjukkan aktivitas antibakteri, antioksidan, dan antikanker.

4. Interaksi metabolit sekunder *G. salicornia* dan *B. nitida* dengan protein target dapat ditentukan berdasarkan analisa *molecular docking*.
5. Jalur biogenesis senyawa bioaktif *G. salicornia* dan *B. nitida* dapat ditelusuri berdasarkan senyawa hasil isolasi.