

BAB I PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Salmonella enterica serovar Typhi (*Salmonella typhi*) adalah bakteri basil Gram negatif yang bersifat patogen intraseluler dari famili *Enterobacteriaceae*. Bakteri ini adalah penyebab demam tifoid dan sangat spesifik terhadap inang manusia. Penularannya terjadi melalui jalur fekal-oral akibat konsumsi makanan atau air yang terkontaminasi. *Salmonella typhi* memiliki kemampuan untuk menghindari deteksi sistem imun bawaan, menyebar secara sistemik, dan mengkolonisasi kandung empedu, tempat ia membentuk resistansi terhadap antibiotik. *Salmonella typhi* masuk ke saluran pencernaan dan memicu infeksi pada saluran usus, yang menyebabkan sel darah putih memproduksi interleukin dan memicu demam pada penderita, lemas, pusing, mual, serta kehilangan nafsu makan. (Jahan, et al., 2022). Demam tifoid merupakan penyakit infeksi akut pada usus halus yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella typhi* (Mustofa et al, 2020). Di Indonesia penyakit ini bersifat endemic dan merupakan masalah Kesehatan Masyarakat. Dari telaah kasus di rumah sakit besar di Indonesia, kasus tersangka tifoid menunjukkan kecenderungan meningkat dari tahun ke tahun dengan rata-rata kesakitan 500/100.000 penduduk dengan kematian antara 0,6-5%. (Depkes RI, 2006).

Demam tifoid atau biasa dikenal dengan demam tifus merupakan masalah kesehatan yang serius terutama di Indonesia dan negara berkembang lainnya. Jika kita melihat kasus penyakit tifus di beberapa rumah sakit besar, kasus penyakit demam tifoid semakin meningkat setiap tahunnya. Demam tifoid dan paratifoid termasuk tiga penyakit yang paling banyak menyebabkan rawat inap di Indonesia. Demam tifoid disebabkan oleh *Salmonella typhi*, bakteri Gram negatif yang menyebabkan infeksi akut pada usus kecil. Infeksi *Salmonella typhi* terjadi pada tubuh manusia melalui konsumsi makanan atau minuman yang terkontaminasi dan masuk ke dalam tubuh manusia, baik yang terinfeksi maupun sebagai pembawa. Air yang terkontaminasi merupakan sumber utama penyakit. Begitu pula kerang, sayuran yang ditanam di kompos (pupuk kandang) (Kasudaha et al., 2024). Sementara itu, pada sektor perikanan, penularan bakteri *Salmonella* dapat terjadi melalui beberapa jalur. Kontaminasi dapat berasal dari kolam atau habitat alami ikan yang sudah tercemar, rendahnya standar sanitasi dan higienitas selama penanganan produk perikanan, serta konsumsi ikan yang tidak diolah atau dimasak dengan cara yang benar (Putra, 2024). Insidensi demam tifoid menunjukkan variasi antarnegara. Di Indonesia, angkanya tercatat 81,7 per 100.000 penduduk per tahun, sementara Pakistan dan India memiliki insidensi yang jauh lebih tinggi, masing-masing 551,7 dan 493,5 per 100.000. Namun, data Kemenkes RI memberikan rentang yang lebih besar, yakni 350-810 kasus per 100.000 penduduk, yang mengindikasikan beban kasus antara 600.000 hingga 1,5 juta jiwa (Mutiarasari & Anindita, 2024).

Pengobatan standar untuk demam tifoid umumnya melibatkan pemberian antibiotik. Namun, masyarakat sering kali menggunakan antibiotik secara tidak tepat, baik dalam hal indikasi, dosis, waktu pemberian, maupun jenisnya (RHH

Nelwan, 2019). Kondisi ini berisiko meningkatkan resistensi pada *Salmonella typhi*. Selain itu, antibiotik sintetis sering menimbulkan efek samping seperti alergi dan gangguan pencernaan, sehingga obat-obatan berbahan dasar herbal lebih disarankan. Oleh karena itu, diperlukan pengembangan antibiotik baru dari bahan baku herbal yang lebih efektif melawan *Salmonella typhi*. Penggunaan bahan alam sebagai obat semakin populer, dengan masyarakat yang cenderung menerapkan gaya hidup "*back to nature*" (kembali ke alam). Hal ini disebabkan oleh efek samping bahan alam yang relatif lebih ringan dibandingkan obat sintetis. Masalah resistensi bakteri *Salmonella typhi* mendorong pencarian sumber antibakteri alami yang dapat dimanfaatkan sebagai pengobatan untuk demam tifoid. Salah satu yang berpotensi sebagai antibakteri adalah rumput laut (Alfiah, 2016).

Gracilaria changii merupakan salah satu spesies rumput laut merah (*Rhodophyta*) yang banyak ditemukan di perairan tropis, termasuk Indonesia. Rumput laut ini telah lama dimanfaatkan sebagai sumber karagenan, yaitu polisakarida sulfat yang banyak digunakan dalam industri pangan dan farmasi (Pangestuti & Kim, 2021). Selain itu, *Gracilaria changii* diketahui mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti flavonoid, fenolik, terpenoid, dan alkaloid yang memiliki aktivitas biologis, termasuk antibakteri (Sulistiyani et al., 2020). Mekanisme kerja senyawa-senyawa tersebut dalam menghambat pertumbuhan bakteri dapat melalui beberapa cara, seperti merusak membran sel bakteri, menghambat sintesis protein, atau mengganggu replikasi DNA (Alves et al., 2022). Beberapa penelitian sebelumnya telah melaporkan efektivitas ekstrak *Gracilaria* spp. terhadap bakteri patogen seperti *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Vibrio cholerae* (Pangestuti & Kim, 2021), namun studi mengenai aktivitasnya terhadap *Salmonella typhi* masih sangat terbatas. Padahal, dengan tingginya kasus resistensi antibiotik pada *Salmonella typhi* (Crump et al., 2022),

Uji *in silico* merupakan metode komputasi yang memanfaatkan simulasi komputer untuk memprediksi aktivitas biologis dan karakteristik molekul sebelum dilakukan validasi eksperimental (Herman, 2019). Teknologi ini menjadi solusi efektif mengingat proses penemuan senyawa obat baru secara konvensional memerlukan biaya besar, waktu panjang, dan sumber daya yang tidak sedikit (Gunawan et al., 2021). Keunggulan lain pendekatan ini adalah tidak melibatkan hewan uji dalam tahap awal penelitian (Sinurat et al., 2021). Salah satu teknik *in silico* yang banyak digunakan adalah *molecular docking*, bagian dari *Computer Aided Drug Design* (CADD). Metode ini memvisualisasikan interaksi tiga dimensi antara senyawa aktif (ligan) dengan protein target melalui simulasi penambatan molekul, sekaligus memprediksi energi ikatan yang terbentuk (Hasan et al., 2022). Proses docking memerlukan tiga komponen utama: (1) perangkat lunak khusus, (2) ligan (senyawa bioaktif *Gracilaria changii*), dan (3) reseptor protein (target bakteri). Analogi *lock-and-key* menggambarkan hubungan ini, dimana protein target (kunci) berikatan dengan ligan (anak kunci) secara spesifik (Syahputra, 2015).

Dalam konteks penelitian ini, protein dehydroquinase *Salmonella typhi* akan digunakan sebagai reseptor, sedangkan senyawa bioaktif dari *Gracilaria*

changii hasil karakterisasi sebagai ligan. Pendekatan ini diharapkan dapat mengidentifikasi senyawa potensial yang mampu menghambat mekanisme patogenisitas bakteri *Salmonella Typhi* secara lebih efisien sebelum dilanjutkan ke tahap uji *in vitro*.

1.2. Tujuan dan Manfaat

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengidentifikasi senyawa ekstrak rumput laut *Gracilaria changii* yang memiliki kemampuan sebagai antibakteri *Salmonella typhi* melalui uji *molecular docking*.

Manfaat dari penelitian ini yaitu sebagai sumber acuan dalam pemanfaatan metode *in silico* untuk mengidentifikasi senyawa bioaktif dari *Gracilaria changii* dalam menghambat bakteri *Salmonella typhi*. Serta meningkatkan nilai tambah *Gracilaria changii* sebagai sumber kandidat agen antibakteri alami yang lebih aman, dengan biaya produksi yang relatif lebih rendah dan dampak samping yang minimal dibandingkan antibiotik sintetis. Sehingga dapat digunakan sebagai sumber referensi untuk penelitian selanjutnya, termasuk pengujian lebih lanjut menggunakan metode *in vivo* dan *in vitro*.

BAB II METODE PENELITIAN

2.1. Waktu dan tempat

Penelitian ini dilaksanakan selama 2 Bulan (April-Mei) dilakukan di Bidang, Kemitraan, Inovasi, Kewirausahaan, Dan Bisnis, lantai 6, Gedung Rektorat Universitas Hasanuddin, untuk proses molecular docking dan analisis data dengan menggunakan fasilitas yang tersedia serta meningkatkan efesiansi dan efektivitas

2.2. Alat dan Bahan

Bahan dan alat yang digunakan saat penelitian dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2 sebagai berikut.

Tabel 1. Bahan yang digunakan selama penelitian

Nama Bahan	Fungsi
Protein <i>dehydroquinase</i> type I (DHQ1)	Bahan uji <i>in silico</i>

Tabel 2. Alat yang digunakan selama penelitian

Nama Alat	Fungsi
Komputer	Untuk uji <i>In silico</i>
Microsoft Office 2021	Aplikasi pendukung
Autodock Tools	Aplikasi docking
Autodock 4.0	<i>Software docking</i> yang akan menghitung dan menampilkan nilai <i>binding affinity</i>
UCSF Chimera (3D Viewer)	Aplikasi untuk preparasi ligan dan protein
Biova Discovery Studi Visualizer	Aplikasi untuk visualisasi hasil docking

2.3. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian deskriptif dengan pendekatan *in silico*. Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi potensi senyawa bioaktif dari *Gracilaria changii* sebagai kandidat obat melalui analisis *molecular docking*. Dengan pendekatan ini, diharapkan dapat diperoleh data yang objektif dan dapat diukur mengenai interaksi antara senyawa bioaktif dan target protein.

2.4. Sumber data

Penelitian ini menggunakan data data sekunder yang dikumpulkan dari berbagai sumber terpercaya. Data senyawa bioaktif *Gracilaria changii* diambil dari hasil publikasi penelitian sebelumnya oleh Asmi Citra Malina (2024), yang memberikan informasi kriteria berupa jenis senyawa, konsentrasi, dan nilai *Similarity Index* (SI > 90%) dari analisis GC-MS. Untuk keperluan simulasi *docking* dan analisis lebih lanjut, data pendukung diperoleh dari basis data ilmiah.

Struktur 3D senyawa ligand diunduh dari PubChem, sementara struktur 3D protein target (reseptor) diambil dari *Protein Data Bank* (RCSB PDB). Informasi pendukung lainnya terkait mekanisme aksi antibakteri dan konteks biologis diperoleh dari tinjauan literatur jurnal-jurnal ilmiah. Integrasi dari berbagai data sekunder ini membentuk landasan yang solid untuk melakukan studi simulasi *docking* molekuler dan memprediksi potensi aktivitas antibakteri senyawa-senyawa tersebut secara *in silico*.

2.5. Tahap pelaksanaan uji *in silico*

Uji *in silico* dilakukan melalui simulasi *molecular docking* untuk memprediksi interaksi antara senyawa bioaktif dari ekstrak rumput laut *Gracilaria changii* dengan protein target dehydroquinase type I (DHQ1) dari *Salmonella typhi*. Tahapan ini meliputi persiapan protein, persiapan ligan, proses docking, dan visualisasi interaksi. Setiap tahap dirancang untuk memastikan akurasi dan validitas hasil simulasi.

a. Preparasi Protein (Dehydroquinase type I (DHQ1))

Protein yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari situs resmi RCSB *Protein Data Bank* (www.rcsb.org) dalam format PDB. Protein target yang dipilih adalah *dehydroquinase* dari *Salmonella typhi* dengan kode PDB: 4CLM. Setelah diunduh, struktur protein divisualisasikan menggunakan perangkat lunak UCSF Chimera, dan dilakukan proses pembersihan dengan menghilangkan residu yang tidak diperlukan, seperti ligan asli atau molekul air yang tidak relevan. Selanjutnya, atom hidrogen ditambahkan ke struktur protein untuk keperluan simulasi docking, dan file disimpan kembali dalam format PDB. Langkah-langkah ini merupakan bagian dari proses persiapan protein target sebelum dilakukan simulasi, memastikan struktur protein siap untuk interaksi dengan ligan.

b. Preparasi Ligan (Senyawa Rumput Laut *Gracilaria changii*)

Ligan yang digunakan dalam uji ini adalah senyawa dari ekstrak rumput laut *Gracilaria changii* yang didapatkan hasil dari GC-MS penelitian sebelumnya oleh Asmi Citra Malina (2024). Struktur 3D senyawa dikumpulkan melalui situs resmi PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) dengan mengunduh file berformat SDF. PubChem berfungsi sebagai basis data kimia publik yang dikelola oleh *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), yang menyediakan informasi lengkap tentang struktur kimia, sifat fisik, aktivitas biologis, dan data toksikologi dari jutaan senyawa kimia. Dalam penelitian ini, PubChem digunakan untuk mengakses dan memvalidasi struktur molekul senyawa bioaktif, memastikan akurasi data sebelum simulasi docking dilakukan. Setelah mengunduh senyawa aktif dan inhibitor kontrol yang dibutuhkan, senyawa tersebut divisualisasikan menggunakan UCSF Chimera (3D Viewer), lalu atom hidrogen ditambahkan dan disimpan dalam bentuk "pdb". Hal ini berfungsi untuk mempersiapkan kebutuhan docking yang meliputi ligan dan kontrol positif protein target, memastikan struktur ligan kompatibel dengan perangkat lunak docking.

c. Proses *docking* (Penambatan molecule) dengan *autodock tools* dan *autodock4*

Proses docking dilakukan dengan menggunakan aplikasi *AutoDock Tools*

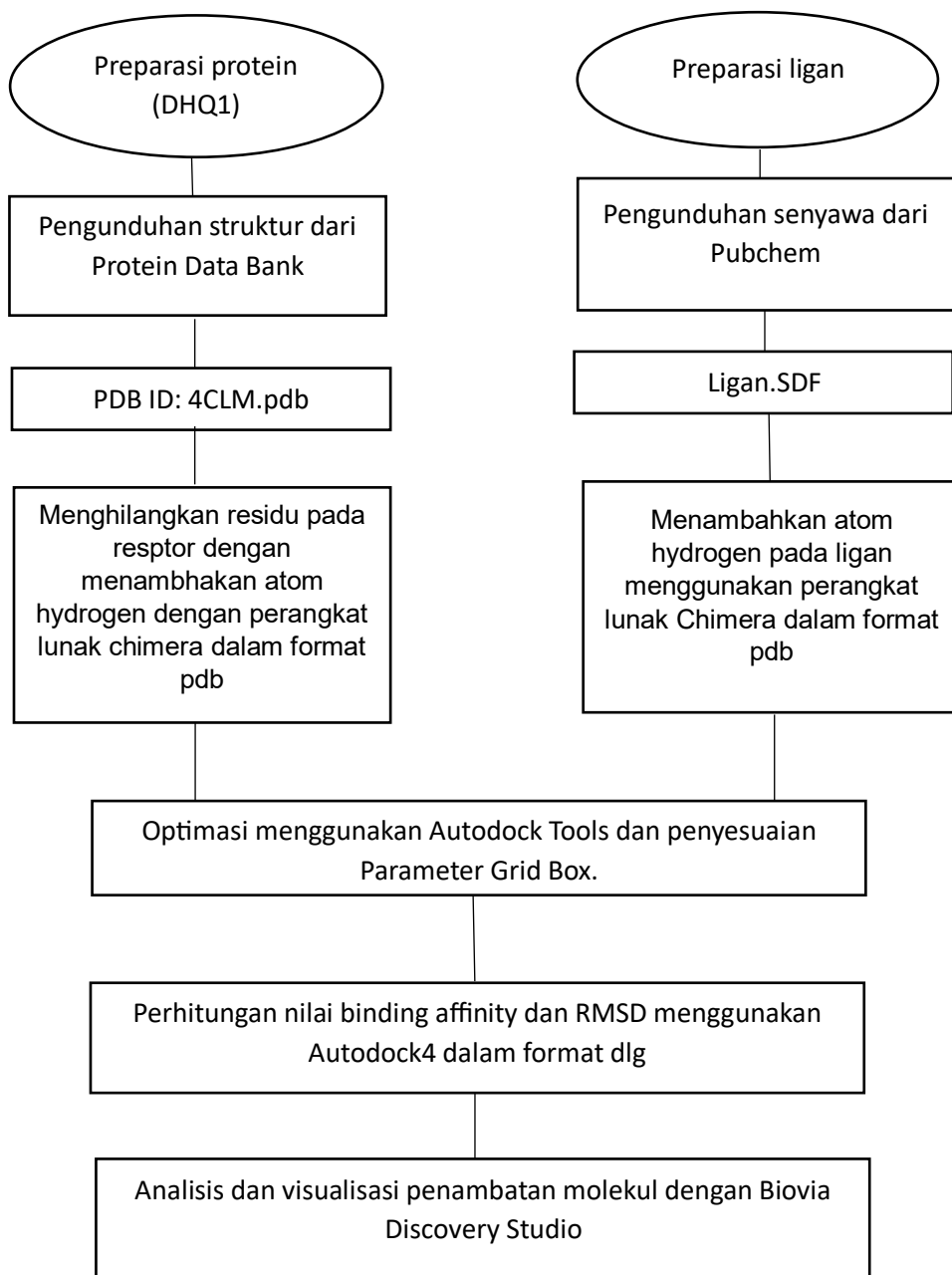
dan software *AutoDock 4*. Preparasi protein *Salmonella typhi* (DHQ1) dimasukkan dalam software *AutoDock Tools* dan mengatur *grid box* dengan ukuran 40×40×40 Å untuk menemukan sisi aktif dari protein. Kemudian, software *AutoDock 4* dijalankan untuk menghitung nilai *binding affinity* pada setiap bentuk struktur molekul atau bentuk pelekatan yang terjadi. Data interaksi ligan dan protein akan ditampilkan menggunakan *Biovia Discovery Studio* untuk melihat letak dan model perlekatan pada target protein dalam bentuk 3D dan 2D. Proses ini menggunakan algoritma *Lamarckian Genetic Algorithm* (LGA) dengan parameter standar untuk memastikan eksplorasi konformasi ligan yang optimal.

d. Visualisasi Interaksi Ligan Senyawa dengan Reseptor

Visualisasi analisis docking dilakukan menggunakan perangkat *Biovia Discovery Studio* untuk menggambar residu-residu asam amino dan melihat letak dan model perlekatan pada target protein. Dalam visualisasi ini, interaksi seperti ikatan hidrogen (ditandai dengan garis hijau), interaksi hidrofobik (ditandai dengan warna ungu muda), dan interaksi lainnya dapat diidentifikasi. Hal ini membantu dalam memahami mekanisme pengikatan ligan dengan reseptor, termasuk jenis interaksi dan residu asam amino yang terlibat, sehingga memberikan wawasan tentang potensi senyawa sebagai inhibitor..

2.6. Analisis Data

Analisis data *docking* dilakukan dengan mempertimbangkan nilai binding affinity dan RMSD. Nilai *binding affinity* yang semakin negatif menunjukkan bahwa interaksi antara senyawa aktif dari rumput laut *Gracilaria changii* (sebagai ligan) dengan reseptor protein *dehydroquinase tipe I* (DHQ1) pada *Salmonella typhi* semakin kuat. Selain itu, nilai RMSD yang kurang dari 2.0 Å menunjukkan bahwa prediksi posisi ligan dalam kompleks protein adalah akurat. Hal ini menandakan bahwa metode *docking* yang digunakan dapat diandalkan untuk mengevaluasi interaksi antara ligan dan target protein.



Gambar 1. Diagram alir penelitian