

STUDI IN SILICO SENYAWA AKTIF DAUN TAGALOLO (*Ficus septica* Burm F) SEBAGAI LIGAN UJI PADA ENZIM L-HISTIDIN DECARBOXILASE

Ridel Gabriell Makisake, Roike I. Montolalu*, Hanny W. Mewengkang,
Grace Sanger, Silvana D. Harikedua, Daisy M. Makapedua, Netty Salindeho,
Epsilon B. S. Zagoto, Injily J. P. A. Gumolung

Program Studi Teknologi Hasil Perikanan,
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi,
Jl. Kampus Unsrat, Bahu, Manado, Sulawesi Utara, Indonesia 95115.

*Penulis korespondensi: rmontolalu@unsrat.ac.id.
(Diterima 19-04-2022; Direvisi 05-07-2022; Dipublikasi 31-07-2022)

ABSTRACT

Histamine is one of the parameters in the tuna export trade that needs to be considered so that the product can be well received in the United States (USA), European Union (EU), and Japan. Histamine is used as a quality indicator for food safety of tuna products, because high histamine can cause toxic effects in humans. The leaves of the tagalolo/awar-awar plant (*Ficus septica* Burm. F) contain active compounds that function to cure several types of diseases such as ulcers, itching, wounds, diarrhea, dysentery and drugs to reduce fever and are used as inflammatory drugs. This study aims to determine the types of active compounds in tagalolo/awar-awar leaves from the literature search and their potential to react with the enzyme L-histidine decarboxylase through non-empirical research in silico. The compounds obtained from the literature search are Genistin, β -amyrin, Pyrrolidine and Phenanthroindollizidine. These compounds were then tested In Silico with molecular docking. The results of the in silico study showed that the compounds Genistin, β -amyrin, Pyrrolidine and Phenanthroindollizidine could not react with the L-histidine decarboxylase enzyme because all the tested ligands did not react or bind to the receptor.

Keyword: *Tagalolo plant, Histamine, In Silico, Molecular Docking.*

Histamin merupakan salah satu parameter dalam perdagangan ekspor tuna yang perlu diperhatikan agar produk dapat diterima dengan baik di Amerika Serikat (USA), Uni Eropa (UE), maupun Jepang. Histamin dijadikan indikator mutu untuk keamanan pangan produk tuna, karena histamin yang tinggi dapat menyebabkan efek keracunan pada manusia. Daun tanaman tagalolo/awar-awar (*Ficus septica* Burm. F) mengandung senyawa aktif yang berfungsi menyembuhkan beberapa jenis penyakit seperti obat bisul, gatal-gatal, luka, diare, disentri dan obat untuk menurunkan demam serta digunakan sebagai obat radang atau inflamasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis-jenis senyawa aktif daun tagalolo/awar-awar hasil penelusuran pustaka dan potensinya untuk bereaksinya dengan enzim L-histidin dekarboksilase melalui riset non-empirik secara *in silico*. Senyawa yang didapatkan dari penelusuran pustaka yaitu Genistin, β - amyrin, Pyrrolidine dan Phenanthroindollizidine. Senyawa-senyawa tersebut kemudian diuji secara *In Silico* dengan penambatan molekul (*molecular docking*). Hasil studi secara *in silico* menunjukkan bahwa senyawa Genistin, β - amyrin, Pyrrolidine dan Phenanthroindollizidine tidak dapat bereaksi dengan enzim L-histidin dekarboksilase karena semua ligan uji tidak bereaksi atau terikat dengan reseptor.

Kata kunci: *Tanaman Tagalolo, Histamin, In Silico, Molecular Docking.*

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara kepulauan yang luas wilayah perairan terdiri lebih besar dari daratan sehingga memiliki potensi perikanan yang sangat besar dan beragam, yang dapat dikelola menjadi usaha/bisnis terkhusus di Sulawesi Utara. Usaha hasil perikanan laut di Sulawesi Utara memiliki potensi yang besar karena wilayahnya dikelilingi oleh perairan laut Tomini dan perairan laut Sulawesi, termasuk perairan laut kepulauan Sangihe Talaud (Tumengkol *et al.*, 2015). Data Statistik Kementerian Kelautan dan Perikanan (2018) mencatat Tuna, Tongkol, dan Cakalang (TTC) mengalami kenaikan nilai ekspor sebanyak 16,57%. Potensi perikanan yang sangat besar di Sulawesi Utara belum bisa dimaksimalkan dikarenakan proses penanganan pasca tangkap oleh nelayan Sulawesi Utara yang belum memenuhi

standar. Data PPS Bitung Sulawesi Utara untuk nilai potensi tuna yang bisa ditangkap adalah 14.173,51 ton/tahun 80% dari nilai pemanfaatan hasil tangkap tuna (Simanjuntak *et al.*, 2019).

Peningkatan jumlah produksi belum diimbangi dengan peningkatan mutu, faktor utama yang sangat mempengaruhi penurunan kualitas mutu ikan adalah suhu dan waktu penanganan. Jika penyimpanan ikan dilakukan disuhu ruang atau terpapar dibawah sinar matahari, laju aktivitas bakteri dan enzim akan lebih cepat. Suhu pertumbuhan untuk sebagian besar bakteri berkisar 10-20°C (FDA, 2011). Selanjutnya, ikan yang didaratkan satu hari dari kapal dengan ikan yang didaratkan dari kapal yang melaut kurang lebih selama 5-7 hari akan memiliki perbedaan kualitas mutu, sehingga waktu penanganan berpengaruh terhadap penurunan mutu hasil tangkap perikanan yang salah satunya memicu terbentuknya histamin pada ikan.

Sejak dahulu masyarakat Indonesia sudah banyak memanfaatkan beberapa tumbuhan dalam penanganan dan pengawetan ikan. Hal ini dibuktikan dengan adanya dokumentasi penelitian tentang penggunaan bahan alami yang dapat mempertahankan mutu ikan segar contohnya: penggunaan biji buah atung (Moniharapon *et al.*, 2019), belimbing wuluh dan daun kemangi (Sumiati & Marjanah, 2020), serta mangrove *Avicennia marina* (Pariansyah *et al.*, 2018). Daun tanaman tagalolo atau juga dikenal sebagai tanaman awar-awar (*Ficus septica* Burm. F) mengandung senyawa aktif yang dapat menyembuhkan beberapa jenis penyakit seperti obat bisul, gatal-gatal, luka, diare, disentri, obat untuk menurunkan demam serta digunakan sebagai obat radang atau inflamasi. Beberapa peneliti membuktikan bahwa senyawa aktif dominan dari daun tagalolo adalah jenis senyawa flavonoid yang memiliki beragam manfaat untuk tubuh seperti dapat memperbaiki sel yang rusak akibat radikal bebas (Prमितaningastuti dan Anggraeny 2017; Sudirga, 2014). Berdasarkan penelusuran pustaka, sampai saat ini belum ada dokumentasi penelitian tentang manfaat daun tagalolo pada proses pengawetan ikan terutama pada ikan scombroida yang rentan menghasilkan histamin akibat dari proses dekarboksilasi asam amino histidin saat penanganan yang kurang baik. Oleh karena itu, penelitian ini ditujukan untuk menggali potensi senyawa aktif daun tagalolo berdasarkan studi literatur dan kemudian dianalisis secara *in silico*.

Analisis *in silico* adalah suatu metode pendekatan menggunakan simulasi komputer dengan program tertentu untuk mengidentifikasi senyawa dengan potensi dan selektivitas yang lebih tinggi (Wang *et al.*, 2015). Penelitian ini ditujukan untuk menggali potensi senyawa aktif daun tagalolo berdasarkan studi literatur dan kemudian dianalisis secara *in silico*. Penelitian ini diharapkan dapat mengangkat potensi daun tagalolo atau daun awar-awar sebagai bahan alternatif pada proses penanganan dan pengawetan ikan untuk menggantikan penggunaan bahan berbahaya seperti formalin dan boraks.

METODE PENELITIAN

Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu secara komputasi (*In Silico*) dengan melakukan penelusuran ilmiah senyawa aktif yang ada di tanaman tagalolo dan *molecular docking* dengan penambahan senyawa aktif tanaman tagalolo terhadap protein yang dituju.

Alat dan bahan

Alat yang digunakan berupa komputer dengan spesifikasi RAM 8 GB, dengan prosesor Intel® core™ i5, system operasi Microsoft Windows 11, koneksi internet, software Discovery Studio dan software Autodock.

Bahan yang digunakan yaitu struktur tiga dimensi molekul senyawa aktif tanaman tagalolo serta struktur tiga dimensi protein target yang didownload dari website resmi PDB (Protein Data Bank) <http://rcsb.org>.

Prosedur Penelitian

Preparasi Reseptor dan Ligan

Ligan yang telah diunduh, dilakukan preparasi dengan menggunakan AutoDock Tools (*File* → *read molecule* → *open ligand*) meliputi : ditambahkan muatan Gasteiger Charges (*Edit* → *Charges* → *Compute Gasteiger*), ditambahkan atom hidrogen (*Edit* → *Hidrogen* → *Add* → *All Hidrogen*), serta diatur torsi aktif ligan (*Ligan* → *Torsion Tree* → *Set NumberTorsion* → *Dismiss*) kemudian di *save file* (*Ligan* → *Output* → *Save As* → .pdbqt.) Ligan yang telah dioptimasi tersebut disimpan dalam format .pdbqt.

Diunduh reseptor L-histidin dekarboksilase dari Protein Data Bank dengan situs <http://www.rcsb.org>. Kode reseptor adalah 7ERU lalu diunduh dengan format .pdb. Dipisahkan reseptor dengan ligan atau

residu non standar. Dijalankan pemisahan ini dengan *software Discovery Studio Visualizer* dengan cara *Scripts* → *Selection* → *Select Water Molecule*. Dilakukan pemisahan reseptor dan ligan dengan cara *scripts* → *selection* → *select ligand*. Disimpan hasil pemisahan tersebut dengan format .pdb yang selanjutnya akan digunakan untuk penambatan. Dilakukan Optimasi reseptor dengan menggunakan *AutoDock Tools* (*File* → *read molecule* → *open ligand*). meliputi : ditambahkan muatan *Kollman Charges* (*Edit* → *Charges* → *Kollman Charges*), lalu diubah reseptor menjadi polar (*Edit* → *Hidrogen* → *Add* → *Polar Only* . kemudian di *save file* (*Grid* → *Macromolecule* → *Choose* → *Select Molecule* → *Klik Reseptor* → *Select Molecule* → *Save* → .pdbqt). Disimpan reseptor tersebut dalam format .pdbqt.

Penambatan molekul dengan *Autodock Tools*

Penambatan dengan *AutoDock Tools* dengan cara mengatur *grid box* pada sisi aktif reseptor. Diatur *grid box* yang meliputi ukuran (*size x,y,z*), koordinat (*center x,y,z*), Ukuran *grid box* adalah (40 x 40 x 40 Å), disimpan file dalam format .gpf (*File* → *Close Saving Current* → *Grid* → *Output* → *Save* → .Gpf) Setelah itu di *running* Autogrid dengan cara *Run* → *Run AutoGrid* → *Browse* → *Launch* Setelah itu dibuat reseptor menjadi kaku (*Docking* → *Macromolecule* → *Set Rigid File Name* → *Reseptor* → *Open*), kemudian dilakukan pencarian posisi konformasi terbaik ligan dengan 100 kali pose (*Docking* → *search parameters* → *genetic algorithm* → *accepts*), disimpan hasil ini dalam format .dpf (*Docking* → *Output* → *Lamarckian* → .dpf). Terakhir di *running* *AutoDock* dengan cara *Run* → *Run AutoDock* → *Browse* → *Launch*.

Teknik analisa data

Hasil pengujian *in silico* diamati dengan parameter energi bebas (ΔG) dan nilai RMSD (*root mean square deviation*), Jika energi bebas (ΔG) lebih kecil dari 0 reaksi berjalan spontan; jika energi bebas (ΔG) = 0 reaksi berjalan reversibel; dan jika energi bebas (ΔG) lebih besar dari 0 maka tidak terjadi reaksi. Nilai RMSD untuk syarat validasi harus lebih kecil dari 2 angstrom (< 2Å).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelusuran senyawa aktif tanaman *tagalolo*

Penelitian tentang bahan aktif tumbuhan secara etnobotani sudah banyak dilakukan oleh peneliti Indonesia. Salah satu jenis tanaman yang sering menjadi objek penelitian adalah tanaman tagalolo yang juga dikenal sebagai tanaman awar-awar (*Ficus septica* Burm. F). Hasil penelitian de Padua *et al.* (1999) menunjukkan bahwa bagian daun, akar dan buah tanaman awar-awar mengandung senyawa flavonoid, fenol, alkaloid, saponin, dan tannin. Senyawa flavonoid secara khusus dapat menghentikan terjadinya pembentukan dan pengeluaran zat-zat yang menyebabkan peradangan akibat reaksi alergi (Pramitaningastuti dan Anggraeny, 2017). Secara lengkap penelitian tentang bahan aktif tanaman *tagalolo* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Senyawa Kimia Pada Daun Awar-Awar/Tagalolo (*Ficus septica* Burm F).

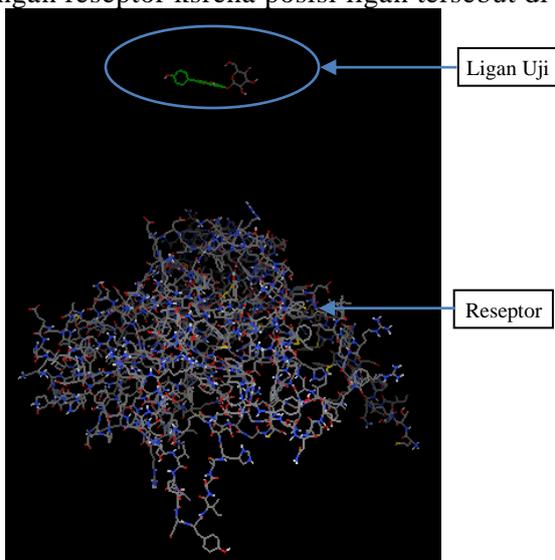
No.	Bagian Tanaman	Bahan Aktif yang Ditemukan	Sumber
1.	Daun	Alkaloid dan Steroid	(Jati, 2013)
2.	Ranting dan daun	β -sitosteryl-3 β -glucopyranoside-6'-O-fatty ester asam, ester asam lemak α -amirin, β -sitosterol, stigmasterol, β -amyrin dan rantai panjang alkohol lemak jenuh, alkaloid	(Ragasa <i>et al.</i> , 2016)
3.	Daun	Saponin dan flavonoid	(Rivai, 2017)
4.	Daun	Flavonoid dan polifenol	(Guntarti <i>et al.</i> , 2019)
5.	Daun	Phenanthroindozidine	(Nurhidayati <i>et al.</i> , 2021)
6.	Daun	Genistin dan antofin	(Kinho <i>et al.</i> , 2011)
7.	Daun	Aminocaprophenone dan pyrrolidine	(Ueda <i>et al.</i> , 2009)

Dari senyawa yang ditemukan dari beberapa penelitian dipilih empat senyawa yaitu genistin, β - amyrin, phenanthroindolizidine, pyrrolidine kemudian dicari simple molecular dalam bentuk 3D dari website *PubChem* (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>).

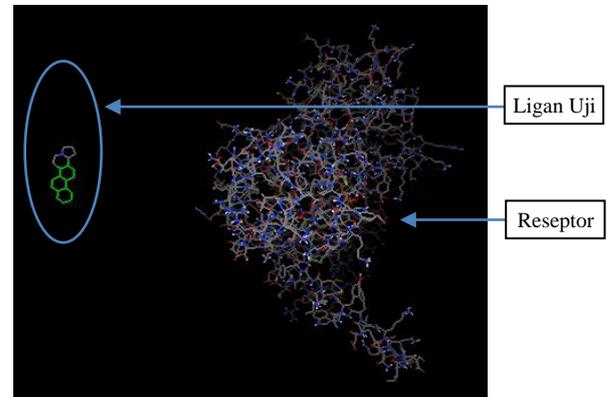
Hasil penambatan senyawa daun *tagalolo* (*Ficus septica* Burm F) dengan *Autodock Tools*

Dari hasil uji senyawa genistin, phenanthtoindollizidine, β -amyrin dan pyrrolidine tidak memiliki hasil karena saat proses *docking ligan* uji berada di luar reseptor atau tidak mengikat

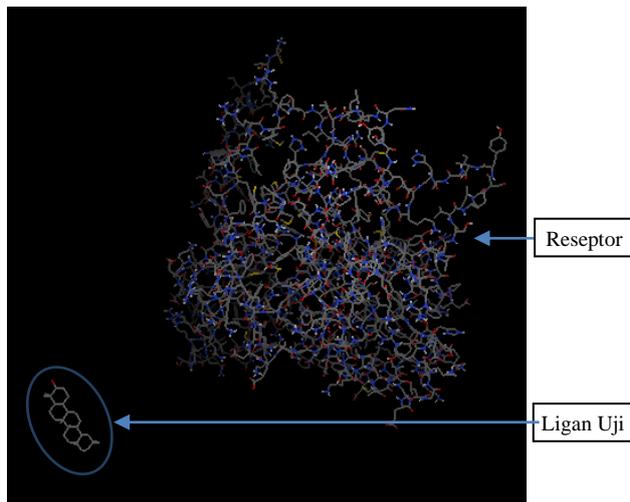
reseptor. senyawa genistin, phenanthroindollizidine, pyrrolidine dan β -amyryn tidak dapat bereaksi dengan reseptor ksrena posisi ligan tersebut di luar reseptor dan tidak bisa dilakukan proses lanjut.



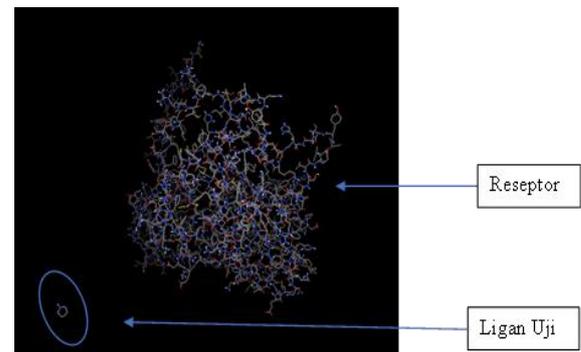
Gambar 1. Posisi Ligan Genistin Terhadap Reseptor.



Gambar 2. Posisi Phenanthroindollizidine Terhadap Reseptor.



Gambar 3. Posisi Ligan β -amyryn Terhadap Reseptor



Gambar 4. Posisi Ligan Pyrrolidine Terhadap Reseptor.

Gambar 1, 2, 3, 4 melihat posisi ligan uji (genistin, phenanthtoindollizidine, β -amyryn dan pyrrolidine) berada di luar reseptor. Dari hasil penelitian secara *in silico*, senyawa genistin, phenanthtoindollizidine, β -amyryn dan pyrrolidine tidak dapat menghambat pembentukan histamin karena semua ligan uji tidak bereaksi atau mengikat dengan reseptor.

KESIMPULAN

Hasil dari studi secara *in silico* penambatan molekul (*molecular docking*) senyawa Genistin, β -amyryn, Pyrrolidine dan Phenanthroindollizidine tidak dapat menghambat pembentukan histamin karena semua ligan uji tidak bereaksi atau terikat dengan reseptor.

DAFTAR PUSTAKA

- Food and Drug Administration. 2011. Fish and fishery products hazards and controls guidance. US Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Food Safety and Applied Nutrition.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan. 2018. Produktivitas Perikanan Indonesia. Ekspor Menurut Komoditas Utama Tahun 2012–2017. Jakarta.

- Moniharapon, T., Pattipeilohy, F., Mailoa, M. N., dan Souhotta, L. M. 2019. Aplikasi pengawet alami atung (*Parinariium glaberimum* hassk) pada industri tuna loin di dusun Parigi desa Wahai. *Majalah Biam*, 15(2), 70–76.
- Pariansyah, A., Herliany, N. E., dan Negara, B. F. S. P. (2018). Aplikasi maserat buah mangrove *Avicennia marina* sebagai pengawet alami ikan nila segar. *Acta Aquatica: Aquatic Sciences Journal*, 5(1), 36–44.
- Pramitaningastuti, A. S., dan Anggraeny, E. N. (2017). Uji Efektivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Srikaya. *Jurnal Ilmah Farmasi*. 13(1).
- Simanjuntak, D. H., Lumingas, L. J. L., Sangari, J. R. R. 2019. Potensi Lestari Perikanan Tangkap Tuna di Sekitar Perairan Provinsi Sulawesi Utara Berdasarkan data Pelabuhan Perikanan Samudera (PPS) Bitung, Sulawesi Utara. *jurnal Perikanan dan Kelautan Tropis*. 10(1):18–27.
- Sudirga, Sang Ketut. 2018. Efektivitas Ekstrak Daun Awar-Awar (*Ficus septica*) Sebagai Fungisida Nabati Terhadap Penekanan Penyakit Antraknosa Pada Tanaman Cabai Besar. *Prosiding Semnas Pendidikan Biologi*.
- Sumiati, S., dan Marjanah, M. 2020. Perbandingan buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) dan daun kemangi (*Ocimum sanctum*) sebagai bahan pengawet alami ikan kembung (*Rastrellinger* sp.). *Jurnal Jeumpa*, 7(2), 422–432.
- Tumengkol, W. L., Palar, sutomo wim, dan Rotinsulu, D. ch. 2015. Kinerja dan Daya Saing Ekspor Hasil Perikanan Laut Kota Bitung. *Jurnal Berkala Ilmiah Efisiensi*.
- Wang, Y., Xing, J., Xu, Y., Zhou, N., Peng, J., Xiong, Z., Liu, X., Luo, X., Luo, C., Chen, K., Zheng, M., and Jiang, H. 2015. In silico ADME/T modelling for rational drug design. *Journals Cambridge*, 48(4), 488–515.