

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI EKSTRAK N-HEKSAN KAYU SECANG (*Caesalpinia sappan* L.) TERHADAP BAKTERI *Salmonella enterica* SECARA *IN VITRO* DAN *IN SILICO*

L. Rosita¹, D. Roza¹, Eddyanto¹, Y.M.R. Sinaga², M. Simorangkir¹, dan T. Juwitaningsih^{1*}

¹Fakultas MIPA, Universitas Negeri Medan, Medan, Sumatera Utara, 20221, Indonesia

²Fakultas Teknologi Pangan dan Agroindustri, Universitas Mataram, Nusa Tenggara Barat, Indonesia

*e-mail: juwitaningsih@unimed.ac.id

Article Received on: 5th October 2025

Revised on: 23th June 2026

Accepted on: 30th July 2026

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antibakteri ekstrak n-heksan dari serbuk kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) terhadap bakteri *Salmonella enterica* ATCC 14028 secara *in vitro* dan *in silico*. Proses ekstraksi menggunakan cara maserasi dengan pelarut n-heksana. Aktivitas antibakteri secara *in vitro* diuji dengan metode difusi cakram kertas dan metode mikrodilusi untuk menentukan konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM). Analisis senyawa yang terkandung dalam ekstrak n-heksan menggunakan instrumen GC-MS. Aktivitas antibakteri secara *in silico* menggunakan *molecular docking* dengan perangkat lunak PyRx Autodock Vina pada reseptor DNA gyrase B (PDB ID : 6J90). Temuan penelitian menunjukkan bahwa ekstrak n-heksan memiliki aktivitas antibakteri dengan diameter zona hambat 10,7 mm serta nilai KHM sebesar 156,25 µg/mL dan KBM sebesar 312,5 µg/mL. Hasil analisis GC-MS pada sampel yang dilakukan menunjukkan 13 puncak (peak) terdeteksi yang mewakili 10 komponen senyawa utama. Berdasarkan analisis 10 komponen senyawa utama, didapatkan satu senyawa yang memiliki nilai persen area yang paling signifikan dan satu satunya senyawa yang memenuhi Lipinski Rules of Five, yaitu senyawa Phenol, 5-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-2-methyl-, (R)-. Hasil analisis *in silico*, senyawa Phenol, 5-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-2-methyl-, (R)- menunjukkan nilai afinitas ikatan sebesar -7,4 kkal/mol. Prediksi fisikokimia menunjukkan bahwa Phenol, 5-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-2-methyl-, (R)- mempunyai karakteristik fisikokimia yang baik. Senyawa aktif Phenol, 5-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-2-methyl-, (R)- berpotensi menghambat fungsi protein DNA gyrase B ID 6J90.

Kata kunci: antibakteri, *Caesalpinia sappan* L., ekstrak n-heksan, *in silico*, *in vitro*, *Salmonella enterica*.

ABSTRACT

This study aims to evaluate the antibacterial activity of n-hexane extracts from secang wood powder (*Caesalpinia sappan* L.) against *Salmonella enterica* ATCC 14028 *in vitro* and *in silico*. The extraction process used maceration with n-hexane as the solvent. *In vitro* antibacterial activity was tested using the paper-disc diffusion method and the microdilution method to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum bactericidal concentration (MBC). The compounds present in the n-hexane extract were analyzed using GC-MS. *In silico* antibacterial activity was assessed using molecular docking with PyRx Autodock Vina software on the DNA gyrase B receptor (PDB ID: 6J90). The research findings indicate that the n-hexane extract exhibits antibacterial activity with an inhibition zone diameter of 10.3 mm, an MIC value of 156.25 µg/mL, and an MBC value of 312.5 µg/mL. The results of the GC-MS analysis of the samples showed 13 detectable peaks representing 10 major compounds. Based on the analysis of the 10 major chemical components, one compound was found to have the most significant percentage of peak area and was the only compound that met Lipinski's Rules of Five: Phenol, 5-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-2-methyl-, (R)-. The results of the *in silico* analysis show that the compound Phenol, 5-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-2-methyl-, (R)- exhibits a binding affinity of -7.4 kcal/mol. Physicochemical predictions indicate that Phenol, 5-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-2-methyl-, (R)- possesses favorable physicochemical characteristics. The active compound Phenol, 5-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-2-methyl-, (R)- has the potential to inhibit the function of the DNA gyrase B protein ID 6J90.

Keywords: antibacterial, *Caesalpinia sappan* L., n-hexane extract, *in vitro*, *in silico*, *Salmonella enterica*.

PENDAHULUAN

Infeksi merupakan salah satu penyebab utama kematian di dunia, terutama di negara-negara

berkembang. Bakteri patogen seperti *Salmonella enterica* dapat menyebabkan berbagai jenis infeksi, mulai dari infeksi ringan hingga infeksi yang mengancam jiwa. Namun, kemampuan bakteri

untuk mengembangkan resistensi terhadap antibiotik telah menjadi masalah serius dalam pengobatan infeksi.

Penggunaan antibiotik yang tidak tepat dan berlebihan telah mempercepat proses resistensi bakteri, sehingga banyak bakteri patogen menjadi resisten terhadap antibiotik yang ada saat ini. Menurut Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) resistensi antibiotik telah menjadi ancaman global yang serius, dengan perkiraan 700.000 kematian per tahun di seluruh dunia. Angka ini menunjukkan peningkatan kasus bakteri multiresisten yang perlu segera ditangani yaitu dengan menerapkan antibiotik yang bijak (Kemenkes RI, 2021).

Keadaan ini memerlukan pengembangan antibiotik baru yang efektif untuk mengatasi infeksi yang disebabkan oleh bakteri resisten. Salah satu pendekatan yang sedang dikembangkan adalah penemuan antibiotik baru dari sumber alami. Antibiotik alami memiliki potensi besar untuk mengatasi resistensi bakteri dan dapat menjadi alternatif bagi antibiotik sintetik yang ada saat ini (Cowan, 1999). Kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) adalah salah satu contoh tanaman yang telah digunakan secara tradisional sebagai obat herbal dan memiliki potensi sebagai sumber antibiotik alami.

Kayu secang telah digunakan dalam pengobatan tradisional untuk mengobati berbagai penyakit, termasuk infeksi, dan telah dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri terhadap beberapa jenis bakteri patogen (Badami *et al.*, 2003). Studi *in silico* telah menunjukkan bahwa beberapa senyawa bioaktif dalam kayu secang, seperti brazilin dan sappanchalcone, memiliki potensi sebagai inhibitor enzim yang terlibat dalam proses resistensi bakteri (Srinivasan *et al.*, 2015).

Bacterial DNA gyrase B merupakan target penting untuk pengembangan antibakteri baru karena kemampuannya untuk memperkenalkan superkoil negatif ke substrat DNA. Enzim ini adalah target utama kuinolon yang biasanya digunakan sebagai obat pertama untuk berbagai infeksi. Pemilihan DNA gyrase B dianggap sangat berkaitan dengan penggunaan pelarut n-heksan dalam penelitian ini karena kantung yang mengikat ATP pada DNA gyrase B memiliki lingkungan hidrofobik yang sesuai untuk berinteraksi dengan senyawa nonpolar lipofilik (Biswas *et al.*, 2023).

Kajian tentang aktivitas antibakteri kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) telah banyak dilakukan, tetapi penelitian saat ini hanya fokus pada pelarut polar dan semi-polar untuk membunuh bakteri patogen seperti *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Hingga saat ini, sangat sedikit penelitian yang berfokus pada isolasi dan pengujian fraksi nonpolar ekstrak n-heksan terhadap

Salmonella enterica. Kesenjangan ini sangat penting karena senyawa nonpolar dan lipofilik dari kayu secang dianggap memiliki kemampuan untuk melewati membran yang belum dipetakan, sementara *Salmonella enterica* memiliki profil resistensi yang selalu berubah. Selain itu, metode yang digunakan untuk menguji bioaktivitas nyata secara *in vitro* yang menggunakan analisis penambatan molekuler adalah bagian penting dari penelitian ini. Metode ini tidak hanya menunjukkan sensitivitas bakteri, tetapi juga menunjukkan bagaimana senyawa nonpolar kayu secang berinteraksi dengan protein target *Salmonella enterica* yang belum pernah dijelaskan sebelumnya.

Penelitian ini memilih n-heksan sebagai pelarut nonpolar karena strateginya adalah untuk mengekstraksi senyawa lipofilik tertentu (seperti terpenoid atau steroid) yang sering luput dari ekstraksi pelarut polar. Karena bakteri gram-negatif ini memiliki membran luar yang penuh dengan lipid, penggunaan fraksi nonpolar ini sangat penting untuk melawan *Salmonella enterica*. Senyawa lipofilik dari ekstrak n-heksan diduga memiliki afinitas dan kemampuan penetrasi yang lebih tinggi daripada senyawa polar untuk merusak integritas membran lipid bakteri.

Oleh karena itu, penelitian tentang potensi kayu secang sebagai sumber antibiotik alami, baik secara *in vitro* maupun *in silico*, sangat penting untuk mengatasi masalah infeksi dan resistensi antibiotik.

MATERI DAN METODE

Bahan

Serbuk kayu secang (*C. sappan* L.), pelarut n-heksan teknis, akuades, Mueller-Hinton Agar (MHA) (Oxoid CM 0337), Mueller-Hinton Broth (MHB) (Himedia), Dimetil Sulfoksida (merck, Jerman), natrium hidroksida/NaCl fisiologis 0,9%, standar MFarland 0,5, cakram antibiotik kloramfenikol 30 µg (oxoid, ®CT0013B), cakram kosong (oxoid, Inggris), kertas saring Whatman (merck, Sigma-Aldrich), dan kertas aluminium.

Peralatan

Rotary evaporator (Cat. No. R100, Buchi, Flawil, Switzerland), tabung reaksi (iwaki), labu ukur 100 mL (iwaki), erlemeyer 200 mL (iwaki), pipet ukur 10 mL (iwaki), gelas beaker 200 mL (iwaki), mikropipet, saringan 60 mesh, corong buchner, autoclave (TOMY ES-315), cawan petri (OneLab), inkubator (Mettler), Laminar flow (B-ONE), pinset, spider, microplate (Cat. No. 702001, Nest), cotton bud, alat ukur diameter jangka sorong, microtube, microtip, vortex (SBS), tabung vial, laptop dengan prosessor Intel core i5 dan sistem

operasi windows 10. Tampilan hasil penambatan molekul menggunakan software PyRx 2009 versi 0.8 (Python) *The Scripps Research Institute* yang mengandung *AutoDock Vina*, visualisasi *Biovia Discovery Studio 2016* (Dassault Systemès), ChemDraw, Hyperchem 8.0, dan RCSB PDB (*Research Collaboratory for Structural Bioinformatics PDB*).

Cara Kerja

Preparasi dan Ekstraksi Sampel

Proses ekstraksi dilakukan dengan menimbang 1.000 g kayu secang yang sudah dihaluskan. Serbuk secang dimasukkan ke dalam wadah untuk maserasi dan ditambahkan pelarut n-heksan dengan perbandingan 1:3. Tutup wadah maserasi dan biarkan selama 24 jam pada suhu kamar, sambil diaduk secara periodik.. Setelah itu, filtrat disaring dengan corong buncher. Ulangi proses maserasi, sampai semua metabolit sekunder terekstrak, lalu gabungkan ekstrak dengan ekstrak sebelumnya. Ekstrak diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40-50°C untuk menghilangkan pelarut. Hasil akhir adalah ekstrak kental kayu secang yang dapat digunakan untuk perlakuan lebih lanjut (Juwitaningsih *et al.*, 2022).

Uji Aktivitas Antibakteri

Pembuatan Media

Serbuk MHA ditimbang sebanyak 38 g lalu ditambahkan aquades 1 L. Media MHB dibuat dengan menimbang 21 g, lalu dilarutkan dalam akuades 1 L. Lalu diautoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. Selanjutnya, media MHA dimasukkan ke dalam cawan petri diletakkan di dalam laminar air flow dan disimpan di kulkas. Media MHB ditutup lalu diletakkan di kulkas.

Penyiapan Sampel

Ekstrak dibuat dengan menimbang 100 mg ekstrak n-heksan, lalu dilarutkan dalam 1000 g/mL DMSO untuk menghasilkan larutan 1% dalam 10% DMSO (Asparinda & Juwitaningsih, 2020).

Pembuatan Suspensi Bakteri

Inokulum dibuat dengan cara mengambil tiga koloni bakteri yang memiliki bentuk serupa menggunakan kapas *cotton bud* steril dan dimasukkan ke dalam sebuah tabung yang berisi 4 mL larutan sodium klorida 0,9%. Setelah itu, kekeruhannya distandarkan dengan larutan 0,5 McFarland (Juwitaningsih *et al.*, 2020).

Uji Metode Difusi Cakram Kertas

Uji difusi cakram kertas dimulai dengan menambahkan 100 µL inokulum ke media agar, lalu meratakannya dengan spreader. Kemudian, inokulum dibiarkan kering di media agar, dan cakram diletakkan di permukaan plat. Selanjutnya,

masing-masing cakram kertas diberi 20 µL larutan uji. Pelarut DMSO digunakan sebagai kontrol negatif. Kloramfenikol 30 µg digunakan sebagai kontrol positif. Selanjutnya diinkubasi selama 18–24 jam (suhu 37 °C). Area yang menghambat pertumbuhan bakteri diukur dengan jangka sorong (Asparinda & Juwitaningsih, 2020).

Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum dengan Metode Mikrodilusi

Penentuan KHM dilakukan dengan cara mengambil satu ose bakteri dan dicampur dengan 1.000 µL natrium klorida 0,9 %. 100 µL suspensi bakteri diambil dan dicampur dengan 9.900 µL media MHB. Kolom pertama mikropate diisi dengan 100 mL MHB sebagai kontrol negatif. Pada kolom kedua media cair yang telah terlarut bakteri sebagai kontrol positif. Kolom ketiga sampai kedua belas, diisi 100 µL media cair yang telah terlarut bakteri dan sampel uji. Larutan uji dengan konsentrasi 1000 g/mL dimasukkan ke kolom dua belas. 100 µL larutan dipindahkan dari lubang dua belas ke lubang sebelas, kemudian 100 µL lagi dari lubang sebelas ke lubang sepuluh, dan proses ini berlanjut hingga lubang tiga. Setiap lubang mengandung 100 µL larutan. Setelah itu, mikropate diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37 °C. Dalam kajian ini, kloramfenikol digunakan sebagai kontrol positif. Pertumbuhan bakteri di setiap plat menentukan KHM dan KBM (Juwitaningsih *et al.*, 2020).

Penentuan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

Penentuan KBM dilakukan dengan cara mengambil 10 µL dari setiap sumur pada plat *microplate* kemudian di teteskan di atas media agar lalu di inkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam (Juwitaningsih *et al.*, 2020)

Uji Molecular Docking

Preparasi Reseptor DNA gyrase B

Reseptor *DNA gyrase B* dan ligan alami diperoleh dari Protein Data Bank (PDB). File 6J90.pdb dibuka menggunakan *Discovery Studio Visualizer*, yang memisahkan reseptor dan ligan alami serta mengeluarkan molekul air. Selanjutnya, file Reseptor.pdb dibuka menggunakan *AutoDockTools*. Pada Reseptor.pdb, ditambahkan Kollman charge dan menekan tombol Compute Gasteiger untuk menghitung nilai charge Gasteiger, reseptor disimpan dalam format reseptor.dbqt.

Redocking Reseptor dengan Ligan Alami

Autodock Vina digunakan untuk mengembalikan reseptor.pdb dan liganalami.pdb yang sudah dipisahkan. Parameter kotak grid diatur hingga nilai RMSD ≤ 2 Å, yang artinya parameter docking yang diterapkan sudah valid sehingga

metode docking dapat dapat diandalkan untuk pengujian senyawa uji (Sari, *et al.*, 2020).

Preparasi dan Screening Ligan

Struktur molekul Phenol, 5-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-2-methyl-, (R)- ditemukan dalam versi 2D-nya di PubChem, dan kemudian disimpan dalam bentuk SDF (.sdf). Selanjutnya, SMILES ligan standar tersebut disalin dan dimasukkan ke dalam situs web SwissADME untuk melakukan pemindaian farmakokinetika sesuai dengan aturan 5 Lipinski.

Penambatan Molekul Ligan Fraksi *C. sappan L.* dengan Reseptor

File reseptor.pdb dibuka menggunakan aplikasi Autodock Tools. Reseptor.pdb dioptimalkan dan disimpan dalam format reseptor.pdbqt. File ligan.pdb juga dibuka dengan Autodock Tools. Ligan.pdb dioptimalkan dan disimpan dalam format .pdbqt. Reseptor dan ligan (.pdbqt) diakses melalui perangkat lunak PyRx untuk proses docking.

Visualisasi Hasil Penambatan Molekul

Hubungan dan interaksi antara ligan dan reseptor dapat dilihat melalui *Biovia Discovery Studio Visualizer* menampilkan hasil ligan uji yang telah diuji selama proses docking.

HASIL DAN PEMBAHASAN

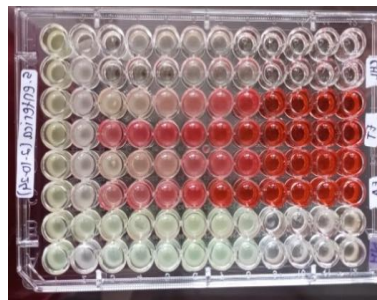
Hasil penelitian ini akan membahas tentang efektivitas ekstrak n-heksan kayu secang dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. enterica*, serta mekanisme kerja yang terlibat dalam proses antibakteri tersebut secara *in vitro* dan *in silico*.

Aktivitas Antibakteri

Dalam penelitian ini, ekstrak n-heksan dari serbuk secang dibuat dengan metode maserasi. Metode ini dipilih karena efektif dalam mengekstrak senyawa bioaktif mudah dilakukan, biaya rendah karena tidak memerlukan peralatan yang mahal, dapat digunakan untuk bahan tanaman yang sensitif terhadap panas atau tekanan (Zhang *et al.*, 2018).

DMSO yang berfungsi sebagai pelarut sampel digunakan sebagai kontrol negatif. DMSO sebagai pelarut tidak memiliki sifat antibakteri (Priamsari *et al.*, 2022). Ekstrak n-heksan menunjukkan zona bening dengan diameter 10,7 mm di sekitar cakram. Hal ini menunjukkan adanya aktivitas antibakteri yang disebabkan oleh kandungan metabolit sekunder. yang dapat mencegah pertumbuhan bakteri (Wulandari *et al.*, 2023).

Penentuan konsentrasi hambat minimum dapat dilihat dari kejernihan lubang yang menandakan bakteri tidak tumbuh ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil uji KHM ekstrak n-heksan *C. sappan L.* terhadap bakteri *S. enterica*

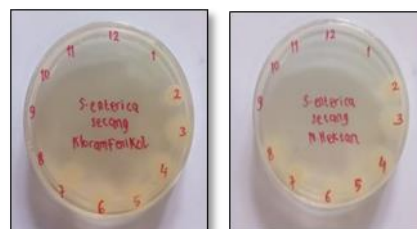
Berdasarkan Gambar 1. Nilai konsentrasi KHM terangkum pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil KHM ekstrak n-Heksan *C. sappan L* terhadap bakteri *S. enterica*

No	Sampel	KHM ($\mu\text{g/mL}$)
1	Kloramfenikol	0,48
2	Ekstrak n-heksan	156,25

Dari Tabel 1, nilai KHM ekstrak n-heksan *C. sappan L.* sebesar 156,25 $\mu\text{g/mL}$ menunjukkan adanya aktivitas penghambatan terhadap bakteri *S. enterica*. Nilai KHM di bawah 100 $\mu\text{g/mL}$ masuk kriteria sangat kuat, nilai 100 $\mu\text{g/mL}$ hingga 625 $\mu\text{g/mL}$ masuk kriteria sedang, dan nilai KHM di atas 625 $\mu\text{g/mL}$ masuk kriteria lemah (Dzoyem *et al.*, 2012). Berdasarkan kriteria tersebut, aktivitas penghambatan terhadap bakteri *S. enterica* “sedang”.

Hasil Uji KBM untuk menentukan konsentrasi bunuh minimum ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil Uji KBM bakteri *S. enterica* terhadap (a) ekstrak n-heksan (b) kloramfenikol

Berdasarkan Gambar 2 tersebut, nilai konsentrasi bunuh minimum ditunjukkan seperti pada Tabel 2.

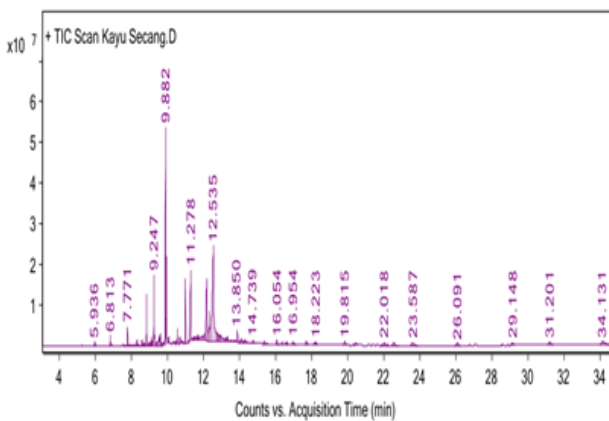
Tabel 2. Hasil KBM Ekstrak N-Heksan *C. sappan L* terhadap Bakteri *S. enterica*

No	Sampel	KBM ($\mu\text{g/mL}$)
1	Kloramfenikol	31,25
2	Ekstrak n-heksan	312,5

Dari Tabel 2, konsentrasi KBM ekstrak n-heksan dari *C. sappan L* terhadap bakteri *S. enterica* adalah 312,5 µg/mL, yang menunjukkan bahwa konsentrasi yang lebih tinggi diperlukan untuk membunuh bakteri tersebut, yang artinya memiliki sifat bakterisidal (Sari *et al.*, 2020). Karakteristik bakteristatik dan bakterisidal berhubungan dengan interaksi antara metabolit sekunder dan bakteri. Senyawa metabolit sekunder dalam *C. sappan L.* menyebabkan aktivitas antibakterinya.

Senyawa aktif ekstrak n-heksan dianalisis dengan menggunakan GC-MS. Analisis GC-MS dilakukan menggunakan 6890N Network GC System (Agilent Technologies) yang diintegrasikan dengan kolom kapiler DB5 (30 m, 0.25 mm, dan tebal lapisan film 0.25 µm), serta detektor mass spectrometer tipe 5973. Parameter kromatografi diatur dengan menggunakan gas helium sebagai pembawa pada laju alir konstan 0.7 mL/menit. Suhu awal oven kolom 180°C selama 5 menit, lalu dinaikkan secara bertahap: pertama dari 180°C ke 260°C dengan kecepatan 3°C/menit, 260°C ke 280°C dengan laju 15°C/menit, dan dipertahankan pada suhu akhir 280°C selama 5 menit. Sementara itu, suhu injektor dan detektor masing-masing dikondisikan pada 280°C dan 290°C (Nusaibah *et al.*, 2016).

Identifikasi senyawa dari ekstrak n-heksan *C. sappan L.* memperlihatkan spektrum pemisahan senyawa yang ditunjukkan seperti Gambar 3.



Gambar 3. Spektrum Pemisahan Pada Analisis GC-MS

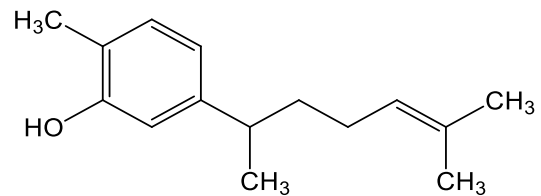
Berdasarkan hasil analisis GC-MS menunjukan bahwa terdapat 10 senyawa utama yang terkandung didalam ekstrak n-heksan *C. sappan L.* Berdasarkan analisis menggunakan GC-MS data ke-10 senyawa aktif tersebut disajikan pada Tabel 3.

Dari Tabel 3 senyawa utama dari ekstrak n-heksan adalah Phenol, 5-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-2-methyl-, (R)-

methyl-,(R)- memiliki similarity paling tinggi sebesar 94,17% dengan struktur seperti Gambar 3.

Tabel 3. Data Hasil GC-MS

Peak	Retention Time (RT)	% Area	Name	DB Formula	Similarity
1	7,771	5,36	Benzene, 1-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-4-methyl-	C ₁₅ H ₂₂	94,88
2	8,821	13,98	(R)-3,5,8a-Trimethyl-7,8,8a,9-tetrahydronaphtho[2,3-b]furan-4(6H)-one	C ₁₅ H ₁₆ O ₂	87,34
3	9,247	21,55	aR-Turmerone	C ₁₅ H ₂₀ O	89,89
4	9,882	74,58	Phenol, 5-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-2-methyl-, (R)-	C ₁₅ H ₂₀ O	94,17
5	9,94	16,69	Ethyl p-methoxycinnamate	C ₁₃ H ₁₆ O ₃	93,79
6	10,978	12,72	Hexadecanoic acid, methyl ester	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	82,24
7	11,278	28,03	Palmitic Acid	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	97
8	12,155	29,89	9-Octadecenoic acid (Z)-	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	90,97
9	12,305	15,45	Palmitic Acid	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	89,46
10	12,535	15,90	9-Octadecenoic acid (Z)-	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	94



Gambar 3. Struktur Phenol, 5-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-2-methyl-, (R)-

Senyawa Phenol, 5-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-2-methyl-, (R)- merupakan senyawa golongan terpenoid yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri (Yasacaxena *et al.*, 2023). Senyawa terpenoid memiliki cara untuk melawan bakteri dengan menghancurkan membran sel mikroba (Amalia *et al.*, 2017). Dalam fungsinya sebagai agen antibakteri, Terpenoid dapat merusak membran oleh senyawa lipofilik. Terpenoid dapat berinteraksi dengan porin (protein yang melintasi membran) di membran luar dinding sel bakteri. Setelah itu mereka membentuk ikatan polimer yang sangat kuat, yang merusak porin tersebut dan membuat dinding sel bakteri lebih tidak mudah terbuka atau menjadi kurang permeabel (Evans & Cowan, 2016).

Uji *In Silico*

Struktur senyawa uji Phenol, 5-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-2-methyl-, (R)- diambil dari database Pubchem, dan disimpan dalam format "sdf".

Preparasi Protein Target

Target protein yang dipilih adalah protein DNA gyrase B (PDB ID: 6J90). Ligan uji dari senyawa *C. sappan L.* terdiri dari Phenol, 5-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-2-methyl-, (R)- serta antibiotik kloramfenikol yang berfungsi sebagai kontrol.

Protein target perlu dicari rantai yang berikatan dengan ligan alami sehingga dapat disimpan sebagai protein yang siap untuk dilakukan docking, lalu disimpan dalam format .pdb. Struktur 3D dari setiap protein diambil dari database RCSB Protein Data Bank. Data diunduh dalam format.pdb. Sebelum melaksanakan docking, tahap awal yang dilakukan adalah persiapan protein target, termasuk penghilangan molekul air dengan menggunakan perangkat lunak Discovery Studio 2016.

Prediksi Fisiokimia

Phenol, 5-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-2-methyl-, (R)- sebagai ligan uji juga digunakan untuk menganalisis parameter fisikokimia. Ini dilakukan dengan bantuan Server web SwissADME. Prediksi fisikokimia ini berdasarkan pada lima aturan Lipinski (Daoui, 2021). Berat molekul tidak melebihi 500, Koefisien (LogP) tidak melebihi 5, jumlah donor ikatan hidrogen (HBD) tidak melebihi 5, dan jumlah akseptor ikatan hidrogen (HBA) tidak melebihi 10. Fisikokimia prediksi senyawa yang diuji ditunjukkan dalam Tabel 4.

Tabel 4. Prediksi Fisikokimia dari Phenol, 5-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-2-methyl-, (R)-

Senyawa Aktif	Berat Molekul (g/mol)	HBA	HBD	Log P
Phenol, 5-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-2-methyl-, (R)-	218	1	1	4.55
Kloramfenikol (antibiotik pembanding)	323	5	3	0.58

Moleculer Docking

Setelah mengidentifikasi ligan dan protein target dari senyawa yang diuji, perangkat lunak pyRx digunakan untuk melakukan prediksi dan docking molekuler. Perangkat lunak ini mengolah makromolekul, termasuk protein target serta Phenol, 5-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-2-methyl-, (R)- dan ligan alami. Selanjutnya, docking khusus dilakukan pada posisi di mana ikatan antara ligan yang diuji dan alami terjadi. Pusat protein 6J90 mengandung koordinat X:13,256; Y:49,649; dan Z:27,429. Lokasi grid box (42,723 52,383 44,556) koordinat kartesian, ukuran grid box 20 × 20 × 20 dengan spacing 1 Å dengan 22 torsi aktif. Parameter exhaustiveness diatur 16 dan jumlah pose hasil penambatan sembilan. Kemudian output berkas pdbqt dikonversi menjadi berkas pdb menggunakan Open Babel dan divisualisasikan interaksinya menggunakan Biovia Discovery Studio. Kemudian

dilakukan docking untuk mendapatkan binding affinity dan RMSD.

Ikatan antara protein target, ligan alami, ligan yang diuji, dan antibiotik kloramfenikol dilihat dalam uji in silico. Tabel 4 menunjukkan hasil ikatan antara senyawa obat yang di uji, Phenol, 5-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-2-methyl-, (R)- *C. sappan* L., dengan protein target *S. enterica*, yaitu DNA gyrase B.

Tabel 5. Nilai Afinitas ikatan dan RMSD Interaksi Protein-Ligan

Ligan	Afinitas Ikatan (kcal/mol)	RMSD (Å)
Phenol, 5-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-2-methyl-, (R)-	-7,4	1,32
Kloramfenikol	-6,8	1,90
Ligan Alami	-6,6	1,24

Nilai afinitas ikatan digunakan untuk menentukan kemampuan protein untuk mengikat ligan pada titik tertentu. Jika dibandingkan dengan antibiotik kloramfenikol, afinitas ikatan Phenol, 5-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-2-methyl-, (R)- terhadap protein DNA gyrase B lebih rendah, dengan -7,4 Kkal/mol. Nilai ikatan terbaik dicapai ketika energi ikatan berada di titik terendah atau paling negatif (Sattari, 2021). Keadaan energi terendah biasanya menunjukkan area interaksi antara ligan dan protein yang dituju. Ini menunjukkan bahwa molekul berada dalam kondisi stabil, yang berarti bahwa interaksi antara ligan dan protein yang dituju lebih kuat karena nilai afinitas ikatan yang lebih rendah (Mukesh dan Rakesh 2011).

Jika nilai Root Mean Standard Deviation (RMSD) tidak melebihi 2 Å, maka metode penempatan molekul dianggap valid (Muttaqin, 2019). Nilai RMSD yang umumnya ≤ 2 Å mengindikasikan pose ikatan yang stabil dan valid. Ketepatan posisi ligan yang didapat dari penempatan molekul ulang dibandingkan dengan posisi ligan yang ditentukan melalui kristalografi akan lebih akurat bila nilai RMSD lebih kecil. Cross *et al.* (2009) mengemukakan bahwa selama nilai RMSD tetap di bawah 2,0 Å, ini menandakan bahwa proses docking telah berhasil. Dalam validasi metode docking untuk reseptor ID 6J90, nilai RMSD untuk ligan alami tercatat sebesar 1,24 Å, yang berada di bawah 2 Å. Jika RMSD hasil *re-docking* rendah, maka akan semakin mirip posisi ligan yang dihasilkan dengan posisi ligan yang asli. Temuan ini menunjukkan bahwa ukuran dan koordinat kotak grid dapat mendukung proses docking senyawa yang diuji.

Interaksi Ligan dan Reseptor

Ligan dan protein membentuk suatu ikatan interaksi yang ditunjukkan dalam Tabel 6. Residu asam amino Lys103, Ile78, dan Ile94, yang memiliki jenis ikatan hidrofobik, menunjukkan sisi aktif penting kompleks. Residu asam amino Asn46 dan Ile78 menunjukkan sisi aktif yang mirip dengan kontrol, kloramfenikol, sehingga asam amino ini menjadi acuan lokasi aktif kandidat untuk obat yang mirip dengan kloramfenikol. Banyak ligan dan asam amino berinteraksi melalui ikatan hidrofobik, menunjukkan bahwa mereka memiliki kemampuan untuk berfungsi sebagai penghambat (Sattari, 2021).

Tabel 6. Nilai Afinitas ikatan dan RMSD Interaksi Protein-Ligan

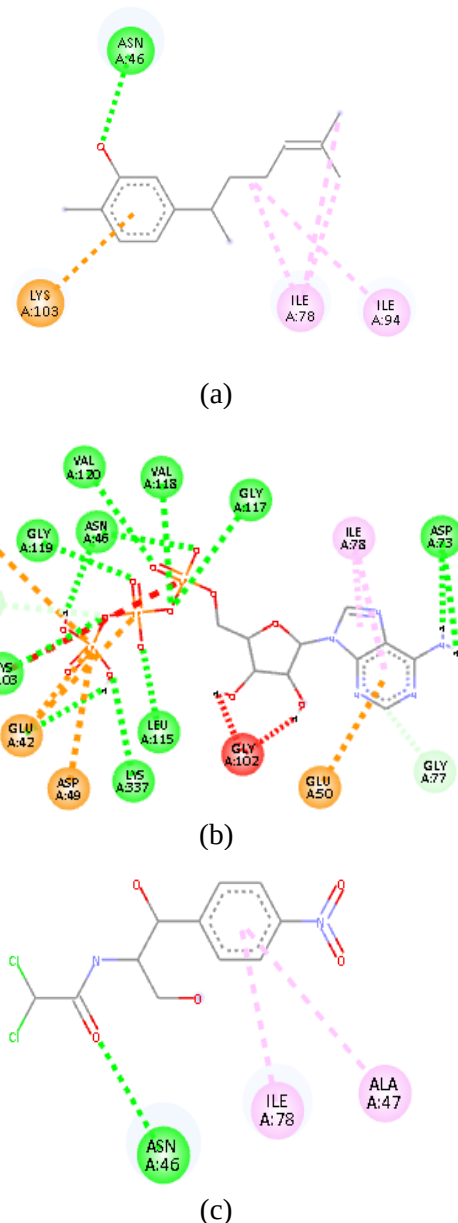
Ligan	Interaksi asam amino		Jumlah
	Hidrogen	Hidrofobik	
Phenol, 5-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-2-methyl-, (R)-	Asn46	Lys103, Ile78, Ile94	4
Kloramfenikol	Asn46	Ile78, Ala47	3
Ligan Alami	Val120, Gly119, Asn46, Val118, Gly117, Asp73, Lys103, Leu115, Lys337	Asp45, Gly114, Glu42, Asp49, Gly102, Glu50, Gly77, Ile78	17

Gambar 4 menunjukkan struktur 2D interaksi antara ligan dan asam amino dalam protein target. Program Discovery Studio dapat digunakan untuk menentukan tipe ikatan.

Analisis pengikatan molekul bertujuan untuk mengetahui tempat terjadinya ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik antara senyawa yang dikaji dan protein yang dituju, serta untuk mengetahui seberapa kuat hubungan kompleks tersebut. Dengan kontrol acuan, senyawa yang aktif seharusnya berinteraksi dengan protein yang dituju dengan kuat. (Hartati, 2021).

Salah satu enzim dari kategori topoisomerase tipe II adalah subunit B DNA *gyrase*. Protein yang ada di dalamnya berfungsi sebagai reseptor yang menghentikan biosintesis DNA, yang mengakhiri hidup sel bakteri (Yuan, 2023). Akibatnya, ketika empat asam amino Asn46, Lys103, Ile78, dan Ile94 berinteraksi dengan DNA *gyrase* B, sintesis DNA pada bakteri akan mengalami penghambatan, yang menyebabkan sel bakteri menjadi tidak aktif. Protein DNA *gyrase* B dapat terikat dengan ligan Phenol, 5-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-2-methyl-, (R)-

dan dapat membentuk ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik. Hubungan yang kuat antara ligan dan reseptor dapat dihasilkan oleh interaksi ini, yang terdiri dari ikatan hidrogen dan hidrofobik (Patil *et al.*, 2010).



Gambar 4. Visualisasi Interaksi Residu Asam Amino Ligan dan Protein 6J90 (a) Phenol, 5-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-2-methyl-, (R)- (b) Ligan alami (c) Kloramfenikol

SIMPULAN

Ekstrak n-heksan *C. sappan L.* menunjukkan aktivitas pada bakteri *S. enterica* dengan kategori sedang. Senyawa utama ekstrak n-heksan yaitu Phenol, 5-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-2-methyl-, (R)-

Hasil in silico senyawa Phenol, 5-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-2-methyl-, (R)- sudah sesuai standar karena memenuhi 5 kriteria yang ditentukan oleh Lipinski sehingga dapat dijadikan kandidat obat.

DAFTAR PUSTAKA

- Amalia, A., Sari, I., dan Nursanty, R. 2017. Aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun sembung (*Blumea balsamifera* (L.) DC.) terhadap pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). In *Prosiding Seminar Nasional Biologi, Teknologi dan Kependidikan*, 5(1): 189-194.
- Asparinda, I., dan Juwitaningsih, T. 2020. Toksisitas Fraksi Non Polar Gal Manjakani (*Quercus infectoria*). *Acta Pharm Indo*, 8(2): 69-79.
- Badami, S., Moorkoth, S., Rai, S. R., Kannan, E., & Bhojraj, S. 2003. Antioxidant activity of *Caesalpinia sappan* heartwood. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 26(11): 1534-1537.
- Biswas, P., Sengupta, S., & Nagaraja, V. (2023). Evolution of YacG to safeguard DNA gyrase from external perturbation. *Research in Microbiology*, 174(7): 104093.
- Chairunnisa, S., Wartini, N. M., & Suhendra, L. (2019). Pengaruh suhu dan waktu maserasi terhadap karakteristik ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana* L.) sebagai sumber saponin. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, 7(4): 551-560. <https://doi.org/10.24843/jrma.2019.v07.i04.p07>
- Cowan, M. M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12(4): 564-582.
- Cross, J. B., Thompson, D. C., Rai, B. K., Baber, J. C., Fan, K. Y., Hu, Y., dan Humblet, C. 2009. Comparison of several molecular docking programs: pose prediction and virtual screening accuracy. *Journal of chemical information and modeling*, 49(6): 1455-1474.
- Daoui, O., Elkhatabi, S., Chtita, S., Elkhlabi, R., Zgou, H., & Benjelloun, A. T. (2021). QSAR, molecular docking and ADMET properties in silico studies of novel 4, 5, 6, 7-tetrahydrobenzo [D]-thiazol-2-Yl derivatives derived from dimedone as potent anti-tumor agents through inhibition of C-Met receptor tyrosine kinase. *Heliyon*, 7(7): e07463. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07463>
- Dzoyem, J. P., NKuete, A. H., Kuete, V., Tala, M. F., Wabo, H. K., Guru, S. K., dan Tan, N. H. 2012. Cytotoxicity and antimicrobial activity of the methanol extract and compounds from *Polygonum limbatum*. *Planta medica*, 78(08): 787-792.
- Evans, S. M., & Cowan, M. M. 2016. Plant products as antimicrobial agents. *Cosmetic and Drug Microbiology*. 12(4): 205-231.
- Hartati FK, Djauhari AB, Viol Dhea K. 2021. Evaluation of pharmacokinetic properties, toxicity, and bioactive cytotoxic activity of black rice (*Oryza sativa* L.) as candidates for diabetes mellitus drugs by in silico. *Biointerface Res Appl Chem*, 11(4): 12301-12311.
- Kemenkes RI. 2021. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 28 Tahun 2021 Tentang Pedoman Penggunaan Antibiotik. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Juwitaningsih, T., Jahro, I. S., dan Sari, S. A. 2020. Evaluation of north sumatera cardamom seed (*Amomum compactum*) extract as antibacterial and anticancer. *Journal of Physics: Conference Series*, 1485(1): 012004. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1485/1/012004>
- Juwitaningsih, T., Syahputra, N., Eddiyanto, E., Windayani, N., & Rukayadi, Y. 2022. Antibacterial and Anticancer Activities of Acetone Extract *Caesalpinia sappan* L. *al Kimiya: Jurnal Ilmu Kimia dan Terapan*, 9(2): 82-88.
- Malau, N. D., dan Azzahra, S. F. 2019. Analisa docking cyanidin 3, 5-di-(6-malonylglucoside) terhadap reseptor *Plasmodium falciparum* Enoyl Acyl Carrier Protein Reductase (PfENR) sebagai anti malaria. *Jurnal EduMatSains*, 4(1): 99-110.
- Muttaqin, F. Z. 2019. Molecular docking and molecular dynamic studies of stilbene derivative compounds as sirtuin-3 (Sirt3) histone deacetylase inhibitor on melanoma skin cancer and their toxicities prediction. *Journal of Pharmacopolium*, 2(2): 112-121. <https://doi.org/10.36465/jop.v2i2.489>
- Nusaibah, S.A., Akmar, A.S., Idria, A.S., Sariah, M., dan Pauzi, Z.M. 2016. Involvement of metabolites in early defense mechanism of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) against *Ganoderma* disease. *Plant Physiology and Biochemistry*. 109: 156-165.
- Patil, R., Das, S., Stanley, A., Yadav, L., Sudhakar, A., & Varma, A. K. 2010. Optimized hydrophobic interactions and hydrogen bonding at the target-ligand interface leads the pathways of drug-designing. *PloS one*, 5(8): 12029. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0012029>

- Prabawa, I. D. G. P., Khairiah, N., dan Ihsan, H. 2019. Kajian bioaktivitas dan metabolit sekunder dari ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) untuk sediaan bahan aktif. *In Prosiding Seminar Nasional Ke-2 Tahun* (pp. 1-10).
- Priamsari, M. R., dan Nuraida, E. A. 2022. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Singkil (*Premna corymbosa*) Terhadap Bakteri *Salmonella typhi* Secara *In Vitro*. *Indonesian Journal on Medical Science*, 9(2):166-171.
- Rakesh, G., Mukesh, S., Dharmendra, A., & Anurekha, J. 2019. Synthesis and Anti-oxidant Activity of Phenol and Aldehyde Derivatives of Sulfonyl Chloride Quinoxaline. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 9(4-s), 1240–1244. <https://doi.org/10.22270/jddt.v9i4-s.3576>
- Sari, Indah Wulan dkk. (2020). Studi Molecular Docking Senyawa Flavonoid Herba Kumis Kucing (*Orthosiphon Stamineus* B.) Pada Reseptor A-Glukosidase Sebagai Antidiabetes Tipe 2. *Jurnal Farmagazine*, 7(2): 54-60.
- Sari, S. A. 2020. Antibacterial activity of various medicinal plants in North Sumatra against common human pathogens. *Research Journal of Chemistry and Environment*, 24(1): 100-105.
- Sattari A, Ramazani A, Aghahosseini H. 2021. Repositioning therapeutics for COVID-19: virtual screening of the potent synthetic and natural compounds as SARS-CoV-2 3CLpro inhibitors. *J Iran Chem Soc*, 18(10): 2807–27.
- Srinivasan, R, Selvam, GG, Karthik, S, Mathivanan, K, Baskaran, R, Karthikeyan, M, et al. 2012. *In vitro* antimicrobial activity of *Caesalpinia sappan* L. *Asian Pac J Trop Biomed*, 1(1): 136-139.
- World Health Organization. 2019. Antimicrobial resistance: *World Health Organization*.
- Widodo, A., Khumaidi, A., dan A. Lasongke, P. F. 2019. Toksisitas Ekstrak Etanol dan Ekstrak Air dari Daun Jotang Kuda (*Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn.), Daun Gandarusa (*Justicia Gendarussa* Burm.F.), dan Daun Pulutan (*Urena lobata* L.) dengan Brine Shrimp Lethality Test. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*, 5(2): 198–205.
- Wulandari, I. R., dan Luliana, S. 2023. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak n-Heksan dan Etanol Kombinasi Buas-Buas dan Secang Terhadap Pertumbuhan *Propionibacterium acnes*. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 5(3): 429-438.
- Yasacaxena, P. L. N., Defi, M. N., Kandari, V. P., Weru, P. T. R., Papilaya, F. E., Oktafera, M., & Setyaningsih, D. 2023. Ekstraksi Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dan Aktivitas Sebagai Antibakteri. *Jurnal Jamu Indonesia*, 8(1): 10-17.
- Yuan C, Hao X. Heliyon. 2023. Antibacterial mechanism of action and in silico molecular docking studies of Cupressus funebris essential oil against drug resistant bacterial strains. *Heliyon*, 9(8): 18742.
- Zhang, Q. W., Li, J., & Li, W. 2018. Extraction and analysis of bioactive compounds from plant materials. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 157: 1-12.