

POTENSI KOMBINASI EKSTRAK *Halimeda* sp. DAN SAMBILOTO SEBAGAI IMUNOSTIMULATOR BAGI LANSIA DARI PAPARAN COVID-19

Potential Combination of Halimeda sp and Sambiloto Extracts as Immunostimulators for the Elderly from Exposure to Covid-19

Nurul Khayati, Mita Diana Silsilia, Sesa Sabrina, Rachma Asyifa Surya,
Shafa Ardellia Mulyadi, Putut Har Riyadi*

Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan,
Universitas Diponegoro, Jalan Prof. Soedarto, SH Tembalang, Semarang, 50275 Central Java, Indonesia
E-mail: putut.riyadi@gmail.com

Diserahkan tanggal 30 Agustus 2021, Diterima tanggal 21 Desember 2021

ABSTRAK

Pandemi covid-19 menyebabkan krisis utama kesehatan masyarakat. Kondisi lansia yang renta dan biasanya memiliki imunitas tubuh yang lemah dapat berakibat fatal apabila terpapar virus covid-19. Salah satu upaya yang dapat dilakukan agar lansia tercegah dari paparan covid-19 yaitu dengan perlindungan dari dalam tubuh dengan memiliki sistem imunitas yang kuat. Peningkatan imunitas pada lansia yaitu dengan mengonsumsi bahan makanan yang memiliki senyawa antioksidan tinggi, di antaranya adalah alga *Halimeda* sp dan Sambiloto. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik dan potensi senyawa kombinasi ekstrak alga *Halimeda* sp. dan sambiloto untuk meningkatkan imunitas tubuh menggunakan analisa in silico. Nilai total fenol dan IC₅₀ terbaik didapatkan dari perlakuan 1:1 rasio berat antara ekstrak kasar alga *Halimeda* sp dengan ekstrak kasar daun sambiloto. Analisa GC-MS dengan kualitas skrining di atas 85 % mendapatkan 3 (tiga) senyawa yaitu 2- Butoxyethanol (74,12 %), gamma-Butyrolactone (23,72 %) dan Phenol (2,15 %). Senyawa tersebut mempunyai potensi sebagai antioksidan, anti-inflamasi, immunostimulator maupun antivirus berdasarkan PASS server. Semua senyawa mempunyai potensi drug-likeness, penyerapan, distribusi, metabolisme, ekskresi dan toksisitas yang baik dalam tubuh berdasarkan analisa in silico (SwissADME dan Pro Tox II). Hal ini dapat menjadi dasar pengembangan *nutraceutical* untuk lansia dalam rangka meningkatkan imunitas dan mencegah paparan Covid-19.

Kata kunci: *Halimeda* sp; Immunostimulator; Covid19; In silico; Sambiloto

ABSTRACT

The COVID-19 pandemic is causing a significant public health crisis. The elderly who are old and usually have a weak immune system can be fatal if exposed to the Covid-19 virus. One of the efforts that can be done so that the elderly are prevented from exposure to COVID-19 is by protecting them from within the body by having a strong immune system—increasing immunity in the elderly by consuming foods with high antioxidant compounds, including the algae Halimeda sp and Sambiloto. This study aims to determine the characteristics and potency of Halimeda sp. and bitter combination compound to increase body immunity using in silico analysis. The best total phenol and IC₅₀ values were obtained from the 1:1 weight ratio treatment between the crude extract of Halimeda sp algae and the crude extract of bitter leaf. GC-MS analysis with screening quality above 85% obtained 3 (three) compounds, namely 2-Butoxyethanol (74.12%), gamma-Butyrolactone (23.72%), and Phenol (2.15%). These compounds have potential as antioxidants, anti-inflammatory, immunostimulators, and antivirals based on the PASS server. All compounds have good drug-likeness potential, absorption, distribution, metabolism, excretion, and toxicity in the body based on in silico analysis (SwissADME and Pro Tox II). It can be the basis for developing nutraceuticals for the elderly to increase immunity and prevent exposure to Covid-19.

Keywords: *Halimeda* sp; Sambiloto; Immunostimulator; Covid19; In silico

PENDAHULUAN

Akhir tahun 2019, bumi digemparkan oleh wabah baru yaitu covid-19 yang berasal dari China dan meluas ke seluruh dunia. Pandemi covid-19 menyebabkan krisis utama kesehatan masyarakat. Presentase kejadian covid-19 di Indonesia semakin hari terus mengalami peningkatan, baik angka kematian maupun kasus positif covid-19 (Setiati dan Azwar, 2020). Memburuknya wabah ini mendorong pemerintah untuk menerapkan kebijakan pembatasan kegiatan sosial atau social distancing. .

Wabah covid-19 di Indonesia setiap harinya juga terus meningkat, baik penderita dengan gejala maupun tanpa gejala. Indonesia mendeteksi 56.767 kasus baru pada 15 Juli, tetapi tingkat tes positifnya telah melonjak menjadi 26%, menunjukkan bahwa sejumlah besar kasus terlewatkan. Sebuah survei serologi oleh Pusat Pengendalian Penyakit Indonesia, yang dilakukan pada akhir Maret dan diterbitkan pada 9 Juli, menemukan antibodi covid-19 pada 44,5% penduduk Jakarta, menunjukkan bahwa 4,7 juta dari 10,6 juta penduduk kota telah terpapar beberapa bentuk penyakit karena Covid-19 (Dyer, 2021). Gejala Covid-19 ditunjukkan dengan

gejala demam tinggi, sakit tenggorokan, batuk dan sesak nafas (Nehme et al., 2021). Penularan covid-19 terus terjadi karena adanya rantai penyebaran virus yang sulit terkendali. Hal tersebut mengakibatkan kesehatan masyarakat menjadi sasaran utama yang berisiko. Terdapat kelompok masyarakat yang berisiko tinggi tertular covid-19 seperti lansia (Girdhar et al., 2020). Kondisi lansia yang renta dan biasanya memiliki imunitas tubuh yang lemah dapat berakibat fatal apabila terpapar virus covid-19. Obat yang belum ditemukan dan pemberian vaksin yang bersyarat membuat lansia merasa cemas. Rasa cemas lansia yang berlebihan mengakibatkan sistem imunitas menurun yang dapat berdampak buruk bagi kesehatan lansia.

Salah satu upaya yang dapat dilakukan agar lansia tercegah dari paparan covid-19 yaitu dengan perlindungan dari dalam tubuh. Pelindungan yang dapat diterapkan agar tercegah covid-19 yaitu dengan memiliki sistem imunitas atau kekebalan tubuh yang kuat (Taghizadeh-Hesary, dan Akbari, 2020). Imunitas yang rendah pada manusia terkhusus lansia akan menyebabkan mudahnya terpapar covid-19. Imunitas yang kuat dapat menekan dampak yang buruk apabila terpapar covid-19. Peningkatan imunitas tubuh atau kekebalan tubuh pada manusia terutama lansia yaitu dengan mengonsumsi

bahan makanan yang memiliki senyawa antioksidan yang tinggi. Salah satu bahan makanan yang mengandung antioksidan tinggi yaitu alga hijau spesies *Halimeda* sp dan daun sambiloto.

Makroalga genus *Halimeda* memiliki potensi kandungan antioksidan (Gazali, dan Zamani, 2019). Kandungan antioksidan pada daun sambiloto dan alga hijau *Halimeda* sp. diharapkan dapat meningkatkan sistem imunitas lansia sehingga tercegah dari paparan covid-19. Daun sambiloto mengandung zat yang berpotensi sebagai antioksidan, anti-inflamasi, dan anti kanker (Mussard et al., 2019). Selain itu juga mempunyai potensi sebagai imunostimulator (Akbar, 2011). Imunostimulator merupakan senyawa antioksidan yang dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh dari virus dan bakteri.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik dan potensi senyawa pada kombinasi ekstrak alga *Halimeda* sp. dan herbal sambiloto menggunakan analisa in silico. Penelitian dengan pendekatan bioinformatika dan in silico pada bidang kesehatan senantiasa terkait dengan usaha untuk memprediksi potensi biologis dan penyerapan dalam tubuh manusia. Penggunaan PASS dan *SwissADME* dapat memprediksi hal tersebut (Riyadi et al., 2020).



(a)



(b)

Gambar 1. Simplisia (a) *Halimeda* sp. (b) Sambiloto

METODE PENELITIAN

Preparasi Sampel

Alga *Halimeda* sp. yang digunakan diambil dari pesisir Pulau Seliu, Provinsi Bangka Belitung dan sambiloto segar diperoleh di Kota Magelang, Jawa Tengah (Gambar 1).

Ekstraksi Simplisia

Ekstrak alga *Halimeda* sp. diperoleh melalui proses ekstraksi dengan cara maserasi. Sebelum dimaserasi, alga *Halimeda* sp. yang diperoleh dari pantai harus dicuci agar bersih dari garam dan pasir yang menempel. Sampel dikeringkan dan dipotong kecil-kecil, selanjutnya sampel *Halimeda* sp. dimaserasi dengan pelarut metanol 96% dengan 3 kali pengulangan selama 24 jam. Sampel selanjutnya disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan filtrat 1 dan debris. Debris atau residu pada penyaringan pertama kemudian dimaserasi kembali untuk menghasilkan filtrat 2,

begitu seterusnya hingga ulangan ke-3. Ketiga filtrat hasil maserasi dihomogenisasi kemudian disaring dan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* untuk mendapatkan ekstrak kental alga *Halimeda* sp. Sedangkan ekstrak daun sambiloto dibuat melalui teknik maserasi menggunakan metanol 96%. Serbuk kering simplisia daun sambiloto dimasukkan ke dalam maserator kemudian direndam dengan larutan metanol 96% selama 6 jam sambil sesekali diaduk dan didiamkan selama 24 jam. Maserat selanjutnya dipisahkan dan pengulangan proses dilakukan sebanyak 2 kali. Hasil maserat pada proses 1 dan 2 dikumpulkan kemudian diuapkan dengan penguap vakum hingga diperoleh ekstrak kental.

Perlakuan Percobaan

Perlakuan percobaan yang dilakukan adalah dengan perbedaan rasio berat antara ekstrak kental alga *Halimeda* sp. dengan ekstrak kental herba sambiloto. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Perlakuan Percobaan Penelitian

Kode Sampel	Rasio	
	<i>Halimeda</i> sp.	Sambiloto
A	1	1
B	2	1
C	3	2

Uji Total Fenol

Pengujian total fenol diuji berdasarkan metode Fithriani *et al.* (2015). Ekstrak dilarutkan dalam aquades dan dibuat pada konsentrasi 10.000 ppm. Sebanyak 50 µl ekstrak ditambahkan aquades sebanyak 50 µl. Larutan kemudian ditambah 50 µl larutan folin 10 % dan 50 l larutan bikarbonat (60 g/L). Mikroplat selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang selama 60 menit. Absorbansi dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 750 nm. Standar asam galat dibuat dengan melarutkan asam galat dalam aquades dan dibuat pada konsentrasi 3,125; 6,25; 12,5; 25; 50; 100 (g/ml). Aquades juga digunakan sebagai blanko. Untuk standar dan blanko diuji dengan cara yang sama seperti sampel. Total fenol dikalibrasi terhadap standar asam galat dan diekspresikan sebagai mg gallic acid equivalent (G.A.E.) g-1D.W.

Uji DPPH (IC₅₀)

Aktivitas antioksidan ditentukan menggunakan metode penangkapan radikal bebas DPPH (Dewanto *et al.*, 2021 dan Molyneux, 2004). Sebanyak 25 mg ekstrak daun *R. apiculata* yang ditempatkan dalam wadah. Lalu, ditambahkan etanol sebanyak 125 mL, sehingga diperoleh konsentrasi ekstrak 200 µg/mL. Setelah itu, dibuat seri pengenceran 20, 40, 60, 80, 100 µg/mL. Sebuah alikuot 2 mL dari larutan ekstrak dari tiap konsentrasi ditambahkan ke 2 mL larutan DPPH 50 µM. Campuran dihomogenisasi dan dibiarkan selama 30 menit dalam ruangan gelap pada suhu ruang, sebelum dilakukan pengukuran penyerapan radikal bebas pada panjang gelombang 517 nm dengan Spektrofotometer (UV-VIS spectrophotometer T90+ PG Instruments Ltd). Nilai absorbansi larutan DPPH juga diukur dan ditentukan berdasarkan nilai IC₅₀. Vitamin E digunakan sebagai kontrol pembanding. Lalu, persentase inhibisi diplot pada sumbu y dan sumbu x sebagai konsentrasi ekstrak yang dilarutkan, untuk memperoleh persamaan regresi linier ($y=a+bx$). Nilai IC₅₀ ditentukan sebagai konsentrasi larutan ekstrak yang diperlukan untuk menangkap radikal bebas DPPH sebesar 50%. Pengujian dilakukan dengan tiga kali pengulangan dan hasil pengukuran diekspresikan dengan standar deviasi. Persentase inhibisi sampel dihitung menggunakan persamaan:

$$\text{DPPH Scavenging Effect (\%)} = \frac{\text{Blank Absorbance} - \text{Sample Absorbance}}{\text{Blank Absorbance}} \quad (1)$$

Analisa GC-MS

Profil kimia dari ekstrak diskriminasi menggunakan Gas Chromatography Mass Spectrometry-GCMS (Hewlett-Packard 6890), dengan kolom Agilent 19091S-433 HP-5MS yang memiliki panjang 30 m dan diameter 250 µm. Sebanyak 1 µL ekstrak (dilarutkan dengan metanol) diinjeksikan ke GC-MS. Gas helium digunakan sebagai gas pembawa dengan laju alir 1 mL/menit dan suhu oven diatur pada 325°C. Suhu oven awal adalah 150°C yang ditahan pada 2°C/menit. Proses ini

berjalan selama 10°C/menit dan kemudian ditingkatkan menjadi 240°C dengan waktu tahan selama 11 menit. Total waktu yang berjalan adalah 22 menit dengan rentang pemindaian adalah 50 - 550 amu. Skrining profil struktur kimia didasarkan pada analisis pola fragmentasi spektrum massa dan dibandingkan dengan spektrum massa pada database profil senyawa National Institute of Standards and Technology (NIST) dan Wiley.

Analisa In Silico

Langkah pertama adalah mengakses server PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) untuk mendapatkan canonical SMILE (Riyadi *et al.*, 2020a). Tahap kedua adalah mengakses PASS server (<http://www.pharmaexpert.ru/passonline/index.php>) untuk mendapatkan prediksi potensi biologis (Riyadi *et al.*, 2021). Tahap ketiga adalah mengakses SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>) untuk memperkirakan penyerapan, distribusi, metabolisme, dan ekskresi (Riyadi *et al.*, 2020b)). Tahap keempat adalah menggunakan Pro Tox II (https://tox-new.charite.de/protox_II/index.php?site=compound_input) untuk memperkirakan toksisitas (Riyadi *et al.*, 2020c).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisa Total Fenol dan DPPH (IC₅₀)

Hasil aktivitas antioksidan dengan total fenol disajikan pada Tabel 2. dimana nilai IC₅₀ sampel tersebut masuk ke kategori sedang dan lemah aktivitas antioksidannya. Kategori sedang untuk perbandingan 1:1, dan untuk perbandingan 1:2 dan 1:3 termasuk kategori lemah.

Tabel 2. Nilai Total Fenol dan IC₅₀

Kode Sampel	Total fenol mg GA/g	IC ₅₀ (ppm)
A (1:1)	100,2273	156
B (1:2)	37,9091	252
C (1:3)	13,13182	200

Hasil aktivitas antioksidan tersebut selaras dengan hasil total fenol yang diperoleh, dimana perbandingan 1:1 memiliki total fenol terbanyak dengan tingkat antioksidan terkuat. Namun terjadi perbedaan untuk hasil total fenol terendah terdapat pada perbandingan 1:3, sedangkan aktivitas antioksidan terendah terdapat pada perbandingan 1:2. Hal ini dimungkinkan karena fenol pada konsentrasi rendah pun dapat bertindak sebagai antioksidan (Karakaya, 2004). Senyawa fenol berasal dari salah satu kelas utama metabolit sekunder pada tumbuhan (Naczka & Shahidi, 2004). Hal ini sangat dimungkinkan karena sampel berasal dari tanaman. Berdasarkan analisa DPPH, maka dipilih sampel kode A untuk dianalisa GC MS dan in silico.

Analisa GC-MS

Hasil dari analisa GC-MS dengan kualitas skrining di atas 85%. Terdapat 3 senyawa dengan urutan kadar dari paling tinggi adalah 2- Butoxyethanol (74,12%), gamma-Butyrolactone (23,72%) dan Phenol (2,15 %) (Tabel 3). Selanjutnya pada tabel 4 menunjukkan data canonical SMILE dan Pubchem ID.

Senyawa fenol mempunyai potensi sebagai antioksidan, immunostimulan maupun antivirus (Tabel 5). Fenol telah dipelajari secara luas dan dikonfirmasi memiliki beragam bioaktivitas yang dapat bermanfaat bagi kesehatan manusia. Fenol dikenal untuk mengurangi risiko kanker, penyakit jantung, dan diabetes; untuk menghambat agregasi platelet plasma, aktivitas siklooksigenase (COX), dan pelepasan histamin, serta untuk antibakteri, antivirus, anti-inflamasi, dan anti-alergi ((Oak, El Bedoui, & Schini-Kerth, 2005; Shetty, 2004). Yang, Landau, Huang, & Newmark, 2001; Yao et al., 2004)).

Analisa PASS

Berdasarkan analisa PASS server, 2-Butoxyethanol dan gamma-Butyrolactone mempunyai potensi sebagai anti-inflamasi, antivirus dan immunostimulan. Immunostimulan dapat membantu dalam berbagai proses penyakit yang berkaitan terhadap kelainan yang dimediasi imun kronis, termasuk infeksi virus kronis, tuberkulosis, rheumatoid arthritis, alergi, kanker, dan penyakit autoimun (Bouic dan Lamprecht, 1999). Studi imunologi sangat diperlukan untuk memahami *patogenesis*, meningkatkan pengobatan penyakit dan meningkatkan prognosis (Sanders *et al.*, 2020).

Tabel 6 menunjukkan psikokimia dari 3 senyawa. Ketiga senyawa mempunyai potensi sebagai antioksidan tergantung pada jumlah dan susunan gugus hidroksil dalam molekul yang diinginkan (Cao, Sofic, & Prior, 1997; Sang, Lapsley, Jeong, et al., 2002). Antioksidan fenolik (AH) dapat menyumbangkan atom hidrogen untuk radikal lipid dan menghasilkan turunan lipid dan radikal antioksidan, yang lebih stabil dan kurang tersedia untuk mempromosikan autoksidasi (Kiokias et al., 2008). Radikal bebas antioksidan selanjutnya dapat mengganggu reaksi propagasi berantai.

Tabel 7 menunjukkan lipofilisiti dari 3 senyawa. SwissADME menyediakan lima model yang tersedia secara bebas untuk mengevaluasi karakter lipofilisitas suatu senyawa, yaitu XLOGP3, WLOGP, MLOGP, SILICOS-IT, dan iLOGP. XLOGP3, pendekatan atomistik dengan faktor korektif dan perpustakaan berbasis pengetahuan (Tripathi et al., 2019). WLOGP adalah metode atomistik murni untuk menangani

sistem yang terfragmentasi (Chandran et al., 2019). MLOGP, pola dasar metode topologi, didasarkan pada hubungan linier dengan 13 deskriptor molekul yang diterapkan (Moriguchi et al., 1994). SILICOS-IT adalah metode hybrid yang menggunakan 27 fragmen serta tujuh deskriptor topologi.

Tabel 3. Profil GC-MS

No	R. Time	Formula	Senyawa	Area %
1	4,543	C ₆ H ₆ O	Phenol	2,15
2	4,853	C ₆ H ₁₄ O ₂	2-Butoxyethanol	74,12
3	5,050	C ₄ H ₆ O ₂	gamma-Butyrolactone	23,72

Tabel 4. Canonical SMILE

Senyawa	Pubchem ID	Canonical SMILE
Phenol	996	C1=CC=C(C=C1)O
2-Butoxyethanol	8133	CCCCOCCO
gamma-Butyrolactone	7302	C1CC(=O)OC1

Tabel 5. Analisa PASS

Senyawa	Potensi Aktivitas Biologi (Pa)
Phenol	Antioksidan (0,407)
	Stimulan faktor 2 terkait NF-E2 (0,554)
	Imunostimulan (0,302)
	Antivirus (0.618)
	Anti Radang (0.517)
2-Butoxyethanol	Anti Inflamasi, oftalmik (0,415)
	Imunostimulan (0,408)
	Antivirus (0.618)
gamma-Butyrolactone	Stimulan faktor 2 terkait NF-E2 (0,400)
	Antiinflamasi, oftalmik (0,351)
	Imunostimulan (0,323)
	Antivirus (0.497)

Table 6. Sifat Fisikokimia

Senyawa	MW	HA	AHA	RB	HBA	HBD	MR	TPSA
Phenol	94.11	7	6	0	1	1	28.46	20.23
2-Butoxyethanol	118.17	8	0	5	2	1	33.20	29.46
gamma-Butyrolactone	86.09	6	0	0	2	0	20.51	26.30

Keterangan : MW – berat molekul (g/mol); HA – nomor atom; AHA –jumlah atom aromatik; RB –nomor olbilgasi yang dapat diputar; HBA – nomor akseptor ikatan hidrogen ; HBD – jumlah donor terikat hidrogen; MR - refraksi molar (m³/mol); TPSA - luas permukaan kutub topologi (Å²)

Table 7. Karakteristik Lipofilisitas

Senyawa	iLOGP	XLOGP3	WLOGP	MLOGP	SILICOS-IT	Consensus Log P
Phenol	1.24	1.46	1.39	1.45	1.50	1.41
2-Butoxyethanol	1.97	0.83	0.80	0.61	0.93	1.02
gamma-Butyrolactone	1.13	-0.64	0.32	0.09	1.43	0.47

Table 8. Karakteristik kelarutan air

Senyawa	Log S	Kelarutam		Keterangan
		mg/mL	mol/L	
Phenol	-1.49	3.04e+00	3.23e-02	Sangat larut
2-Butoxyethanol	-1.03	1.10e+01	9.31e-02	Sangat larut
gamma-Butyrolactone	0.56	3.13e+02	3.64e+00	Sangat larut

Tidak larut < -10 < Buruk < -6 < Sedang < -4 < Larut < -2 Sangat < 0 < Sangat

Table 9. Parameter Farmakokinetik dan Bioavailabilitas

Komponen	GI absorsi	BBB permeant	Nilai Bioavailability
Phenol	Tinggi	Ya	0.55
2-Butoxyethanol	Tinggi	Ya	0.55
gamma-Butyrolactone	Tinggi	Tidak	0.55

Table 10. Aturan Skor Kemiripan Obat

Senyawa	A	B	C	D	E	F
Phenol	Ya	Ya	Ya	Ya	Ya	Ya
2-Butoxyethanol	Ya	Ya	Ya	Ya	Ya	Ya
gamma-Butyrolactone	Ya	Ya	Ya	Ya	Ya	Ya

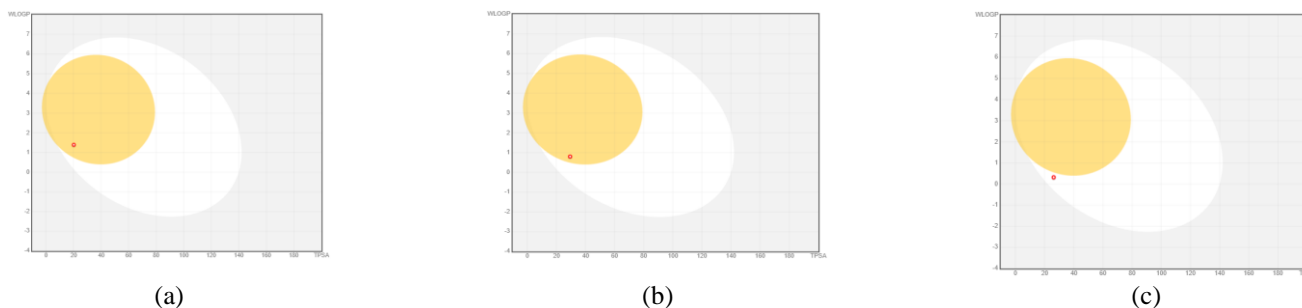
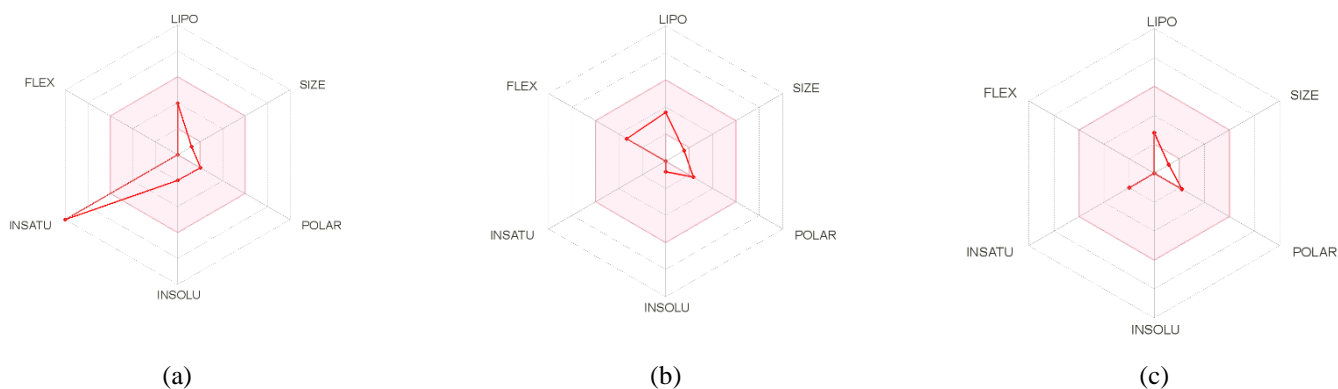
A - massa molekul kurang dari 500 Dalton; B - lipofilisitas tinggi (dinyatakan sebagai LogP kurang dari 5);

C - kurang dari 5 donor ikatan hidrogen; D - kurang dari 10 akseptor ikatan hidrogen;

E - refraktifitas molar harus antara 40-130; F - Secara keseluruhan.

Table 11. Prediksi Toksisitas

Compounds	LD ₅₀ (mg/kg)	Class	Hepatoksisitas	Immunotoksisitas	Mutagenisitas
Phenol	270	3	negatif	negatif	negatif
2-Butoxyethanol	250	3	negatif	negatif	negatif
gamma-Butyrolactone	1460	4	negatif	negatif	negatif

**Gambar 2.** Diagram BOILED-Egg untuk Drug-Likeness (a) Phenol (b) 2-Butoxyethanol (c) gamma-Butyrolactone**Gambar 3.** Diagram Radar Bioavailabilitas untuk Kemiripan Obat (a) Phenol (b) 2-Butoxyethanol (c) gamma-Butyrolactone

iLOGP adalah metode berbasis fisika untuk menghitung energi bebas solvasi dalam n-oktanol dan air menggunakan model generalized-born dan model luas permukaan yang dapat diakses pelarut (GB/SA). Log P o/w konsensus adalah rata-rata aritmatika dari nilai yang diprediksi oleh lima metode yang diusulkan (Daina et al., 2017).

Tabel 8 menunjukkan karakteristik kelarutan air dari ketiga senyawa. SwissADME untuk memprediksi kelarutan dalam air, salah satunya diadopsi dari Ali (Ali et al., 2012) (Kelas kelarutan: Log S Skala: Tidak larut < -10 buruk < -6, cukup < -4 larut < -2 sangat < 0 < sangat). Kelarutan suatu senyawa sangat dipengaruhi oleh pelarut yang digunakan serta suhu dan tekanan lingkungan. Konsentrasi saturasi didefinisikan sebagai titik di mana penambahan lebih banyak zat terlarut tidak meningkatkan konsentrasinya dalam larutan (Savjani et al., 2012).

Tabel 9, gambar 2 dan 3 menunjukkan bahwa ketiga senyawa mempunyai nilai farmakokinetik dan bioavailabilitas yang baik. Bioavailabilitas adalah salah satu sifat penting dalam desain dan pengembangan nutraceutical. Bioavailabilitas yang baik dapat mengurangi jumlah pemberian nutraceutical. Selain itu, untuk mencapai efek farmakologi yang diinginkan, serta dapat mengurangi risiko efek samping dan toksisitas. Bioavailabilitas yang buruk dapat menyebabkan kemanjuran yang lebih rendah, dan variabilitas antar individu yang lebih tinggi dan karenanya dapat menyebabkan respons yang tidak terduga terhadap nutraceutical. Bioavailabilitas yang buruk dalam uji klinis adalah alasan utama mengapa kandidat nutraceutical gagal mencapai pasar.

Model BOILED-Egg pada gambar 2 menghasilkan metode cepat, spontan, efisien, namun tepat dalam memprediksi penyerapan gastrointestinal pasif, yang berguna untuk penemuan dan pengembangan obat (Di et al., 2012). Daerah putih mengandung molekul yang lebih mungkin diserap oleh saluran gastrointestinal, sedangkan daerah kuning termasuk molekul yang lebih cenderung meresap ke otak (Daina et al., 2016).

Radar bioavailabilitas pada gambar 3 menunjukkan bahwa senyawa 2-Butoxyethanol dan gamma-Butyrolactone yang merupakan senyawa terbanyak dan memungkinkan untuk dijadikan sebagai *nutraceutical* karena dari 6 (enam) sifat fisikokimia yang diperhitungkan yaitu lipofilisitas, ukuran, polaritas, kelarutan, fleksibilitas dan saturasi telah memenuhi syarat. Rentang fisikokimia pada setiap sumbu telah ditentukan oleh software swissADME dan digambarkan sebagai area merah muda dimana plot radar molekul harus jatuh seluruhnya untuk dianggap seperti obat atau nutraceutical (Ritchie et al., 2011).

Aturan Lipinski (Pfizer) adalah lima aturan yang mengkarakterisasi molekul kecil berdasarkan profil sifat fisikokimia seperti Berat Molekul (MW) kurang dari 500, MLOGP \leq 4.15, N atau O \leq 10, NH atau OH \leq 5. Aturan lipinski paling umum dan sering digunakan untuk memilah senyawa, apakah senyawa tersebut layak menjadi obat (Lipinski, 2016). Semua nitrogen dan oksigen dengan setidaknya satu hidrogen dianggap sebagai akseptor ikatan-H oleh Lipinski. Semua nitrogen dan oksigen dengan setidaknya satu hidrogen dianggap sebagai donor ikatan-H (Raschka et al., 2018). Semua senyawa dari ekstrak memenuhi kemiripan obat menurut aturan Lipinski (Tabel 10).

Berdasarkan LD₅₀ menunjukkan bahwa fenol dan 2-Butoxyethanol termasuk dalam kelas 3, sedangkan gamma-Butyrolactone termasuk dalam kelas 4. Hasil prediksi hepatoksisitas, mutagenisitas dan immunotoksitas dari semua senyawa adalah negatif (Tabel 11). Hepatotoksitas yang disebabkan oleh obat merupakan penyebab utama gagal hati akut dan salah satu alasan paling umum untuk penarikan obat (Siramshetty et al., 2016).

KESIMPULAN

Nilai total fenol dan IC₅₀ terbaik didapatkan dari perlakuan 1:1 rasio berat antara ekstrak kasar alga *Halimeda* sp dengan ekstrak kasar daun sambiloto. Analisa GC-MS dengan kualitas skринning di atas 85 % mendapatkan 3 (tiga) senyawa yaitu 2- Butoxyethanol (74,12 %), gamma-Butyrolactone (23,72 %) dan Phenol (2,15 %). Senyawa tersebut mempunyai potensi sebagai antioksidan, anti-inflamasi, immunostimulan maupun antivirus berdasarkan PASS server. Semua senyawa mempunyai potensi drug-likeness, penyerapan, distribusi, metabolisme, ekskresi dan toksisitas yang baik dalam tubuh dengan menggunakan SwissADME dan Pro Tox II. Hal ini dapat menjadi dasar pengembangan *nutraceutical* untuk lansia dalam rangka meningkatkan imunitas dan mencegah paparan Covid-19.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Pembelajaran dan Kemahasiswaan, Kemendikbudristek yang telah membiayai penelitian dan publikasi melalui kegiatan PKM-RE tahun 2021 (No 1949/E2/KM.05.01/2021).

DAFTAR PUSTAKA

- Akbar, S., 2011. *Andrographis paniculata*: a review of pharmacological activities and clinical effects. *Alternative Medicine Review*, **16** (1): 66-77.
- Ali, J., Camilleri, P., Brown, M.B., Hutt, A.J. and Kirton, S.B., 2012. Revisiting the general solubility equation: in silico prediction of aqueous solubility incorporating the effect of topographical polar surface area. *Journal of chemical information and modeling*, **52**(2): 420-428. <https://doi.org/10.1021/ci200387c>
- Bouic, P.J. and Lamprecht, J.H., 1999. Plant sterols and sterolins: a review of their immune-modulating properties. *Altern Med Rev*, **4**(3):170-177. <https://doi.org/10.1007/s11130-004-0049-7>
- Cao, G., Sofic, E. and Prior, R.L., 1997. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. *Free radical biology and medicine*, **22**(5): 749-760. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(96\)00351-6](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(96)00351-6)
- Chandran, A., Merlin, N.J., Ammu, L. and Dharan, S.S., 2019. Fennel Treatment to PCOS: An Insilico Evaluation to explore the Therapeutic Efficacy of Anethole. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, **12**(10): 4958-4962. <https://doi.org/10.5958/0974-360X.2019.00860.6>
- Daina, A. and Zoete, V., 2016. A boiled-egg to predict gastrointestinal absorption and brain penetration of

- small molecules. *ChemMedChem*, **11**(11): 1117-1121. <https://doi.org/10.1002/cmdc.201600182>
- Daina, A., Michielin, O. and Zoete, V., 2017. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific reports*, **7**(1): 1-13. <https://doi.org/10.1038/srep42717>
- Dewanto, D. K., Hermawan, R., Muliadin, M., Riyadi, P. H., Aisiah, S., & Tanod, W. A., 2021. Profil GC-MS dari ekstrak daun *Rhizophora apiculata* dari pesisir Teluk Tomini, Sulawesi Tengah dengan aktivitas antibakteri dan antioksidan. *Jurnal Kelautan: Indonesian Journal of Marine Science and Technology*, **14**(1): 30-42. <https://doi.org/10.21107/jk.v14i1.8904>
- Di, L., Artursson, P., Avdeef, A., Ecker, G.F., Faller, B., Fischer, H., Houston, J.B., Kansy, M., Kerns, E.H., Krämer, S.D. and Lennernäs, H., 2012. Evidence-based approach to assess passive diffusion and carrier-mediated drug transport. *Drug discovery today*, **17**(15-16): 905-912. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2012.03.015>
- Dyer O., 2021. Covid-19: Indonesia becomes Asia's new pandemic epicentre as delta variant spreads. *BMJ*, **374**: n1815. <https://doi.org/10.1136/bmj.n1815>
- Fithriani, D., Amini, S., Melanie, S., Susilowati, R., 2015. Uji Fitokimia, Kandungan Total Fenol Dan Aktivitas Antioksidan Mikroalga *Spirulina Sp.*, *Chlorella Sp.*, dan *Nannochloropsis Sp.* *Jurnal Pascapanen Dan Bioteknologi Kelautan Dan Perikanan*, **10** (2): 101-109.
- Gazali, M. and Zamani, N.P., 2019. The screening of bioactive compound of the green algae *Halimeda macroloba* (Decaisne, 1841) as an antioxidant agent from Banyak Island Aceh Singkil. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* **348** (1): 012043). IOP Publishing. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/348/1/012043>
- Girdhar, R., Srivastava, V. and Sethi, S., 2020. Managing mental health issues among elderly during COVID-19 pandemic. *J. Geriatr. Care Res*, **7**: 32-35.
- Karakaya, S., 2004. Bioavailability of phenolic compounds. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **44**: 453-464. <https://doi.org/10.1080/10408690490886683>
- Kiokias, S., Varzakas, T. and Oreopoulou, V., 2008. In vitro activity of vitamins, flavonoids, and natural phenolic antioxidants against the oxidative deterioration of oil-based systems. *Critical reviews in food science and nutrition*, **48**(1): 78-93. <https://doi.org/10.1080/10408390601079975>
- Lipinski, C. A., 2016. Rule of five in 2015 and beyond: Target and ligand structural limitations, ligand chemistry structure and drug discovery project decisions. *Advanced drug delivery reviews*, **101**: 34-41. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.04.029>
- Molyneux, P., 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, **26**: 211-219. <https://doi.org/10.1287/isre.6.2.144>
- Moriguchi, I., Hirono, S., Nakagome, I. and Hirano, H., 1994. Comparison of reliability of log P values for drugs calculated by several methods. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, **42** (4): 976-978. <https://doi.org/10.1248/cpb.42.976>
- Mussard, E., Cesaro, A., Lespessailles, E., Legrain, B., Berteina-Raboin, S. and Toumi, H., 2019. Andrographolide, a natural antioxidant: an update. *Antioxidants*, **8**(12): 571. <https://doi.org/10.3390/antiox8120571>
- Naczki, M., & Shahidi, F. 2004. Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography. A*, **1054**: 95-111. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.08.059>
- Nehme, M., Braillard, O., Alcoba, G., Aebischer Perone, S., Courvoisier, D., Chappuis, F. and Guessous, I., 2021. COVID-19 symptoms: longitudinal evolution and persistence in outpatient settings. *Annals of internal medicine*, **174**(5): 723-725. <https://doi.org/10.7326/M20-5926>
- Oak, M. H., El Bedoui, J., Schini-Kerth, V. B., 2005. Antiangiogenic properties of natural polyphenols from red wine and green tea. *Journal of Nutritional Biochemistry*, **16**: 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2004.09.004>
- Raschka, S., Wolf, A.J., Bemister-Buffington, J. and Kuhn, L.A., 2018. Protein-ligand interfaces are polarized: discovery of a strong trend for intermolecular hydrogen bonds to favor donors on the protein side with implications for predicting and designing ligand complexes. *Journal of computer-aided molecular design*, **32**(4): 511-528. <https://doi.org/10.1007/s10822-018-0105-2>
- Ritchie, R.O., 2011. The conflicts between strength and toughness. *Nature materials*, **10**(11): 817-822. <https://doi.org/10.1038/nmat3115>
- Riyadi, P.H., Darmanto, Y.S., Anggo, A.D., Herawati, V.E., Kurniasih, R.A., 2020a. Potential of hydrolyzed waste in *Portunus* sp. non-shell as nutraceutical with bioinformatics analysis. *Journal of Engineering and Applied Sciences*, **15**: 2327-2331. <http://dx.doi.org/10.36478/jeasci.2020.2327.2331>
- Riyadi, P.H., Romadhon, R., Anggo, A.D., Herawati, V.E. and Setyastuti, A.I., 2020b. PASS and ADMET analyses for eight compounds from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) viscera waste hydrolysate as anti-inflammatory nutraceutical. *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation*, **13**(5): 2630-2638.
- Riyadi, P.H., Tanod, W.A., Dewanto, D.K., Herawati, V.E., Susanto, E. and Aisiah, S., 2021. Chemical profiles and antioxidant properties of *Bruguiera gymnorrhiza* fruit extracts from Central Sulawesi, Indonesia. *Food Research*, **5**(3): 37-47. [https://doi.org/10.26656/fr.2017.5\(S3\).007](https://doi.org/10.26656/fr.2017.5(S3).007)
- Riyadi, P.H., Tanod, W.A., Wahyudi, D., Susanto, E., Fahmi, A.S. and Aisiah, S., 2020c. Potential of tilapia (*Oreochromis niloticus*) viscera bioactive peptides as antiviral for SARS-CoV-2 (COVID 19). IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci. **584**: 012004. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/584/1/012004>

- Sanders, J.M., Monogue, M.L., Jodlowski, T.Z. and Cutrell, J.B., 2020. Pharmacologic treatments for coronavirus disease 2019 (COVID-19): a review. *Jama*, **323**(18): 1824-1836. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.6019>
- Sang, S., Lapsley, K., Jeong, W.S., Lachance, P.A., Ho, C.T. and Rosen, R.T., 2002. Antioxidative phenolic compounds isolated from almond skins (*Prunus amygdalus* Batsch). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**(8): 2459-2463. <https://doi.org/10.1021/jf011533+>
- Setiati, S. and Azwar, M.K., 2020. COVID-19 and Indonesia. *Acta Medica Indonesiana*, **52**(1): 84-89.
- Shetty, K., 2004. Role of proline-linked pentose phosphate pathway in biosynthesis of plant phenolics for functional food and environmental applications: a review. *Process Biochemistry*, **39**(7): 789-804. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(03\)00088-8](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(03)00088-8)
- Siramshetty, V.B., Nickel, J., Omieczynski, C., Gohlke, B.O., Drwal, M.N., Preissner, R., 2016. WITHDRAWN—a resource for withdrawn and discontinued drugs. *Nucleic acids research* **44** (D1): D1080-D1086. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1192>
- Taghizadeh-Hesary, F. and Akbari, H., 2020. The powerful immune system against powerful COVID-19: A hypothesis. *Medical hypotheses*, **140**: 109762. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2020.109762>
- Tripathi, P., Ghosh, S. and Talapatra, S.N., 2019. Bioavailability prediction of phytochemicals present in *Calotropis procera* (Aiton) R. Br. by using Swiss-ADME tool. *World Scientific News*, **131**: 147-163.
- Yang, C.S., Landau, J.M., Huang, M.T. and Newmark, H.L., 2001. Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds. *Annual review of nutrition*, **21**(1): 381-406. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.21.1.381>
- Yao, L. H., Jiang, Y. M., Shi, J., Tomas-Barberan, F. A., Datta, N., Singanusong, R., Chen, S. S., 2004. Flavonoids in food and their health benefits. *Plant Foods for Human Nutrition*, **59**: 113-122. <https://doi.org/10.1007/s11130-004-0049-7>