

Molecular Docking Senyawa Jahe Merah dan Kunyit pada Dense Granules Protein-1 Toxoplasma gondii dengan Metode In Silico

(MOLECULAR DOCKING OF RED GINGER AND TURMERIC COMPOUNDS ON DENSE GRANULES PROTEIN-1 RECEPTORS OF TOXOPLASMA GONDII USING IN SILICO METHOD)

**Fitrine Ekawasti^{1,2}, Siti Sa'diah^{1*}, Umi Cahyaningsih¹,
Ni Luh Putu Indi Dharmayanti², Didik Tulus Subekti²**

¹Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor (IPB University),
Jln. Agathis, Kampus IPB Dramaga, Bogor, Jawa Barat, Indonesia 16680

²Balai Besar Penelitian Veteriner
(Indonesian Research Center for Veterinary Sciences),
Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian,
Kementerian Pertanian Republik Indonesia,
Jln RE Martadinata No 30, Bogor, Jawa Barat, Indonesia 16167
*Email: sitisa@apps.ipb.ac.id

ABSTRACT

Toxoplasmosis is a zoonotic disease caused by the parasite *Toxoplasma gondii* which is widely distributed throughout the world. This disease, in addition to worrying humans, can also have an impact on the livestock economy because it causes decreased production, growth and fertility disorders including abortion, premature birth, and stillbirth. The prevalence of toxoplasmosis in Indonesia is very high, in humans around 40-85%, and in animals ranging from 5-80%. Red ginger and turmeric are Zingiberaceae plants that contain high antioxidants, which are known to have activity to inhibit inflammatory processes and have potential as anti-toxoplasma. However, until now, the mechanism of action of the active compounds of turmeric and red ginger in binding to the *T. gondii* protein receptor as a target for toxoplasmosis therapy has not been known. Test the activity of compounds contained in red ginger and turmeric as anti-toxoplasma against GRA1 *T. gondii* protein with in silico molecular docking. The GRA1 protein important work in the survival of *T. gondii*. Preparation of GRA1 protein structure database using PyRx software, preparation and optimization of 3D structure of red ginger and turmeric ligands using SWISS model prediction web server application, and molecular docking and ligand docking methods on GRA1 protein using Autodock Vina software. The results showed that the compounds in red ginger and turmeric have potential as anti-toxoplasmosis. The potential compound demethoxycurcumin in turmeric has a binding affinity value and the strongest binding interaction to the GRA1 protein *T. gondii*.

Keywords : GRA1; molecular docking; red ginger; *Toxoplasma gondii*; turmeric

ABSTRAK

Toksoplasmosis merupakan penyakit zoonosis yang disebabkan oleh parasit *Toxoplasma gondii* yang berdistribusi luas di seluruh dunia. Penyakit ini, selain mengkhawatirkan manusia juga dapat berdampak pada ekonomi peternakan karena menyebabkan penurunan produksi, gangguan pertumbuhan dan fertilitas termasuk aborsi, prematur, dan lahir mati. Prevalensi toxoplasmosis di Indonesia sangat tinggi, pada manusia sekitar 40–85%, dan pada hewan berkisar antara 5–80%. Jahe merah dan kunyit merupakan tanaman zingiberaceae yang mengandung antioksidan tinggi, yang diketahui memiliki aktivitas menghambat proses inflamasi dan berpotensi sebagai anti-toxoplasma. Namun, sampai saat ini belum diketahui mekanisme kerja senyawa aktif kunyit dan jahe merah dalam berikatan dengan reseptor protein *T. gondii* sebagai target pada terapi toxoplasmosis. Dilakukan uji aktivitas senyawa yang terkandung dalam jahe merah dan kunyit sebagai anti-toxoplasma terhadap protein GRA1 *T. gondii* dengan molecular docking secara *in silico*. Protein GRA1 berperan penting dalam kelangsungan hidup *T.*

gondii. Preparasi data dasar dari struktur protein GRA1 menggunakan *software PyRx*, preparasi dan optimasi struktur 3D ligan jahe merah dan kunyit menggunakan aplikasi *web server SWISS model prediction*, serta metode *molecular docking* dan *docking ligan* pada protein GRA1 menggunakan *software Autodock Vina*. Hasil simulasi menunjukkan bahwa senyawa pada jahe merah dan kunyit memiliki potensi sebagai anti toksoplasmosis. Senyawa potensial *demethoxycurcumin* pada kunyit memiliki nilai *binding affinity* dan interaksi ikatan yang paling kuat terhadap protein GRA1 *T. gondii*.

Kata-kata kunci: GRA1; jahe merah; kunyit; *molecular docking*; *Toxoplasma gondii*

PENDAHULUAN

Toxoplasma gondii (*T. gondii*) adalah parasit protozoa penyebab toksoplasmosis. Parasit ini bersifat zoonosis yang dapat menginfeksi hewan dan manusia. Toksoplasmosis adalah salah satu infeksi parasit intraseluler yang paling luas di dunia, diperkirakan lebih dari sepertiga dari populasi manusia di dunia telah terinfeksi secara kronis (Dunay *et al.*, 2018). Penyakit ini, selain mengkhawatirkan manusia juga dapat berdampak pada ekonomi peternakan karena menyebabkan penurunan produksi, gangguan pertumbuhan dan reproduksi (Verhelst, 2014; Dubey dan Jones, 2008). Infeksi toksoplasmosis pada individu immunodefisiensi dapat mengakibatkan manifestasi penyakit dari stadium ringan hingga berat tergantung pada tingkat keparahan immunodefisiensi yang terjadi (Chahaya, 2010). Kejadian toksoplasmosis di Indonesia baik pada hewan dan manusia cukup tinggi. Telah dilaporkan oleh Balai Besar Penelitian Veteriner, bahwa kejadian toksoplasmosis pada hewan di Sumatera Utara pada ayam buras sebesar 63,3% (Apsari *et al.*, 2012), domba 72% (Siregar dan Yuswandi, 2014), babi 5,26% (Wirata, 2014), sapi 35,3%, itik 6,1%, anjing 10 %, kambing 16,7 %, kerbau 27,3 % (Iskandar, 2008), dan toksoplasmosis pada manusia di Jakarta sebesar 82,0 %, Medan 26,7 %, Surabaya 31,6 % (Rachmawati, 2019). Tokoplasmosis pada penderita orang dewasa sering tidak memperlihatkan suatu gejala klinis (asimtomatis) yang jelas, sehingga dalam menentukan diagnosis, penyakit toksoplasmosis kerap terabaikan. Walaupun umumnya seorang Ibu yang terinfeksi tidak menunjukkan gejala toksoplasmosis, tetapi Ibu tersebut secara tidak sengaja dapat menularkan parasit toksoplasma ke anaknya secara *transplacental* (Taila *et al.*, 2011). Infeksi pada saat kehamilan dapat menyebabkan kluron, *stillbirth*, mummifikasi dan resorpsi fetus (Abu-Dalbou *et al.*, 2010).

Pencegahan dan pengendalian toksoplas-

mosis salah satunya adalah pengobatan dengan pemberian antitoksoplasma. Antitoksoplasmosis adalah sekelompok senyawa yang memiliki aktivitas untuk membunuh atau menghambat pertumbuhan *T. gondii*. Sementara itu, tantangan utama yang dihadapi dalam penggunaan obat antitoksoplasma adalah resistansi dan efek samping *T. gondii* terhadap obat antitoksoplasma. Saat ini, terapi toksoplasmosis yang paling sering digunakan adalah kombinasi antara pirimetamin (menghambat *dihydrofolat reduktase*) dan sulfadiazine (menghambat *sintetase dihidropteroat*). Kedua sediaan obat tersebut bekerja secara sinergis dalam menghambat asam folat khususnya aktivitas metabolisme parasit. Namun, kombinasi terapi tersebut, telah dilaporkan dapat menyebabkan efek samping yang parah yakni menekan fungsi sumsum tulang sehingga perlu ditambahkan vitamin B dan asam folat, sedangkan pengobatan seumur hidup diperlukan pada pasien dengan sistem kekebalan yang rendah (Utami dan Priyowidodo, 2014; Damayanti *et al.*, 2020).

Oleh karena itu, untuk menjawab tantangan dan permasalahan tersebut sangat diperlukan eksplorasi terhadap potensi senyawa kimia yang baru, efektif serta aman. Salah satunya adalah senyawa kimia dengan mekanisme kerja obat yang baru, salah satunya obat yang bekerja melalui target protein (Utami dan Priyowidodo, 2014). Parasit *T. gondii* memiliki beberapa protein utama yang berperan penting dalam kelangsungan hidupnya. Salah satu protein tersebut adalah protein *Granules Protein* (GRA) yang secara umum berfungsi sebagai protein untuk modifikasi tahap akhir vakuola *parasitophorus* untuk pengambilan nutrisi kebutuhan *T. gondii* dari sitoplasma sel inang. Protein ini memiliki peran penting dalam kelangsungan hidup *T. Gondii* (Wu *et al.*, 2017). Protein GRA1 merupakan protein yang diproduksi oleh takizoit dan bradizoit *T. gondii* yang dapat digunakan sebagai perangkat diagnostik (Wihadmadyatami *et al.*, 2011). Gen

penyandi protein GRA1 sering digunakan sebagai marka identifikasi kehidupan parasit (Subekti, 2013).

Saat ini upaya pengembangan bidang farmasi banyak terkonsentrasi pada penggunaan ekstrak tumbuhan untuk meningkatkan potensi terapeutik produk alami yang aman dan memiliki toksisitas rendah. Rimpang jahe (*Zingiber officinale* Roscoe) dan kunyit (*Curcuma longa*) termasuk Famili Zingiberaceae yang mengandung antioksidan tinggi dan memiliki kandungan senyawa kimia yang berpotensi sebagai antiparasit, termasuk antitoksoplasma (Sa'diah *et al.*, 2019; Simanjuntak *et al.*, 2019). Perkembangan ilmu bioinformatika saat ini semakin pesat dengan pemanfaatan komputer sebagai alat bantu dalam penemuan obat. Metode *in silico* merupakan komplemen metode *in vitro* atau *in vivo* yang biasa digunakan dalam proses penemuan obat atau mekanisme kerja obat baru. Teknik ini dianggap memiliki momentum yang signifikan karena dapat memprediksi suatu obat baru yang dalam proses pembuatannya membutuhkan waktu yang lama dan biaya yang mahal (de Ruyck *et al.*, 2016; Sari *et al.*, 2020). Penambatan molekul (*molecular docking*) merupakan salah satu metode *in silico* berbasis struktur yang paling populer dalam membantu memprediksi interaksi yang terjadi antara molekul dan target biologis (Ibrahim *et al.*, 2020; Pradani *et al.*, 2021).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas senyawa pada jahe merah dan kunyit sebagai antitoksoplasma berdasarkan interaksinya pada protein GRA1 menggunakan metode *molecular docking* secara *in silico*. Oleh karena itu, dengan metode ini dapat diketahui afinitas ikatan ligan uji serta interaksi yang terjadi sehingga dapat diprediksi potensi senyawa pada jahe merah dan kunyit, apakah dapat berpotensi sebagai antitoksoplasma yang bekerja dengan berinteraksi dengan protein GRA1 pada *T. gondii*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan struktur tiga dimensi senyawa jahe merah dan kunyit yang diperoleh dari Pubchem database, dan protein GRA1 (pdb.ID: P13403), serta seperangkat komputer dengan spesifikasi Windows 10 64bit dan program *Autodock* pada OS Windows, *open babel PyRx*, dan aplikasi *web server SWISS model prediction*.

Penelitian ini menggunakan senyawa yang terkandung dalam jahe merah (*Z. officinale Roscoe var rubrum*) dan kunyit (*C. longa*) dari studi literatur (Nur *et al.*, 2020; Mulyani *et al.*, 2019; Safwan *et al.*, 2014) berdasarkan hasil LCMS/GC-MS pada penelitian sebelumnya. Struktur 3D seluruh senyawa diperoleh dari *database PubChem* (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) dalam format file .sdf. Selanjutnya, struktur 3D protein GRA1 *T. gondii* diperoleh melalui metode *homology modelling* menggunakan *web server SWISS model prediction* (<https://swissmodel.expasy.org/>) dengan cara menginputkan sekuen asam amino yang diperoleh dari UniProt database (<https://www.uniprot.org/>) dengan ID: P13403, kemudian struktur 3D protein diunduh dalam format file .pdb.

Preparasi Protein dan Ligan

Senyawa-senyawa dipreparasi menggunakan *plugin OpenBabel* yang terintegrasi dalam PyRx 8.0 software untuk mengubah format file dari .sdf menjadi .pdb dan meningkatkan fleksibilitas struktur (O'Boyle *et al.*, 2011; Dallakyan dan Olson, 2015). Protein dipreparasi dengan *Biovia Discovery Studio 2019 software* (Dassault Systèmes Biovia, San Diego, California, USA) untuk menghilangkan molekul air dan ligan kontaminan untuk meningkatkan efektivitas pengikatan antara protein dengan ligan saat *molecular docking* (Mooers, 2016; Baran *et al.*, 2017; Widyananda *et al.*, 2021).

Druglikeness Prediction

Prediksi *druglikeness* dilakukan menggunakan *web server SWISS ADME* (<http://www.swissadme.ch/index.php>) dan digunakan aturan *Lipinski rule of five*. *Lipinski rule of five* terdiri dari bobot molekul (MW) ≤ 500 , lipofilisitas (MLOGP) ≤ 4.15 , asektor ikatan hidrogen (N or O) ≤ 10 , dan donor ikatan hidrogen (NH or OH) ≤ 5 (Lipinski *et al.*, 2001; Daina *et al.*, 2017).

Molecular Docking Simulation

Setelah reseptor dan ligan selesai dipreparasi, dan telah dilakukan *druglikeness prediction*, kemudian dilakukan proses penambatan molekul menggunakan *Autodock Vina* untuk menemukan senyawa yang berpotensi menghambat aktivitas protein, yang memiliki *binding affinity* rendah. *Autodock Vina* adalah perangkat lunak untuk *docking flexible*, memungkinkan fleksibilitas ligan untuk hasil

docking yang lebih akurat (Trott dan Olson, 2010).

Molecular docking bertujuan menganalisis *binding site* dan *binding affinity* untuk memperoleh informasi potensi senyawa-senyawa yang terkandung dalam jahe merah dan kunyit dalam menghambat aktivitas protein GRA1. Protein GRA1 termasuk famili *calcium binding protein* dan memiliki domain fungsional yang berperan dalam pengikatan ion kalsium. Domain fungsional tersebut terletak di asam amino nomor 149-180 (Lebrun *et al.*, 2014). Analisis situs pengikatan dan ikatan kimia yang terbentuk antara protein dan ligan dilakukan menggunakan perangkat lunak Biovia Discovery Studio 2019 (Dassault Systèmes Biovia, San Diego, California, USA). *Docking* spesifik dilakukan di domain dengan koordinat *grid* tercantum pada Tabel 1.

Analisis Data

Analisis data dilakukan berdasarkan hasil energi ikatan yang dihasilkan dari hasil *molecular docking*. Penentuan konformasi ligan hasil *docking* (*pose* terbaik) dilakukan dengan memilih konformasi ligan yang memiliki energi ikatan (*binding affinity*) paling rendah. Hasil *docking* dengan *pose* terbaik kemudian dianalisis menggunakan *Discovery Studio*. Parameter yang dianalisis adalah interaksi yang terjadi antara senyawa-senyawa pada jahe merah dan kunyit dengan protein GRA1 meliputi ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik dan interaksi van der Waals.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Senyawa yang Terkandung dalam Kunyit dan Jahe Merah

Senyawa yang terkandung dalam kunyit dan jahe merah diperoleh dari database hasil penelitian sebelumnya dan disajikan pada Tabel 2a dan Tabel 2b (Arivoli *et al.*, 2019; Kebede *et al.*, 2021; Mulyani *et al.*, 2020; Rinanda *et al.*, 2018).

Jahe merah mengandung senyawa-senyawa antiparasit termasuk antitoksoplasma seperti *betha-pinene*, *myrcene*, *eucalyptol*, *linalool*, *geraniol*, dan *shogaol* (Morreti *et al.*, 2015; Le *et al.*, 2018; Sa’diah *et al.*, 2019). Kunyit juga mengandung *curcuminoid* yang terdiri dari *curcumin*, *demethoxycurcumin*, dan *bisdemethoxycurcumin* yang memiliki aktivitas antimikrob dan antiparasit (Cheraghypour *et al.*, 2014; Lawhavinit *et al.*, 2010; Luo dan Yang, 2014; Simanjuntak *et al.*, 2019). Selain itu, ada senyawa lain seperti *ar-turmerone* dan *eucalyptol* yang juga memiliki aktivitas antiparasit (Moretti *et al.*, 2015).

Druglikeness prediction

Prediksi ini bertujuan untuk menentukan suatu senyawa yang dapat dikategorikan sebagai molekul obat atau bukan obat dengan mengacu pada aturan tertentu (Benet *et al.*, 2016). Aturan Lipinski adalah salah satu alat yang paling banyak digunakan untuk memperkirakan kelarutan dan permeabilitas senyawa dan untuk memprediksi kualifikasinya sebagai kandidat obat apakah senyawa tersebut aktif secara oral atau tidak (Daina *et al.*, 2017; Ibrahim *et al.*, 2020). Senyawa yang dikategorikan sebagai molekul obat diprediksi mampu menembus membran pencernaan dan membran sel serta dapat mencapai protein target dengan mudah. Suatu senyawa dikategorikan sebagai molekul obat jika melanggar tidak lebih dari satu aturan Lipinski (Lipinski *et al.*, 2012).

Hasil *druglikeness prediction* pada Tabel 3a dan Tabel 3b., menunjukkan senyawa yang terkandung dalam jahe merah dan kunyit menunjukkan bahwa berat molekul (MW) kurang dari 500, lipofilitas (LogP) kurang dari 5, akseptor ikatan -H (jumlah N dan O) kurang dari 10 dan donor ikatan -H (jumlah NH dan OH) kurang dari 5, serta pelanggaran (*violation*) tidak lebih dari satu aturan Lipinski sehingga semua senyawa dikategorikan sebagai molekul

Tabel 1. *Active site protein granule* (GRA1) dan posisi *grid specific docking*

Protein	Active site	Referensi	Grid	
			Center	Dimension
GRA1	AA 149-180	Lebrun <i>et al.</i> , 2014	X: 14.6178 Y: -21.9803 Z: 14.4493	X: 26.4050 Y: 19.2386 Z: 25.00

Tabel 2a. Senyawa yang terkandung dalam jahe merah

No	Senyawa	Formula	Bobot molekul (g/mol)	PubChem ID
1	Betha-Pinene	C ₁₀ H ₁₆	136,32	14896
2	Myrcene	C ₁₀ H ₁₆	136,32	31253
3	Limonene	C ₁₀ H ₁₆	136,32	22311
4	Eucalyptol	C ₁₀ H ₁₈ O	154,25	2758
5	6-hepten-3-one	C ₇ H ₁₂ O	112,17	137641
6	Linalool	C ₇ H ₁₂ O	154,25	6549
7	Trans-caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	204,35	5281515
8	Neral	C ₁₀ H ₁₆ O	152,23	643779
9	Borneol	C ₁₀ H ₁₈ O	154,25	64685
10	Naphtalene	C ₁₀ H ₈	128,169	931
11	Zingiberene	C ₁₅ H ₂₄	204,35	92776
12	Betha-bisabolene	C ₁₅ H ₂₄	204,35	10104370
13	Geranial	C ₁₀ H ₁₆ O	152,23	638011
14	Alpha-Farnesene	C ₁₅ H ₂₄	204,35	5281516
15	Neryl Acetate	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	196,29	1541905
16	Betha-sesquiphellandrene	C ₁₅ H ₂₄	204,35	12315452
17	Ar-curcumene	C ₁₅ H ₂₂	202,33	92136
18	Geraniol	C ₁₀ H ₁₈ O	154,25	637566

Tabel 2b. Senyawa yang terkandung dalam kunyit

No	Senyawa	Formula	Bobot molekul (g/mol)	PubChem ID
1	Curcumin	C ₂₁ H ₂₀ O ₆	368,40	960516
2	Alpha-curcumene	C ₁₅ H ₂₂	202,33	92139
3	o-cymene	C ₁₀ H ₁₄	134,22	10703
4	Alpha-turmerone	C ₁₅ H ₂₂ O	218,166	14632996
5	Isocurcumenol	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	234,33	10399139
6	Alpha-zingiberene	C ₁₅ H ₂₄	204,35	11127403
7	Caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	204,35	5281515
8	(E)-betha-farnasene	C ₁₅ H ₂₄ O	204,35	15281517
9	Demethoxycurcumin	C ₂₀ H ₁₉ O ₅	119,109	5469424
10	Bisdemethoxycurcumin	C ₁₉ H ₁₇ O ₄	309,112	5315472
11	Ar-turmerone	C ₁₅ H ₂₀ O	216,166	160512
12	Curdione	C ₁₅ H ₂₄ O ₂	236,35	6441391
13	Curlone	C ₁₅ H ₂₂ O	218,33	196216
14	Eucalyptol	C ₁₀ H ₁₈ O	154,25	2758
15	Ar-turmerol	C ₁₅ H ₂₂ O	218,33	5315469
16	Caryophyllene oxide	C ₁₅ H ₂₄ O	220,35	1742210
17	Xylopropamene	C ₁₁ H ₁₇ N	163,26	26727
18	a-terpenolene	C ₁₀ H ₁₆	136,109	11463

Keterangan: data Tabel 2 bersumber dari Arivoli *et al.*, 2019; Kebede *et al.*, 2021; Mulyani *et al.*, 2020; Rinanda *et al.*, 2018

Tabel 3a. Prediksi senyawa yang terkandung dalam jahe merah sebagai molekul obat

		MW	MLOGP	N or O	NH or OH	Violation
1	Betha-Pinene	136,32	4,29	0	0	1
2	Myrcene	136,32	3,56	0	0	0
3	Limonene	136,32	3,27	0	0	0
4	Eucalyptol	154,25	2,45	1	0	0
5	6-hepten-3-one	112,17	1,63	1	0	0
6	Linalool	154,25	2,59	1	1	0
7	Trans-caryophyllene	204,35	4,63	0	0	1
8	Neral	152,23	2,49	1	0	1
9	Borneol	154,25	2,45	1	1	0
10	Naphtalene	128,169	4,26	0	0	0
11	Zingiberene	204,35	4,53	0	0	1
12	Betha-bisabolene	204,35	4,53	0	0	1
13	Geranial	152,23	2,49	1	0	0
14	Alpha-Farnesene	204,35	4,84	0	0	1
15	Neryl Acetate	196,29	2,95	2	0	0
16	Betha-sesquiphellandrene	204,35	4,53	0	0	1
17	Ar-curcumene	202,33	5,75	0	0	1
18	Geraniol	154,25	2,59	1	1	0

Tabel 3b. Prediksi senyawa yang terkandung dalam kunyit sebagai molekul obat

No	Senyawa	Parameter Lepinski				
		MW	MLOGP	N or O	NH or OH	Violation
1	Curcumin	368,40	1,47	6	2	0
2	Alpha-curcumene	202,33	5,75	0	0	1
3	o-cymene	134,22	4,47	0	0	1
4	Alpha-turmerone	218,166	3,37	1	0	0
5	Isocurcumenol	234,33	3,04	2	1	0
6	Alpha-zingiberene	204,35	4,53	0	0	1
7	Caryophyllene	204,35	4,63	0	0	1
8	(E)-betha-farnasene	204,35	4,84	0	0	1
9	Demethoxycurcumin	119,109	1,80	5	2	0
10	Bisdemethoxycurcumin	309,112	2,13	4	2	0
11	Ar-turmerone	216,166	3,68	1	0	0
12	Curdione	236,35	2,54	2	0	0
13	Curlone	218,33	3,37	1	0	0
14	Eucalyptol	154,25	2,45	1	0	0
15	Ar-turmerol	218,33	3,76	1	1	0
16	Caryophyllene oxide	220,35	4,53	1	0	0
17	Xylopropamene	163,26	5,75	1	1	0
18	a-terpenolene	136,109	2,59	0	0	0

obat dan menjanjikan untuk menjadi kandidat obat (Sultan *et al.*, 2020).

Molecular Docking

Docking merupakan interaksi penambatan antara ligan dan protein yang digunakan untuk menduga posisi dan orientasi ligan ketika terikat pada reseptor protein (Giriya *et al.*, 2010). Ligan yang digunakan pada simulasi ini yaitu senyawa-senyawa yang terdapat pada jahe merah dan kunyit, sedangkan reseptor yang digunakan adalah protein GRA1 pada *T. gondii*. Senyawa GRA1 merupakan gen prioritas keberadaan *T. gondii* dan juga dilaporkan disekresi secara difus sampai ke sitoplasma sel inang yang terinfeksi sebelum terjadi regresi. Senyawa GRA1 secara konstitutif (terus menerus) disekresikan untuk pertumbuhan parasit dan terbukti lebih komprehensif untuk memahami interaksi inang-parasit dan memengaruhi ekspresi gen *T. gondii* pada inang (Subekti, 2013). Oleh karena itu, salah satu strategi untuk menghentikan kelangsungan hidup *T. gondii* adalah dengan menghambat aktivitas protein ini. Pada simulasi *docking* ini tidak menggunakan ligan pembanding karena simulasi ini merupakan uji *docking* ligan sebagai kandidat antitoksoplasma dengan mekanisme kerja obat pada reseptor target baru.

Berdasarkan proses *docking* akan diperoleh energi ikatan yang merupakan parameter kestabilan konformasi antara ligan dengan reseptor dan jumlah ikatan interaksi antara ligan dan target reseptor baru (Tabel 4 dan 5). *Binding affinity* adalah energi ikatan yang diperlukan untuk membentuk kompleks protein-ligan yang dipengaruhi oleh total energi ikat pada kompleks protein-ligan (Pantsar dan Poso, 2018). Ligan-reseptor yang saling berinteraksi cenderung berada pada kondisi energi yang paling rendah, kondisi tersebut menyebabkan molekul berada pada keadaan yang stabil, sehingga semakin kecil nilai *binding affinity*, semakin mudah dan stabil ligan berikatan dengan protein serta semakin potensial dalam memberikan pengaruh pada protein (Arwansyah *et al.*, 2014; Pantsar dan Poso, 2018). *Binding affinity* yang bernilai negatif, berarti ikatannya lebih baik dan keseluruhan proses atau reaksi berlangsung secara spontan (Sotriffer 2011; Isyaku *et al.*, 2020).

Hasil *molecular docking* antara protein GRA1 dengan senyawa yang terkandung dalam kunyit dan jahe merah diambil tiga yang memiliki nilai *binding affinity* terendah. Hasil *docking* pada senyawa dari kunyit menunjukkan curcuminoid memiliki nilai *binding affinity* yang paling rendah. Interaksi GRA1 dengan

Tabel 4. Nilai *binding affinity* interaksi protein-ligan

Senyawa dari kunyit	<i>Binding affinity</i> (kcal/mol)	Senyawa dari jahe merah	<i>Binding affinity</i> (kcal/mol)
Curcumin	-5,1	α-Pinene	-5,1
alpha-curcumene	-4,9	Myrcene	-3,9
o-Cymene	-4,4	Limonene	-4,3
Alpha-Turmerone	-3,9	Eucalyptol	-4,4
Isocurcumenol	-4,5	6-Hepten-3-one	-3,5
α-Zingiberene	-3,7	Linalool	-4,4
Caryophyllene	-4,6	trans-Caryophyllene	-5,4
(E)- α-Famesene	-4,5	Neral	-4,4
Demethoxycurcumin	-5,2	Borneol	-4,7
Bisdemethoxycurcumin	-5,3	Naphtalene	-4,3
ar-Turmerone	-4,4	Zingiberene	-4,8
Curdione	-4,7	α-Bisabolene	-4,6
Curlone	-3,9	Geranial	-4
Eucalyptol	-4,3	α-Farnesene	-4,9
ar-Turmerol	-4,9	Neryl acetate	-4,3
Caryophyllene oxide	-4,3	α-Sesquiphellandrene	-5,1
Xylopropamine	-4,1	Ar-Curcumene	-4,5
a-Terpenolene	-4,3	Geraniol	-3,9

Tabel 5. Interaksi protein GRA1 – ligan

Herbal	Senyawa	Posisi interaksi kimia		
		Ikatan hidrogen	Interaksi hidrofobik	Interaksi Van der Waals
Jahe merah	β -Pinene	-	Val151, Val154, Ala155, Phe184, Leu185	Asp181
	β -Sesquiphellandrene	-	Val151, Val154, Ala155	-
	trans-Caryophyllene	-	Val151, Val154, Phe184, Leu185	Asp181
Kunyit	Curcumin	Asp149, Gln146	Ala153, Val157, Leu171	Ser152, Asp167, Gln170
	Demethoxy-curcumin	Asp149, Asp174	Ala153, Val157, Leu171	Ser152, Asp167, Gln170
	Bisdemethoxy curcumin	Asp167	Ala153, Val157, Leu171	Asp149, Ser152, Gln159, Gln170

curcumin, demethoxycurcumin, dan bisdemethoxycurcumin memiliki nilai binding affinity berturut-turut -5,1; -5,2; dan -5,3 kcal/mol, sedangkan pada jahe merah terdapat senyawa β -Pinene, trans-Caryophyllene, dan β -Sesquiphellandrene yang memiliki nilai binding affinity paling rendah yaitu berturut-turut -5,1; -5,4; dan -5,1 kcal/mol. Hasil tersebut menunjukkan curcuminoid yang terkandung dalam kunyit dan beberapa senyawa dalam jahe merah menunjukkan interaksi dengan situs aktif protein GRA1, artinya memiliki potensi menghambat aktivitas GRA1 dan diprediksi sebagai kandidat antitoksoplasma.

Data interaksi ligan protein ditampilkan dengan menggunakan Discovery Studio Visualizer untuk melihat residu asam-asam amino yang terlibat dan ikatan yang terjadi antara senyawa yang diteliti dengan target protein. Ikatan yang terjadi terutama pada sisi aktif yaitu pada asam amino yang sesuai akan dijadikan prediksi sementara serta kemampuan senyawa yang tertambat pada molekul protein akan dijadikan sebagai dasar penentuan senyawa dengan aktivitas terbaik (Listyani et al., 2019).

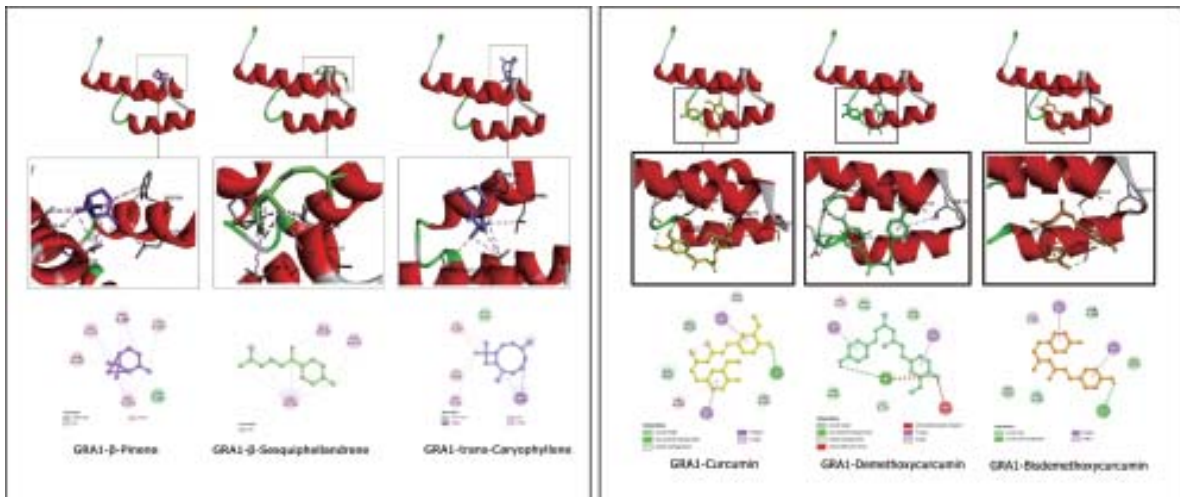
Interaksi Protien-Ligan dan Visualisasi Molekuler

Pada ligan yang digunakan sebagai kandidat obat, ikatan ligan-protein biasanya terjadi melalui interaksi nonkovalen. Interaksi fisik ini didasarkan pada teori gaya elektromagnetik atau kuantum mekanik. Interaksi

nonkovalen dipengaruhi oleh gaya elektrostatik seperti ikatan hidrogen, dan gaya Van der Waals (Sotriffer 2011). Interaksi kimia yang dapat terbentuk dari hasil docking adalah ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, dan interaksi Van der Waals. Ikatan hidrogen adalah ikatan yang terjadi antara atom hidrogen dari suatu molekul dengan molekul lain yang lebih elektronegatif. Ikatan hidrogen merupakan jenis ikatan antar molekul yang paling kuat dan stabilitasnya tinggi (Arunan et al., 2011). Interaksi hidrofobik adalah interaksi antara molekul nonpolar yang tidak mampu membentuk ikatan hidrogen dengan molekul air. Ikatan hidrofobik merupakan ikatan lemah namun masih lebih kuat dibanding interaksi Van der Waals (Otto dan Engberts, 2003). Interaksi Van der Waals adalah ikatan yang terbentuk saat dua atom dalam keadaan dekat satu sama lain dan membentuk gaya tarik lemah nonspesifik. Interaksi ini hanya terbentuk ketika atom-atom berjarak sangat dekat (Luanphaisarnnont, 2009).

Hasil dari docking senyawa pada jahe merah dan kunyit dengan GRA1 didapatkan beberapa interaksi seperti ikatan Van der Waals, ikatan hidrogen (ikatan hidrogen konvensional, dan karbon hidrogen), interaksi hidrofobik (ikatan pi-alkil, dan alkil) (Tabel 5 dan Gambar 1).

Ligan β -Pinene membentuk lima interaksi hidrofobik dan satu interaksi Van der Waals; β -Sesquiphellandrene membentuk tiga interaksi hidrofobik dan tidak ada interaksi Van der Waals; trans-Caryophyllene membentuk empat



Gambar 1. Visualisasi molekuler interaksi GRA1 dengan:

- A. *β-Pinene* (ungu), *β-Sesquiphellandrene* (hijau muda), dan *trans-Caryophyllene* (biru muda)
- B. *Curcumin* (kuning), *Demethoxycurcumin* (hijau), dan *Bisdemethoxycurcumin* (orange)

interaksi hidrofobik dan satu interaksi Van der Waals. Ketiga ligan yang terdapat pada jahe merah tidak memiliki ikatan hidrogen (Tabel 5; Gambar 1A). Ligan *curcumin* pada kunyit berinteraksi dengan GRA1 dengan membentuk dua ikatan hidrogen, tiga interaksi hidrofobik, dan tiga interaksi Van der Waals; *Demethoxycurcumin* menghasilkan dua ikatan hidrogen, tiga interaksi hidrofobik, dan tiga interaksi Van der Waals; *Bisdemethoxycurcumin* membentuk satu ikatan hidrogen, tiga interaksi hidrofobik, dan empat interaksi van der Waals (Tabel 5; Gambar 1B).

Visualisasi dan analisis interaksi hasil *docking* dilakukan untuk melihat hasil penambatan berupa interaksi protein dengan ligan. Ditinjau dari jenis interaksi kimia yang terbentuk, *curcumin* dan *demethoxycurcumin* adalah senyawa yang paling stabil saat berinteraksi dengan GRA1 karena membentuk ikatan hidrogen yang paling banyak dibanding dengan ligan lain yaitu dua ikatan hidrogen. Interaksi kimia yang terbentuk dari hasil *docking* dapat digunakan untuk melihat kestabilan interaksi. *Curcumin* dan *demethoxycurcumin* membentuk jumlah interaksi Van der Waals yang sama, yaitu tiga residu asam amino, sedangkan *bisdemethoxycurcumin* memiliki empat ikatan Van der Waals tetapi tidak memiliki ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik dan interaksi Van der Waals

merupakan ikatan yang berperan penting dalam hasil *docking* dalam menentukan stabilitas ligan terhadap reseptor (Arwansyah *et al.*, 2014; Ratu *et al.*, 2019), tapi jika ditambahkan nilai *binding affinity* sebagai parameter kestabilan ikatan, maka ligan *demethoxycurcumin* yang memiliki nilai *binding affinity* paling negative, berarti paling baik dan stabil.

SIMPULAN

Semua senyawa pada jahe merah dan kunyit dapat dikategorikan sebagai molekul obat. Senyawa kimia pada kunyit (*curcumin*, *demethoxycurcumin*, dan *bisdemethoxycurcumin*) dan jahe merah (*β-Pinene*, *β-Sesquiphellandrene*, dan *trans-Caryophyllene*) memiliki potensi sebagai antitoksoplasmosis. Senyawa potensial *demethoxycurcumin* pada kunyit memiliki nilai *binding affinity* interaksi protein-ligan, dan interaksi protein GRA1-ligan yang paling kuat.

DAFTAR PUSTAKA

- Abu-Dalbou MA, Mustafa MA, Nektarios DG, Shawkat QL. 2010. Ovine and Caprine Toxoplasmosis (*Toxoplasma gondii*). *Iranian J Vet Sci and Technology* 2: 61-76.

- Apsari IAP, Artama WT, Sumartono, Damriyasa IM. 2012. Sensitivitas Probe Sag 1 dan Bag 1 untuk Deteksi *Toxoplasma gondii* pada Ayam Buras. *Jurnal Sain Veteriner* 30(1): 20-28
- Arivoli S, Tennyson S, Divya S, Rani S, Marin G. 2019. GC-MS analysis of bioactive compounds of *Curcuma longa* Linnaeus (Zingiberaceae) rhizome extract. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 8(6): 49–52.
- Arunan E, Desiraju GR, Klein RA, Sadlej JS. 2011. Definition of the hydrogen bond. *Pure Appl Chem* 83(8): 1637-1641.
- Arwansyah, Ambarsari L, Sumaryada TI. (2014. Simulasi Docking Senyawa Kurkumin dan Analognya Sebagai Inhibitor Reseptor Androgen pada Kanker Prostat. *Current Biochemistry* 1(1): 11-19
- Baran D, Pszolla MG, Lapidoth GD, Norn C, Dym O, Unger T, Albeck S, Tyka MD, Fleishman SJ. 2017. Principles for computational design of binding antibodies. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114(41): 10900–10905.
- Benet LZ Hosey CM, Ursu O, Oprea TI. 2016. BDDCS, the Rule of 5 and drugability. *Advanced Drug Delivery Reviews* 101: 89–98.
- Chahaya I. 2010. Epidemiologi *Toxoplasma gondii*. Sumatera Utara: Digitized by USU Digital Library. Tersedia di <http://library.usu.ac.id/download/fkm/fkmindra%20c4.pdf>
- Cheraghipour K, Marzban, Abdolrazagh, Ezatpour B, Khanixadeh, Sayyad, Koshki, Javad. 2018. Antiparasitic properties of curcumin: A review. *AIMS Agriculture and Food* 4(1): 1-18.
- Daina A, Michielin O, Zoete V. 2017. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, druglikeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports* 7: 42717. DOI: 10.1038/srep42717
- Dallakyan S, Olson AJ. 2015. Small-molecule library screening by docking with PyRx. *Methods Mol Biol* 243–250
- Damayanti S, Martak NAS, Permana B, Suwandi A, Hartati R, Wibowo I. 2020. In Silico Study on Interaction and Preliminary Toxicity Prediction of Eleutherine americana Components as an Antifungal and Antitoxoplasmosis Candidate. *Indonesia J Chem* 20(2): 899-910
- De Ruyck J, Brysbaert G, Blossey R, Lensink MF. 2016. Molecular docking as a popular tool in drug design, an in silico travel. *Advances and Applications in Bioinformatics and Chemistry* 9: 1-11. <https://doi.org/10.2147/AABC.S105289>
- Dubey JP, Jones JL. 2008. *Toxoplasma gondii* Infection in Humans and Animals in The United States. *International Journal for Parasitology* 38(11): 1257-1278. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2008.03.007>
- Dunay IR, Gajurel K, Dhakal R, Liesenfeld O, Montoya JG. 2018. Treatment of Toxoplasmosis: Historical Perspective, Animal Models, and Current Clinical Practice. *Clinical Microbiology Reviews* 31(4): e00057-17. <https://doi.org/10.1128/CMR.00057-17>
- Girija CR, Karunakar P, Poojari CS, Begum NS, Syed AA. 2010. Molecular docking studies of curcumin derivative with multiple protein targets for procarcinogen activating enzyme inhibition. *J Proteomics Bioinform* 3(6): 200-203
- Ibrahim ZY, Uzairu A, Shallangwa G, Abechi S. 2020. Molecular docking studies, drug-likeness and in-silico ADMET prediction of some novel α -Amino alcohol grafted 1,4,5-trisubstituted 1,2,3-triazoles derivatives as elevators of p53 protein levels. *Scientific African* 10: e00570
- Iskandar T. 2008. Penyakit Toxoplasmosis pada Kambing dan Domba di Jawa. *Wartazoa* 18(3): 157-166.
- Kebede BH, Forsido SF, Tola YB, Astatkie T. 2021. Free radical scavenging capacity, antibacterial activity and essential oil composition of turmeric (*Curcuma domestica*) varieties grown in Ethiopia. *Heliyon* 7(2): e06239.
- Lawhavinit OA, Kongkathip N, Kongkathip, B. 2010. Antimicrobial activity of curcuminoids from *Curcuma Longa* L. on pathogenic bacteria of shrimp and chicken. *Kasetsart Journal-Natural Science* 44(3): 364-371.

- Le TB, Beaufay C, Bonneau N, Mingeot-Leclercq M, Quetin-Leclercq J. 2018. Anti-protozoal activity of essential oils and their constituents against *Leishmania*, *Plasmodium*, and *Trypanosoma*. *ISTE Open Science* 1-33.
- Lebrun M, Carruthers VB, Cesbron-Delauw M. 2014. *Toxoplasma* secretory proteins and their roles in cell invasion and intracellular survival. *Toxoplasma gondii*. Chapter 12, 389-453.
- Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. 2012. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews* 64(Suppl.): 4-17.
- Listyani TA, Herowati R, Djali AD. 2019. Analisis Docking Molekuler Senyawa Derivat Phthalimide sebagai Inhibitor Non-Nukleosida HIV-1 Reverse Transcriptase *Jurnal Farmasi Indonesia* 15(2): 123-134
- Luanphaisarnont T. 2009. Intermolecular Forces: Van der Waals Interaction. <http://evans.rc.fas.harvard.edu>. Diakses pada 3 Maret 2020.
- Luo J, Yang M. 2014. Demethoxycurcumin: A potential antimicrobial agent: Exposure by microcalorimetry and modified broth microdilution method. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 115(3): 2331-2338.
- Mooers BH. 2016. Simplifying and enhancing the use of PyMOL with horizontal scripts. *Protein Society* 25(10): 1873-1882.
- Moretti AN, Zerba EN, Alzogaray RA. 2015. Lethal and sublethal effects of eucalyptol on *Triatoma infestans* and *Rhodnius prolixus*, vectors of Chagas disease. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 154(1): 62-70.
- Mulyani S, Harsojuwono BA, Satriawan IK. 2020. Metabolite profile of ethanol extract of *Curcuma domestica* Val. variety Turina-1. *Journal of Applied Horticulture* 23(1): 11-14.
- Mulyani S, Harsojuwono BA, Antara INS, Putra INK. 2019. LC-MS Based Metabolite Profiling of Ethanolic Extracts from *Curcuma domestica* Val. varieties Turina-1. *Agroindustrial Journal* 6(1): 378-383
- Nur Y, Cahyotomo A, Nanda, Fistoro N. 2020. Profil GC-MS Senyawa Metabolit Sekunder dari Jahe Merah (*Zingiber officinale*) dengan Metode Ekstraksi Etil Asetat, Etanol dan Destilasi. *J Sains Kesehatan* 2(3): 198-204.
- O'Boyle NM, Banck M, James CA, Morley C, Vandermeersch T, Hutchison GR. 2011. Open Babel: An open chemical toolbox. *Journal of Cheminformatics* 3: 33.
- Otto S, Engberts JBFN. 2003. Hydrophobic interactions and chemical reactivity. *Org Biomol Chem* 1: 2803-2820.
- Pantsar T, Poso A. 2018. Binding Affinity via Docking: Fact and Fiction. *Molecules* 23(8): 1899.
- Pradani TC, Fatimawali, Aaltje E, Manampiring, Kepel BJ, Budiarmo FD, Bodhi W. 2021. Molecular Docking Terhadap Senyawa Kurkumin dan Arturmeron pada Tumbuhan Kunyit (*Curcuma Longa* Linn.) yang Berpotensi Menghambat Virus Corona. *eBiomedik* 9(2): 208-214
- Rachmawati I. 2019. Analisis Hubungan Higiene Perorangan Dengan Kejadian Toxoplasmosis pada Komunitas Pemelihara Kucing "Bungkul Cat Lovers" di Surabaya. *Jurnal Kesehatan Lingkungan* 11(2): 116-122
- Ratu BDP, Bodhi W, Budiarmo F, Kepel BJ, Fatimawali, Manampiring A. 2021). Molecular Docking Senyawa Gingerol dan Zingiberol pada Tanaman Jahe sebagai Penanganan Covid-19. *eBiomedik* 9(1): 126-130
- Rinanda T, Isnanda RP, Zulfitri. 2018. Chemical analysis of red ginger (*Zingiber officinale* Roscoe var *rubrum*) Essential oil and its anti-biofilm activity against *Candida albicans*. *Natural Product Communications* 13(12): 1587-1590.
- Sa'diah S, Anwar E, Jufri M, Cahyaningsih U. 2019. Perbandingan Ekstrak Jahe Merah (*Zingiber officinale* Roscoe. Var. *Rubrum*), Gingerol dan Shogaol Sebagai Anti-Toxoplasma Terhadap Parasit *Toxoplasma gondii* Secara *In-Vitro*. *Jurnal Jamu Indonesia* 4(3): 93-102

- Safwan, Yuliani S, Pramono S. 2014. Uji Aktivitas Minyak Atsiri Rimpang Kunyit (*Curcuma longa* Linn) pada Tikus *Sprague Dawley* Model Demensia (Kajian Penghambat Aktivitas Asetilkolinesterase). *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi* 2(2): 20-26.
- Sari, I.W., Junaidin, Pratiwi, D. (2020). Studi Molecular Docking Senyawa Flavonoid Herba Kumis Kucing (*Orthosiphon stamineus* B.) dalam Glukosidase Receptor As Antidiabetic Type 2. *Jurnal Farmagazine* 7(2): 54-60.
- Simanjuntak TP, Mochammad H, Syahrul R, Andi MT, Irawan Y, Nurpuji AT, Sirait RH, Prabandari SA. 2019. Effectiveness *Curcuma longa* to Prevent Cells Damage in Early Pregnant Mice with Acute Toxoplasmosis. *Indonesian Journal of Obstetrics & Gynecology Science* 2(2): 171-177
- Siregar RY, Yuswandi. 2014. Prevalensi Toxoplasmosis pada Domba yang Dipotong di RPH Ngampilan Yogyakarta dengan Metode CATT. *Jurnal Sain Veteriner* 32(1): 78-85
- Sotriiffer CA. 2011. Accounting for induced-fit effects in docking: what is possible and what is not?. *Current Topics in Medicinal Chemistry* 11(2): 179-191. <https://doi.org/10.2174/156802611794863544>
- Subekti DT. 2013. Kajian Antigenisitas dan Imunogenisitas Protein GRA1 dari *Toxoplasma gondii*. *Wartazoa* 23(3): 103-114
- Sultan MA, Mansour S, Galil A, Al-Qubati M, Mufeed M, Omar, Barakat A. 2020. Article Synthesis, Molecular Docking, Druglikeness Analysis, and ADMET Prediction of the Chlorinated Ethanoanthracene Derivatives as Possible Antidepressant Agents. *Appl Sci* 10: 7727 doi:10.3390/app10217727
- Taila AK, Hingwe AS, Johnson LE. 2011. Toxoplasmosis in a patient who was immunocompetent. *J Med Case Rep* 18(5): 16. doi: 10.1186/1752-1947-5-16.
- Trott O, Olson AJ. 2010. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *J Comput Chem* 31(2): 455-461.
- Utami AD, Priyowidodo D. 2014. Pengaruh Pemberian Sari Buah Merah (*Pandanus conoideus*) terhadap Jumlah Eritrosit, Kadar Hemoglobin, Nilai PCV dan TPP Mencit (*Mus musculus*) yang Diinfeksi *Toxoplasma gondii*. *Jurnal Sain Veteriner* 32(1): 13-21
- Verhelst D, De Craeye S, Vanrobaeys M, Czaplicki G, Dorny P, Cox E. 2014. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in domestic sheep in Belgium. *Veterinary Parasitology* 205(1-2): 57-61. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.07.001>
- Widyananda MH, Pratama SK, Samoedra RS, Sari FN, Kharisma VD, Ansori ANM, Antonius Y. 2021. Molecular docking study of sea urchin (*Arbacia lixula*) peptides as multi-target inhibitor for non-small cell lung cancer (NSCLC) associated proteins. *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research* 9(4): 484-496.
- Wihadmadyatami H, Widayanti R, Artama WT. 2011. Isolation and identification expression of Granule-1 (GRA1) recombinant protein *Toxoplasma gondii* local isolate. *Jurnal Sain Veteriner* 29(2): 102-109.
- Wirata IW. 2014. Perbandingan Predileksi Sista *Toxoplasma gondii* pada Jantung dan Diafragma Babi di Bali. *Jurnal Sain Veteriner* 32(2): 185-190
- Wu L, Shen J, Tang C, Jiang X, Wang J, Jin, X, Qiu J, Chen S, Cao J. 2017. Increased expression of *Toxoplasma gondii* GRA1 suppresses host cell apoptosis. *J Bacteriol Mycol Open Access* 4(5): 170-173. DOI: 10.15406/jbmoa.2017.04.00110