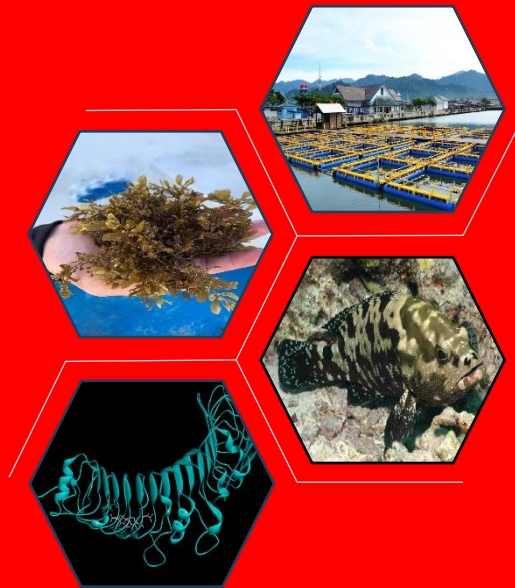


STUDI *IN SILICO* EKSTRAK SENYAWA RUMPUT LAUT (*Sargassum polycystum*) SEBAGAI KANDIDAT ANTI VIRUS *VIRAL NERVOUS NECROSIS* (VNN) YANG SERING MENYERANG IKAN KERAPU MACAN (*Ephinephelus fuscoguttatus*)



**ANDI TENRI UNGA CITTA
L031201046**

PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN

**DEPARTEMEN PERIKANAN
FAKULTAS ILMU KELAUTAN DAN PERIKANAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2024



**Studi *In Silico* Ekstrak Senyawa Rumput Laut (*Sargassum polycystum*)
Sebagai Kandidat Anti Virus *Viral Nervous Necrosis* (VNN) Yang Sering
Menyerang Ikan Kerapu Macan (*Ephinephelus fuscoguttatus*)**

**ANDI TENRI UNGA CITTA
L031201046**



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
DEPARTEMEN PERIKANAN
FAKULTAS ILMU KELAUTAN DAN PERIKANAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**Studi *In Silico* Ekstrak Senyawa Rumput Laut (*Sargassum polycystum*)
Sebagai Kandidat Anti Virus *Viral Nervous Necrosis (VNN)* Yang Sering
Menyerang Ikan Kerapu Macan (*Ephinephelus fuscoguttatus*)**

**ANDI TENRI UNGA CITTA
L031201046**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana

PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN

pada

**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
DEPARTEMEN PERIKANAN
FAKULTAS ILMU KELAUTAN DAN PERIKANAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

LEMBAR PENGESAHAN

SKRIPSI

Studi *In Silico* Ekstrak Senyawa Rumput Laut (*Sargassum polycystum*)
Sebagai Kandidat Anti Virus *Viral Nervous Necrosis* (VNN) Yang Sering
Menyerang Ikan Kerapu Macan (*Ephinephelus fuscoguttatus*)

ANDI TENRI UNGA CITTA

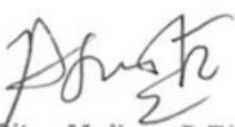
L031201046

Skrripsi,

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Sarjana pada 18 November 2024
dan telah dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan
pada

Program Studi Budidaya Perairan
Departemen Perikanan
Fakultas Ilmu Kelautan Dan Perikanan
Universitas Hasanuddin
Makassar

Mengesahkan:
Pembimbing Tugas Akhir


Asmi Citra Malina, S.Pi., M.Agr., Ph.D
NIP. 19721228 200604 2 001



Dr. Anni Afiah Hidayani, S.Si., M.Si
NIP. 19800502 200501 2 002

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, skripsi berjudul "Studi *In Silico* Ekstrak Senyawa Rumput Laut (*Sargassum polycystum*) Sebagai Kandidat Anti Virus *Viral Nervous Necrosis* (VNN) Yang Sering Menyerang Ikan Kerapu Macan (*Ephinephelus fuscoguttatus*)" adalah benar karya saya dengan arahan dari Ibu Asmi Citra Malina, S.Pi., M.Agr., Ph.D. sebagai pembimbing. Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka skripsi ini. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa skripsi ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 18 November 2024



ANDI TENR/UNGA CITTA
L031201046

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian yang saya lakukan dapat terlaksana dengan sukses dan skripsi ini dapat terampungkan atas bimbingan, diskusi dan arahan Ibu **Asmi Citra Malina, S.Pi, M. Agr. Ph. D** sebagai pembimbing skripsi. Saya mengucapkan berlimpah terima kasih kepada beliau. Terima kasih juga saya sampaikan kepada Kak **Latifa Baharuddin, S.Pi, M.Si.** atas bantuan selama penelitian.

Kepada Ibu **Prof. Dr. Ir. Yushinta Fujaya, M. Si.** selaku dosen pembimbing akademik sekaligus dosen penguji dan Bapak **Dr. Ir. Gunarto Latama, M.Sc.** sebagai penguji yang telah memberikan arahan dan saran. Saya mengucapkan berlimpah terima kasih. Ucapan terima kasih juga saya ucapkan kepada pimpinan Universitas Hasanuddin yang telah memfasilitasi saya menempuh program sarjana serta seluruh dosen dan staf Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Unhas yang telah membantu banyak dan memberikan ilmunya selama masa perkuliahan.

Terima kasih dan penghargaan kepada orang tua saya, Ayahanda **Andi Rudi** dan Ibunda **Sukmawati** yang dengan penuh kesabaran memberikan banyak kasih sayang, motivasi dan dukungan selama saya menempuh pendidikan serta selalu mendoakan kebaikan kepada saya. Tak lupa juga kepada sepupu saya, **Nur Hikmah** yang banyak membantu saya selama proses perkuliahan dan menemani serta menjadi tempat berkeluh-kesah selama ini dan terima kasih kepada seluruh keluarga saya atas dukungan yang luar biasa mulai dari awal kuliah hingga penyelesaian skripsi ini.

Terima kasih juga kepada teman-teman seperjuangan saya semasa kuliah **Ainun, Ayu, Anisa, Beti, Isti, Maria, Puan, Sartika** dan **Tien**. Teman Seperjuangan **Budidaya Perairan 2020** khususnya **Nanda** dan **Fani**, Teman Angkatan **Napoleon 20**, serta semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu, terima kasih atas segala dukungan dan partisipasi dalam penyelesaian skripsi ini.

Terakhir, untuk diri saya sendiri **Andi Tenri Unga Citta**. Terima kasih sudah berjuang sejauh ini. Apresiasi sebesar-besarnya karena dapat bertanggung jawab menyelesaikan apa yang telah dimulai. Terima kasih karena tetap menjadi manusia yang selalu mau berusaha dan tidak lelah mencoba. Terima kasih sudah bertahan.

Penulis,



Andi Tenri Unga Citta

ABSTRAK

ANDI TENRI UNGA CITTA. **Studi *In Silico* Ekstrak Senyawa Rumput Laut (*Sargassum polycystum*) Sebagai Kandidat Anti Virus *Viral Nervous Necrosis* (VNN) Yang Sering Menyerang Ikan Kerapu Macan (*Ephinephelus fuscoguttatus*)** (dibimbing oleh Asmi Citra Malina).

Latar belakang. Ikan Kerapu merupakan salah satu ikan laut yang bernilai ekonomi penting di Indonesia. Para pembudidaya telah berhasil melakukan pembesaran ikan Kerapu macan secara intensif di Karamba Jaring Apung (KJA). Akan tetapi seiring berjalannya waktu mulai ditemukan kendala yakni adanya kasus kematian. VNN merupakan salah satu patogen yang menyebabkan kematian massal pada ikan kerapu stadia larva dan juvenil dengan mortalitas sampai 100%. Penggunaan bahan alami sebagai imunostimulan dipertimbangkan digunakan karena ramah lingkungan dan berpotensi untuk meningkatkan imun non-spesifik. Salah satu sumberdaya melimpah dan belum dimanfaatkan secara optimal adalah berbagai jenis tanaman alga seperti rumput laut. *Sargassum polycystum* adalah salah satu spesies yang kaya akan bahan bioaktif yang berfungsi sebagai antibakteri, antivirus, dan anti jamur. Penemuan awal imunostimulan dan obat-obatan telah banyak menggunakan aplikasi atau software khusus pada komputer yang disebut *in silico*. Metode *in silico* yang banyak digunakan yaitu *molecular docking*. *Molecular docking* adalah teknik komputasi yang memprediksi afinitas pengikatan ligan dengan protein reseptor. **Tujuan.** Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh senyawa aktif dari ekstrak rumput laut *Sargassum polycystum* yang dapat menghambat protein *Viral Nervous Necrosis* (VNN) melalui metode *In Silico*. **Metode.** Penelitian ini menggunakan metode komputasi (*in silico*) yaitu dengan melakukan penelusuran ilmiah ekstrak senyawa rumput laut (*Sargassum polycystum*) sebagai Anti Virus *Viral Nervous Necrosis* (VNN) pada Ikan Kerapu Macan (*Ephinephelus fuscoguttatus*) dan *molecular docking* dengan penambatan ekstrak senyawa rumput laut menggunakan TLR5. Senyawa yang terkandung pada rumput laut diidentifikasi menggunakan metode *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS). **Hasil.** Senyawa yang memiliki nilai *binding affinity* yang lebih rendah dibanding kontrol merupakan senyawa yang terbaik. Senyawa yang paling efektif dari tiga senyawa terbaik untuk dijadikan sebagai antivirus pada rumput laut *Sargassum polycystum* yaitu senyawa 9,19-Cycloergost-24(28)-en-3-ol, 4,14-dimethyl-, acetate, (3.beta.,4.alpha.,5.alpha.)- (Pubchem ID: 92156) dengan nilai *binding affinity* -7.4 kcal/mol. **Kesimpulan.** Rumput laut *Sargassum polycystum* memiliki senyawa potensial yang dapat dijadikan sebagai kandidat antivirus VNN pada ikan kerapu macan berdasarkan hasil analisis secara *in silico* melalui molekular docking.

Kata kunci: ikan kerapu macan; VNN; rumput laut

ABSTRACT

ANDI TENRI UNGA CITTA. ***In Silico Study of Seaweed (*Sargassum polycystum*) Compound Extract as a Candidate for Anti-Virus Viral Nervous Necrosis (VNN) Which Often Attacks Tiger Grouper Fish (*Ephinephelus fuscoguttatus*)*** (supervised by Asmi Citra Malina).

Background. Grouper is one of the marine fish with important economic value in Indonesia. Farmers have succeeded in intensively raising tiger grouper in floating net cages (KJA). However, over time, obstacles began to be found, namely cases of death. VNN is one of the pathogens that causes mass death in grouper fish in the larval and juvenile stages with mortality of up to 100%. The use of natural ingredients as immunostimulants is considered because it is environmentally friendly and has the potential to increase non-specific immunity. One of the abundant resources that has not been optimally utilized is various types of algae plants such as seaweed. *Sargassum polycystum* is one species that is rich in bioactive ingredients that function as antibacterials, antiviruses, and antifungals. The initial discovery of immunostimulants and drugs has widely used special applications or software on computers called *in silico*. The *in silico* method that is widely used is *molecular docking*. Molecular docking is a computational technique that predicts the *binding affinity* of ligands to receptor proteins.

Objective. This study aims to obtain active compounds from *Sargassum polycystum* seaweed extract that can inhibit *Viral Nervous Necrosis* (VNN) protein through the *In Silico* method. **Method.** This research uses computational methods (*in silico*), namely by conducting scientific searches of seaweed compound extracts (*Sargassum polycystum*) as Anti-Viral Viral Nervous Necrosis (VNN) in Tiger Grouper Fish (*Ephinephelus fuscoguttatus*) and molecular docking by tethering seaweed compound extracts using TLR5. Compounds contained in seaweed were identified using Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) method. **Results.** Compounds that have a lower binding affinity value than the control are the best compounds. The most effective compound of the three best compounds to be used as an antiviral in *Sargassum polycystum* seaweed is the compound 9,19-Cycloergost-24(28)-en-3-ol, 4,14-dimethyl-, acetate, (3.beta.,4.alpha.,5.alpha.)- (Pubchem ID: 92156) with a binding affinity value of -7.4 kcal/mol. **Conclusion.** *Sargassum polycystum* seaweed has potential compounds that can be used as VNN antivirus candidates in tiger grouper fish based on *in silico* analysis results through *molecular docking*.

Key words: tiger grouper fish; VNN; seaweed

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PERNYATAAN PENGAJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	iv
UCAPAN TERIMA KASIH	v
ABSTRAK	vi
ABSTRACT.....	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
CURRICULUM VITAE	xii
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan dan Manfaat.....	2
BAB II. METODE PENELITIAN.....	3
2.1 Waktu dan Tempat	3
2.2 Tahap Persiapan	3
2.3 Tahap Pelaksanaan.....	4
2.4 Analisis Data	6
BAB III. HASIL DAN PEMBAHASAN	7
3.1 Analisis Senyawa Aktif Ekstrak <i>Sargassum polycystum</i> dengan Metode Gas <i>Chromatography-Mass Spectrometry</i> (GC-MS)	7
3.2 Analisis <i>In Silico</i> Interaksi Ligan-Protein (<i>Molecular Docking</i>)	8
BAB IV. KESIMPULAN.....	13
DAFTAR PUSTAKA	14
LAMPIRAN.....	18

DAFTAR TABEL

Nomor urut	Halaman
1. Bahan yang digunakan selama penelitian.	3
2. Alat yang digunakan selama penelitian.	3
3. Nilai <i>Binding Affinity</i>	9
4. Asam amino yang berikatan dengan ligan.....	12

DAFTAR GAMBAR

Nomor urut	Halaman
1. Prosedur Pelaksanaan Uji <i>In Silico</i>	4
2. Tahapan Pelaksanaan <i>Molecular Docking</i>	5
3. Kromatogram hasil analisis GC-MS rumput laut <i>Sargassum polycystum</i>	7
4. Visualisasi 2D interaksi <i>9,19-Cycloergost-24(28)-en-3-ol, 4,14-dimethyl-, acetate, (3.beta.,4.alpha.,5.alpha.)-</i> dengan TLR5.....	11
5. Visualisasi 2D interaksi <i>Cholest-5-En-3-Ol (3.Beta.)-</i> dengan TLR5.	11
6. Visualisasi 2D interaksi <i>2(4h)-Benzofuranone, 5,6,7,7a-Tetrahydro-6-Hydroxy-4,4,7a-Trimethyl</i> dengan TLR5.	12

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor urut	Halaman
1. Senyawa Rumput Laut <i>Sargassum polycystum</i>	18
2. Rumput Laut <i>Sargassum polycystum</i>	20

CURRICULUM VITAE

A. Data Pribadi

1. Nama : Andi Tenri Unga Citta
2. Tempat, tgl lahir : Siwa, 14 Februari 2002
3. Alamat : Siwa
4. Kewarganegaraan : Warga Negara Indonesia

B. Riwayat Pendidikan

1. Tamat TK tahun 2008 di TK Pertiwi Siwa
2. Tamat SD tahun 2014 di SDN 184 Batu
3. Tamat SMP tahun 2017 di MTsN Wajo
4. Tamat SMA tahun 2020 di SMAN 6 Wajo

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ikan Kerapu merupakan salah satu ikan laut yang bernilai ekonomi penting di Indonesia. Ikan Kerapu memiliki beberapa jenis salah satunya yaitu ikan kerapu macan yang merupakan jenis ikan demersal yang menyukai hidup di daerah perairan berkarang tropis maupun subtropis dan terdapat spesies tertentu yang hidup di perairan berlumpur (Harjuni *et al.*, 2023). Diantara komoditas air payau yang banyak dibudidayakan di Keramba Jaring Apung, ikan kerapu menjadi komoditas yang memberikan penghasilan yang sangat tinggi.

Para pembudidaya telah berhasil melakukan pembesaran ikan Kerapu macan secara intensif di Karamba Jaring Apung (KJA). Akan tetapi seiring berjalannya waktu mulai ditemukan kendala yakni adanya kasus kematian. Zafran (2016) menyatakan bahwa pada budidaya ikan kerapu secara intensif sering terjadi kematian yang disebabkan oleh serangan penyakit. Setiawan *et al.*, (2023) menyebutkan serangan parasit dapat menjadi penyakit infeksi dan menyebabkan kematian massal pada ikan kerapu di KJA. *Viral Nervous Necrosis* (VNN) merupakan salah satu patogen yang menyebabkan kematian massal pada ikan kerapu stadia larva dan juvenil dengan mortalitas sampai 100% (Zorriezahra, 2020). Penyakit VNN dapat menyerang otak sehingga menyebabkan ikan berenang berputar, mengambang di permukaan dengan perut menghadap ke atas dan pigmentasi warna yang lebih gelap pada ikan (Sudaryatma *et al.*, 2012). Perkembangan usaha budidaya ikan Kerapu selalu diikuti oleh berjangkitnya berbagai jenis penyakit, baik yang disebabkan oleh infeksi virus, bakteri, parasit maupun penyakit non-infeksi.

Upaya pencegahan terhadap penyakit virus dapat dilakukan dengan vaksinasi dan imunostimulan. Pratama (2023) menyatakan bahwa vaksinasi adalah salah satu metode pencegahan virus dan telah dilaporkan menjadi metode pengendalian penyakit VNN. Selain vaksinasi, solusi terbaik menangani masalah penyakit adalah penggunaan imunostimulan pada bidang akuakultur (Muahiddah dan Affandi, 2023). Penggunaan bahan alami sebagai imunostimulan dipertimbangkan digunakan karena ramah lingkungan dan berpotensi untuk meningkatkan imun non-spesifik. Beberapa imunostimulan dari bahan alami yang mudah didapat antara lain kunyit, bawang putih dan jahe (Muahiddah dan Diamahesa, 2022).

Sebagai negara kepulauan, salah satu sumberdaya melimpah dan belum dimanfaatkan secara optimal adalah berbagai jenis tanaman alga seperti rumput laut. Rumput laut mampu memproduksi metabolit primer dan sekunder yang dapat dimanfaatkan untuk berbagai bidang industri. Rumput laut yang terdapat di perairan laut Indonesia memiliki beberapa manfaat dalam industri obat, antara lain sebagai: antihipertensi, anti-bakteri, anti-tumor, anti oksidasi, anti-fungi, anti-hiperkolesterolemia dan anti-virus (Juniyazaki, 2021).

Rumput laut yang mempunyai khasiat anti bakteri diantaranya *Phaeophyta* (alga coklat) (Raharjo *et al.*, 2014). Menurut Muahiddah dan Dwiyantri (2024) menyatakan bahwa alga coklat yang banyak diteliti adalah jenis *Sargassum* yang tersebar luas di perairan tropis dan subtropis. *Sargassum* mengandung beberapa polisakarida seperti fucoidan, asam alginat yang mampu meningkatkan sistem imun pada ikan dan udang

yang kemudian bisa melawan serangan penyakit dan dikenal memiliki beragam senyawa bioaktif, termasuk polisakarida, polifenol, dan pigmen alami, yang memiliki potensi sebagai imunostimulan. *Sargassum polycystum* adalah salah satu spesies yang kaya akan bahan bioaktif, seperti: alginat, fucoidan, fucoxantin, dan phlorotannin. *Sargassum* juga mengandung senyawa-senyawa aktif seperti steroid, alkaloid, fenol, triterpenoid, flavonoid, saponin dan tanin, yang berfungsi sebagai antibakteri, antivirus, dan anti jamur (Rahma, 2020). Sampai saat ini belum ada penelitian terkait kemampuan *Sargassum polycystum* sebagai imunostimulan dan antivirus, terutama pada hewan budidaya. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian mengenai efektivitas senyawa *Sargassum polycystum* sebagai imunostimulan atau antivirus.

Saat ini, penemuan awal imunostimulan dan obat-obatan telah banyak menggunakan aplikasi atau *software* khusus pada komputer. Metode komputasi ini juga dikenal dengan metode *in silico*. *In silico* merupakan metode riset yang memanfaatkan teknologi komputasi dan database untuk mengembangkan penelitian lebih lanjut (Kinasih *et al.*, 2023). Pendekatan *in silico* digunakan untuk menganalisis sifat kimia dan sifat biologis secara umum berdasarkan struktur kimia yang mewakili (Myatt *et al.*, 2018). Metode ini tidak perlu menggunakan hewan, dan dapat menghemat waktu dalam proses eksekusi, sehingga biasanya dilakukan dalam tahap pertama karena lebih murah dan cepat (Benfenati *et al.*, 2010). Salah satu metode *in silico* yang digunakan adalah *molecular docking* (Effendi *et al.*, 2023). *Molecular docking* adalah teknik komputasi yang memprediksi afinitas pengikatan ligan dengan protein reseptor. Teknik ini dapat memprediksi secara kuantitatif bagaimana kekuatan suatu ikatan molekul dan menyajikan data berdasarkan tingkatan afinitas ikatan ligan terhadap reseptor (Ferreira *et al.*, 2015). Dalam rangka penelitian penggunaan rumput laut dalam hal ini *Sargassum polycystum* sebagai antivirus VNN maka diperlukan penentuan protein target yang berasal dari protein VNN itu sendiri. VNN memiliki protein yaitu *Toll-Like Receptor 5* (TLR5). TLR5 bertugas mengenali flagellin dan berkontribusi terhadap motilitas patogen bakteri (Cheng *et al.*, 2014).

Berdasarkan uraian tersebut, maka perlu dilakukan penelitian terkait penggunaan ekstrak rumput laut *Sargassum polycystum* sebagai kandidat anti virus *Viral Nervous Necrosis* (VNN) yang sering menyerang ikan Kerapu macan (*Ephinephelus fuscoguttatus*) dengan pendekatan *in silico* melalui metode *molecular docking* yang menggunakan TLR5 sebagai protein target.

1.2 Tujuan dan Manfaat

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk memperoleh senyawa aktif dari ekstrak rumput laut *Sargassum polycystum* yang dapat menghambat protein *Viral Nervous Necrosis* (VNN) melalui metode *In Silico*.

Hasil dari penelitian ini yaitu sebagai sumber acuan untuk penggunaan metode *in silico* dalam bidang budidaya untuk menghambat protein *Viral Nervous Necrosis* dari ekstrak rumput laut *Sargassum polycystum* yang merupakan bahan herbal sehingga membutuhkan biaya yang lebih sedikit dan tidak memberikan dampak yang negatif, serta dapat digunakan sebagai sumber referensi untuk penelitian selanjutnya dan melakukan penelitian lebih lanjut menggunakan metode *in vivo* dan *in vitro*.

BAB II. METODE PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan selama 2 bulan yaitu pada bulan April-Mei 2024 dilakukan di Laboratorium Biofarmaka Pusat Kegiatan Penelitian (PKP) Universitas Hasanuddin untuk metode ekstraksi, untuk metode GC-MS (*Gas Chromatography-Mass Spectrometry*) di Laboratorium Teknik Kimia Politeknik Negeri Ujung Pandang.

2.2 Tahap Persiapan

2.2.1 Bahan dan Alat

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

Tabel 1. Bahan yang digunakan selama penelitian.

Nama Bahan	Fungsi
Ekstrak <i>Sargassum polycystum</i>	Bahan uji GC-MS
<i>Toll-Like Reseptor 5 (TLR5)</i>	Bahan uji <i>in silico</i>

Tabel 2. Alat yang digunakan selama penelitian.

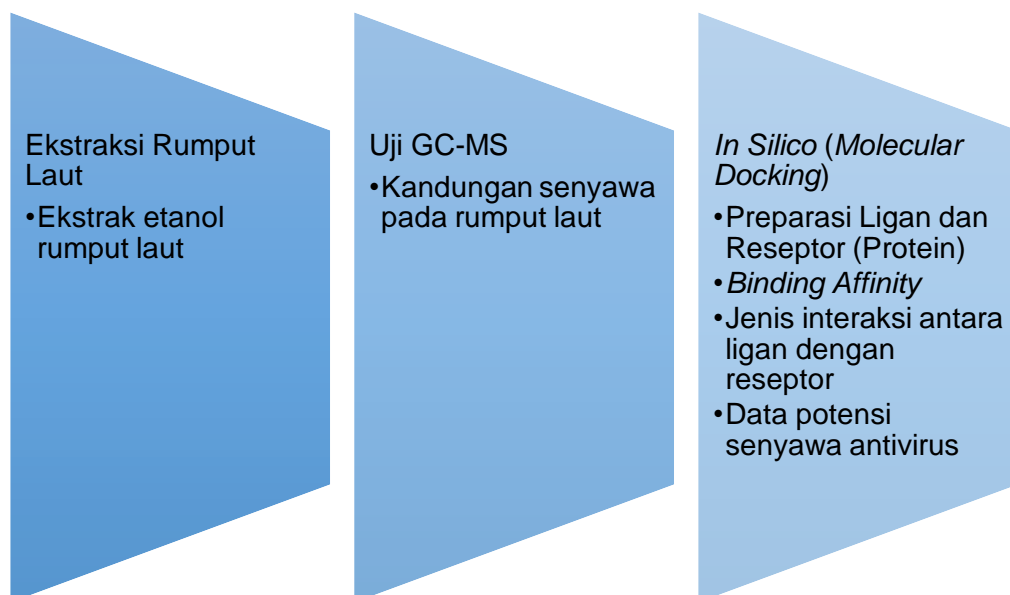
Nama Alat	Fungsi
<i>Rotary Evaporator</i>	Alat untuk ekstraksi
GCMS QP-2010 Shimadzu Ultra	Alat uji GC-MS
Laptop Asus VivoBook	Untuk uji <i>in silico</i>
Microsoft Office 2019	Aplikasi pendukung
PyRx 0.8	Aplikasi pendukung
UCSF Chimera (3D Viewer)	Aplikasi pendukung
PyMOL	Aplikasi pendukung
BIOVIA Discovery Studio Visualizer	Aplikasi pendukung

2.2.2 Pengambilan Sampel Rumput Laut dan Persiapan Ekstraksi

Sampel rumput laut yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari Pulau Khayangan, Kota Makassar, Provinsi Sulawesi Selatan. Setelah dikoleksi, sampel basah yang baru dipanen kemudian akan dimasukkan kedalam wadah untuk diproses lebih lanjut.

Sebelum dilakukan ekstraksi, terlebih dahulu dilakukan penyiapan sampel dengan cara sebanyak 11 kg sampel basah yang baru dipanen dilakukan pencucian sampel terlebih dahulu menggunakan air mengalir beberapa kali hingga bersih dari presipitat air garam dan dilakukan sortasi basah untuk menghilangkan pengotor berupa epifit yang terikut saat proses koleksi sampel. Kemudian, sampel dikeringkan selama lebih kurang 8 jam per hari pada siang hari hingga betul-betul kering.

2.3 Tahap Pelaksanaan



Gambar 1. Prosedur Pelaksanaan Uji *In Silico*

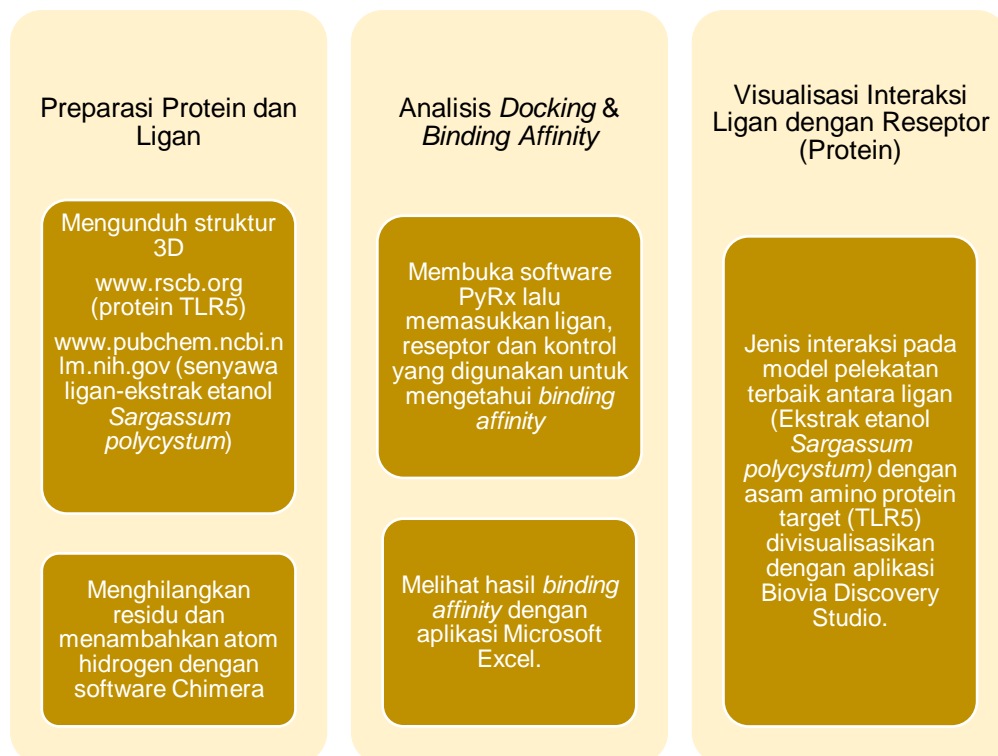
2.3.1 Ekstraksi Senyawa Rumput Laut *Sargassum polycystum*

Metode ekstraksi yang digunakan yaitu metode maserasi. Sampel rumput laut dimaserasi menggunakan larutan Etanol 96% selama 3-4 hari. Kemudian disaring menggunakan kertas saring untuk mendapatkan filtrat. Hasil dari filtrasi tersebut kemudian diekstrak menggunakan *Rotary Evaporator* hingga didapatkan ekstrak dari rumput laut *Sargassum polycystum*. Etanol memiliki sifat lebih mudah menembus dinding sel sehingga mampu melakukan difusi dan menarik senyawa bioaktif lebih cepat. Penggunaan pelarut etanol 96% dalam proses ekstraksi *Sargassum polycystum* menghasilkan lebih banyak senyawa aktif dibandingkan dengan hasil ekstraksi etanol 50% dan 70% (Riwanti dan Izazih, 2019).

2.3.2 Analisis Senyawa Aktif Rumput Laut *Sargassum polycystum* dengan Metode *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS)

Hasil ekstrak rumput laut *Sargassum polycystum* yang didapatkan selanjutnya akan dianalisis menggunakan GC-MS (*Gas Chromatography-Mass Spectrometry*) (GC-MS) QP 2010 Shimadzu Ultra untuk mengetahui senyawa aktif yang terkandung dalam *Sargassum polycystum*. Sampel sebanyak 0,5 mL diinjeksikan ke GC-MS yang dioperasikan menggunakan kolom yang panjangnya 30 m dengan diameter 0,25 mm. Suhu sumber ion dan interface 200°C dan 280°C. Suhu awal kolom 70°C dengan waktu tahan 2 menit hingga 200°C dan untuk suhu akhir 280°C.

2.3.3 Analisis Interaksi Ligan (Senyawa *Sargassum polycystum*) dengan Reseptor (Protein TLR5) pada *Viral Nervous Necrosis* secara *In Silico*



Gambar 2. Tahapan Pelaksanaan *Molecular Docking*

a. Preparasi Protein (TLR5)

Protein yang akan digunakan akan diunduh dari situs resmi *protein data bank* (www.uniprot.org) dalam format PDB. Protein yang digunakan dalam penelitian ini adalah TLR5 dengan kode protein yaitu 6BXC. Setelah itu protein diunduh dalam format PDB.

b. Preparasi Ligan (Senyawa Rumput Laut *Sargassum polycystum*)

Ligan yang digunakan dalam uji ini adalah senyawa alami dari ekstrak rumput laut *Sargassum polycystum* yang didapatkan hasil dari GC-MS, kemudian mengumpulkan struktur 3D senyawa alami dari ekstrak rumput laut *Sargassum polycystum* melalui situs resmi <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> dengan mengunduh file berformat SDF. Selanjutnya, mengunduh inhibitor kontrol yang digunakan pada penelitian ini yaitu *Oxytetracycline* untuk VNN.

Setelah mengunduh senyawa aktif yang dibutuhkan dan inhibitor kontrol, maka masing-masing divisualisasi menggunakan aplikasi PyMOL. Selanjutnya ditambahkan atom hydrogen dan disimpan dalam bentuk “.mol2”. Hal ini berfungsi untuk mempersiapkan kebutuhan *docking* yang meliputi ligan dan protein target.

c. Proses Docking

Proses *docking* dilakukan dengan menggunakan *software* PyRx dengan memasukkan preparasi ligan, preparasi protein *Viral Nervous Necrosis* (VNN) serta inhibitor kontrol *Oxytetracycline* dalam *software* PyRx 0.8.

2.4 Analisis Data

Molecular docking dan analisis data *docking* dilakukan untuk mengetahui nilai *binding affinity*. Semakin negative nilai *binding affinity* yang didapatkan maka menunjukkan kuatnya interaksi antara senyawa pada rumput laut *Sargassum polycystum* yang berperan sebagai ligan dengan reseptor protein TLR5 pada VNN.