

**STUDI *IN SILICO* EKSTRAK SENYAWA RUMPUT LAUT
Glacilaria changii SEBAGAI ANTIVIRUS WSSV (*White Spot
Syndrome Virus*) YANG SERING MENYERANG UDANG VANAME
(*Penaeus vannamei*)**



MARIA CECELIA PENI
L031201078



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

2024

**Studi *In Silico* Ekstrak Senyawa Rumput Laut
Glacilaria changii Sebagai Antivirus WSSV (*White Spot
Syndrome Virus*) Yang Sering Menyerang Udang Vaname
(*Penaeus vannamei*)**

**MARIA CECELIA PENI
L031201078**



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

**Studi *In Silico* Ekstrak Senyawa Rumput Laut
Glacilaria changii Sebagai Antivirus WSSV (White Spot
Syndrome Virus) Yang Sering Menyerang Udang Vaname (*Penaeus vannamei*)**

**MARIA CECELIA PENI
L031201078**

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
Glacilaria changii SEBAGAI ANTIVIRUS WSSV (*White Spot
Syndrome Virus*) YANG SERING MENYERANG UDANG VANAMEI
(*Penaeus vannamei*)

MARIA CECELIA PENI
L031201078

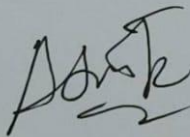
Skripsi,

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Sarjana pada 29 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

Mengetahui,

Ketua Program Studi



Dr. Andi Allah 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 *Glacilaria changii* Sebagai Antivirus WSSV (*White Spot Syndrome Virus*) Yang Sering Menyerang Udang Vanamei (*penaeus vannamei*)" 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, 30 November 2024



MARIA CECELIA PENI
L031201078

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 pak Pak **Muh. Anshar S.Si, M.Sc** dan Kak **Latifa Baharuddin, S.Pi, M.Si** atas bantuan selama penelitian.

Kepada Ibu **Dr.Ir. Sriwulan, M.P.** 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 **Hendrikus Theodorus Noa** dan Ibunda **Christina Kumanireng**, adik saya **Gregorius Noa Fono** yang dengan penuh kesabaran memberikan banyak kasih sayang, motivasi dan dukungan selama saya menempuh pendidikan serta selalu mendoakan kebaikan kepada saya. **Dan pratu Oskar Ellihakim Raweyai** yang selalu ada saat penulis membutuhkan tempat pulang untuk bercerita. Terima kasih untuk semua dukungan yang diberikan kepada penulis.

Terima kasih juga kepada teman-teman seperjuangan saya semasa kuliah **Nanda, Citta, Saldy, Ainun, Fani.** Teman Seperjuangan **Budidaya Perairan 2020**, Teman Angkatan **Napoleon 20**, dan **UKM Menwa 701 Unhas** 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 **Maria Cecelia Peni**. Terima kasih sudah berjuang dan bertahan 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,

Maria Cecelia P

ABSTRAK

MARIA CECELIA PENI. ***In Silico* Study of *Glacilaria changii* Seaweed Compound Extract as an Antivirus of WSSV (White Spot Syndrome Virus) Which Often Attacks Vanamei Shrimp (*Penaeus vannamei*)** (dibimbing oleh Asmi Citra Malina).

Latar Belakang. Udang vanamei (*Penaeus vannamei*) merupakan produk perikanan yang memiliki nilai ekonomis tinggi. Salah satu udang yang paling banyak diminati dan mendominasi pasar yaitu Udang vanamei. Namun, saat ini budidaya udang vanamei memiliki kendala yaitu penyakit WSSV yang menyebabkan kerugian ekonomi yang signifikan bagi para pembudidaya. **Tujuan.** Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis senyawa dari ekstrak etanol rumput laut *Glacilaria changii* yang memiliki kemampuan dalam menghambat WSSV melalui uji *molecular docking*. **Metode.** Penelitian ini menggunakan metode komputasi (*in silico*) yaitu dengan melakukan penelusuran ilmiah ekstrak senyawa rumput laut (*Gracillaria changii*) sebagai Anti Virus *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) Yang Sering Menyerang Udang Vanamei (*Penaeus vannamei*) menggunakan *molecular docking* dengan penambahan ekstrak senyawa rumput laut dan protein WSSV VP26. 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 lima rumput laut *Gracillaria changii* untuk dijadikan sebagai antivirus untuk WSSV pada udang vanamei yaitu senyawa *n-Hexadecanoic acid* dengan nilai *binding affinity* -7.15. **Kesimpulan.** Rumput laut uji *Gracilaria changii* mengandung senyawa potensial yang dapat dijadikan kandidat antivirus untuk *White spot syndrome virus* (WSSV) pada udang vanamei (*Penaeus vannamei*) yang ditemukan melalui analisis *in silico* menggunakan metode *molecular docking* untuk mempelajari interaksi ikatan antara ligan dan protein.

Kata kunci : Udang vanamei, WSSV, *Glacilaria changii*, *In silico*, Antivirus

ABSTRACT

MARIA CECELIA PENI. **Study in Silico of Seaweed Compound Extract *Gracilaria changii* as an Antiviral for WSSV (White Spot Syndrome Virus) in Vannamei Shrimp (*Penaeus vannamei*)** (supervised by Asmi Citra Malina).

Background. Vaname shrimp (*Penaeus vannamei*) is a fishery product that has high economic value. One of the most in-demand and market-dominating shrimp is vanamei shrimp. However, currently vaname shrimp farming has an obstacle, namely WSSV disease which causes significant economic losses for farmers. **Purpose.** This study aims to analyze compounds from ethanol extract of *Gracilaria changii* seaweed which has the ability to inhibit WSSV through *molecular docking* tests. **Method.** This study uses a computational method (*in silico*), namely by conducting a scientific search of seaweed compound extract *Gracilaria changii* as an Anti-Virus *White spot syndrome virus* (WSSV) in vannamei shrimp (*Penaeus vannamei*) using *molecular docking* with the addition of seaweed compound extract and WSSV VP26 protein. The compounds contained in seaweed were identified using the *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS) method. **Result.** Compounds that have lower binding affinity values than control are the best compounds. The most effective compound of the five *Gracilaria changii* seaweeds to be used as an antiviral for WSSV in vannamei shrimp is the *n-Hexadecanoic acid* compound with a binding affinity value of -7.15. **Conclusion.** Test seaweed *Gracilaria changii* contains a potential compound that can be used as an antiviral candidate for WSSV in vannamei shrimp (*Penaeus vannamei*) which was found through *in silico* analysis using *molecular docking* methods to study the binding interactions between ligands and proteins.

Keywords: vanamei shrimp, WSSV, *Gracilaria changii*, *in silico*, antiviral

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA.....	ERROR!
BOOKMARK NOT DEFINED.	
UCAPAN TERIMA KASIH.....	VI
ABSTRAK	VII
ABSTRACT	VIII
DAFTAR ISI	IX
DAFTAR TABEL	X
DAFTAR GAMBAR	XI
DAFTAR LAMPIRAN	XII
CURRICULUM VITAE	XIII
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 Tahapan Persiapan.....	3
2.2.1 Alat dan Bahan	3
2.2.2 Pengambilan Sampel Rumput Laut dan Persiapan Ekstraksi.....	3
2.3 Tahap Pelaksanaan penelitian.....	4
2.3.1 Ekstraksi Senyawa Aktif Rumput Laut	4
2.3.2 Analisis Senyawa Aktif Rumput Laut dengan Metode Gas Chromatography-Mass Spectroscopy (GC-MS)	4
2.3.3 Analisis Interaksi Ligan (Rumput Laut) dengan Reseptor (Protein VP26) pada <i>White Spot Syndrome Virus</i> Secara <i>In Silico</i>	5
2.4 Analisis Data.....	8
BAB III. HASIL DAN PEMBAHASAN	9
3.1 Analisis Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) Ekstra <i>Glacilaria changii</i>	9
3.2. Analisis Interaksi Antara Ligan-Protein (<i>Molecular Docking</i>)	10
3.2.1. Analisis Nilai <i>Binding Affinity</i>	11
3.2.2. Jenis Interaksi Antara Ligan (Senyawa <i>Glacilaria changii</i>) dengan Reseptor (VP26)	12
BAB IV. KESIMPULAN	17
DAFTAR PUSTAKA.....	18

DAFTAR TABEL

Nomor urut	Halaman
1. Alat yang digunakan selama penelitian.....	3
2. Bahan yang digunakan selama penelitian.	3
3. Prosedur preparasi protein	6
4. Prosedur preparasi ligan.....	7
5. Prosedur visualisasi hasil <i>molecular docking</i>	8
6. Senyawa dengan SI tinggi	12
7. Nilai <i>Binding Affinity</i>	16
8. Asam Amino yang Berikatan dengan Ligan	23

DAFTAR GAMBAR

Nomor urut	Halaman
Gambar 1. Prosedur Pelaksanaan Uji <i>In Silico</i>	4
Gambar 2. Tahapan Pelaksanaan <i>Molecular Docking</i>	5
Gambar 3. Hasil Gas Chromatography-Mass Spectrometry <i>Glacilaria changi</i>	9
Gambar 4. Struktur 3D VP26	11
Gambar 5. Visualisasi Interaksi <i>1,6-Anhydro-.beta.-d-talopyranose</i> dengan VP26	13
Gambar 6. Visualisasi Interaksi <i>n-Hexadecanoic acid</i> dengan VP26.....	13
Gambar 7. Visualisasi Interaksi <i>OCTADEC-9-ENOIC ACID</i> dengan VP26	14
Gambar 8. Visualisasi Interaksi <i>Arachidonic acid</i> dengan VP26.....	15
Gambar 9. Visualisasi Interaksi <i>CHOLEST-5-EN-3-OL (3.BETA.)-</i> dengan VP26..	15

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor urut	Halaman
Lampiran 1. Proses <i>Molecular Docking</i>	21
Lampiran 2. Senyawa Rumput Laut <i>Glacilaria changii</i>	28
Lampiran 3. Dokumentasi Kegiatan	35

CURRICULUM VITAE

A. Data Pribadi

1. Nama : Maria Cecelia Peni
2. Tempat, tgl lahir : Keningau, SABAH-Malaysia, 01 Agustus 2000
3. Alamat : Jl. Dato Kedaro, Labuan Tereng, Kec. Lembar, Kabupaten Lombok Barat, Nusa Tenggara Barat
4. Kewarganegaraan : Warga Negara Indonesia

B. Riwayat Pendidikan

1. Tamat SD tahun 2014 di SD Budi Luhur 02 Asbon
2. Tamat SMP tahun 2017 di SMPT CLC Bingkor
3. Tamat SMK tahun 2020 di SMKN 1 Lembar, Lombok

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Udang vanamei (*Penaeus vannamei*) merupakan komoditas perikanan yang memiliki nilai ekonomis tinggi. Salah satu udang yang paling banyak diminati dan mendominasi pasar yaitu udang vanamei (Asni *et al.*, 2023). Menurut Kementerian Kelautan Perikanan (2022) produksi budidaya udang vanamei pada tahun 2020 mencapai 1,11 juta ton, dan mengalami peningkatan sebesar 1,21 juta ton pada tahun 2021. Industri budidaya di Indonesia mengalami perkembangan pesat dalam beberapa tahun terakhir. Hal ini didorong oleh permintaan pasar yang tinggi. Namun, budidaya udang vanamei juga dihadapkan pada berbagai tantangan, salah satunya adalah penyakit *White spot syndrome virus* (WSSV) (Mahardika *et al.*, 2018). Penyakit pada udang vanamei dapat menyebabkan kerugian ekonomi yang signifikan bagi para pembudidaya.

White spot syndrome virus (WSSV) merupakan virus yang dapat menyebabkan penyakit white spot pada udang. Penyakit ini menjadi penyakit paling banyak menimbulkan kerugian secara ekonomi 15% dalam produksi udang. (Petil *et al.*, 2021). Udang yang terserang *White spot syndrome virus* ditandai dengan munculnya bercak putih pada permukaan kulit luarnya khususnya karapace (Tasakka *et al.*, 2022). Penularan WSSV sangat cepat melalui induk menular ke larva dan secara horizontal melalui air (waterborne transmission) sehingga menyebabkan kematian massal dalam waktu 3-10 hari sejak timbul gejala klinis. (Lai *et al.*, 2020).

Upaya pencegahan serangan *White spot syndrome virus* (WSSV) dapat dilakukan dengan pemberian imunostimulan. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa ekstrak rumput laut dapat dijadikan sebagai imunostimulan dan antivirus *White spot syndrome virus* (WSSV) pada udang vanamei. Ekstrak rumput laut *Glacilaria verrucosa* telah terbukti dapat melawan serangan *White Spot Syndrome Virus* pada udang vanamei (Zahra *et al.*, 2019). Selanjutnya Khaeril. (2023) menunjukkan bahwa pakan yang mengandung ekstrak rumput laut *Halymenia Durvillei* dapat meningkatkan aktivitas lysozime dan ketahanan terhadap serangan *White Spot Syndrome Virus* pada udang vanamei. Namun demikian penelitian terkait penggunaan ekstrak rumput laut sebagai imunostimulan dan antivirus *White spot syndrome virus* (WSSV) masih minim jumlahnya. Oleh karena itu, dibutuhkan penelitian lebih banyak lagi terkait potensi ekstrak rumput laut sebagai imunostimulan meningkatkan ketersediaan bahan baku rumput laut melimpah di perairan Indonesia.

Salah satu jenis rumput laut yang banyak ditemukan melimpah di perairan pesisir Sulawesi selatan adalah *Glacilaria changii*. *Glacilaria changii* adalah salah satu jenis rumput laut genus ganggang merah (Rhodophyta) yang banyak dibudidayakan dan banyak hidup di dataran lumpur intertidal. *Glacilaria changii* juga merupakan sumber agar dan agarose berkualitas baik dengan kandungan gel yang tinggi (Yusuf, 2023) *Glacilaria changii* memiliki kandungan antioksidan yang dapat mencegah penyakit kardiovaskular (Chan *et al.*, 2014). Sampai saat ini belum ada data mengenai profil dan fungsi rumput laut *Glacilaria changii* sebagai imunostimulan, antivirus dan antibakteri. Oleh karena itu, penelitian mengenai kemampuan *Glacilaria changii*

sebagai imunostimulan atau antivirus sangat diperlukan khususnya pada organisme budidaya perairan.

Penelitian terkait penemuan awal imunostimulan, antivirus atau obat dapat melalui pemanfaatan komputer yang dikenal dengan nama *in silico*. *In silico* adalah suatu metode pendekatan menggunakan simulasi komputer dengan program tertentu untuk mengidentifikasi senyawa dengan potensi dan selektifitas yang lebih tinggi (Wang *et al.*, 2015). Menurut Molla & Aljahdali (2022) teknik desain antivirus *in silico* adalah kunci terbaik untuk menghemat waktu dan biaya dengan memprediksi perkiraan protein dan memilih senyawa bioaktif. Metode *in silico* yang sering digunakan yaitu *molecular docking*.

Molecular docking atau penambatan molekuler adalah teknik komputasi yang memprediksi bagaimana molekul akan terikat satu sama lain dengan metode yang efisien, cepat, dan ekonomis. Penelitian terkait *molecular docking* ini dapat memprediksi suatu senyawa misalnya senyawa ekstrak rumput laut yang memiliki ikatan dengan reseptor protein misalnya WSSV.

Terkait penelitian kemampuan ekstrak rumput *Glacilaria changii* sebagai antivirus *White spot syndrome virus* melalui uji *in silico*, maka perlu ditentukan jenis protein dari WSSV yang menjadi protein target. Pada partikel WSSV terdapat protein selubung yang dikenal dengan nama Viral Protein (VP) 26 (Ren *et al.*, 2023). Oleh karena itu, penelitian terkait *molecular docking* atau penambatan molekuler pada senyawa ekstrak rumput laut *Glacilaria changii* akan dilakukan menggunakan protein target yaitu VP26. Penelitian ini sangat perlu dilakukan dalam rangka memperoleh informasi mengenai potensi *Glacilaria changii* sebagai antivirus *White spot syndrome virus* pada udang vanamei.

1.2 Tujuan dan Manfaat

Tujuan dari penelitian ini yaitu menganalisis senyawa dari ekstrak etanol rumput laut *Glacilaria changii* yang memiliki kemampuan dalam menghambat *White spot syndrome virus* melalui uji *molecular docking*.

Manfaat dari penelitian ini yaitu sebagai referensi untuk penelitian berikutnya yang dapat berupa evaluasi *in vitro* dan *in vivo* penggunaan rumput laut *Glacilaria changii* sebagai antivirus *White spot syndrome virus* pada udang vanamei.

BAB II. METODE PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan selama 3 bulan yaitu pada bulan Agustus-oktober pada tahun 2024 dilakukan di Laboratorium Biologi Kelautan (FIKP) Universitas Hasanuddin dan untuk metode ekstraksi, untuk metode GC-MS di Laboratorium Teknik Kimia Politeknik Negeri Ujung Pandang.

2.2 Tahapan Persiapan

2.2.1 Alat dan Bahan

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

Tabel 1. Alat yang digunakan selama penelitian.

Nama Alat	Fungsi
<i>Rotary Evaporator</i>	Alat untuk ekstraksi
GCMS QP-2010 Shimadzu Ultra	Alat Uji GC-MS
PC AOC	Untuk uji <i>in silico</i>
Microsoft Office 2011	Aplikasi pendukung
<i>Autodock 4.0</i>	Aplikasi docking
<i>Autodock Tools</i>	Aplikasi docking
UCSF Chimera (3D Viewer)	Aplikasi preparasi ligan dan protein
BIOVIA Discovery Studio Visualizer	Aplikasi visualisasi hasil docking

Tabel 2. Bahan yang digunakan selama penelitian.

Nama Bahan	Fungsi
Rumput Laut <i>Glacilaria changii</i>	Bahan ekstraksi
Ethanol 96%	Pelarut ekstrak
Ekstrak <i>Glacilaria changii</i>	Bahan uji GC-MS
VP26	Bahan uji <i>in silico</i>

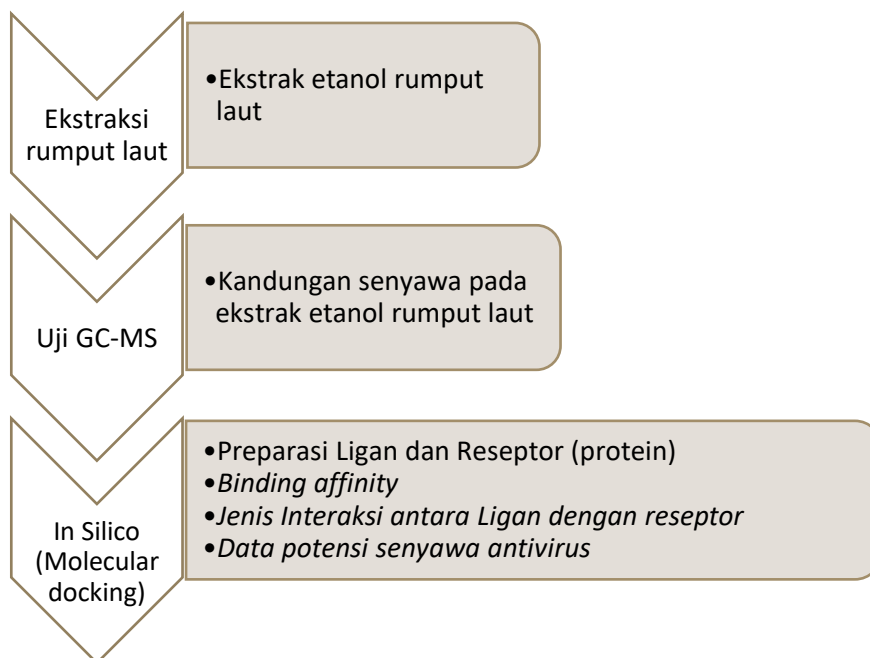
2.2.2 Pengambilan Sampel Rumput Laut dan Persiapan Ekstraksi

Sampel rumput laut yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari Petani rumput laut Maccinibaji Takalar, 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 sebanyak 6,2 kg sampel basah yang baru dipanen dilakukan pencuci sampel terlebih dahulu menggunakan air laut lanjutkan air tawar dan pencucian terakhir menggunakan aquades 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 3-4 hari hingga betul-betul kering.

2.3 Tahap Pelaksanaan penelitian

Gambar 1. Tahapan pelaksanaan



Tahapan pelaksanaan dari penelitian dapat dilihat pada Gambar 1 seperti berikut:

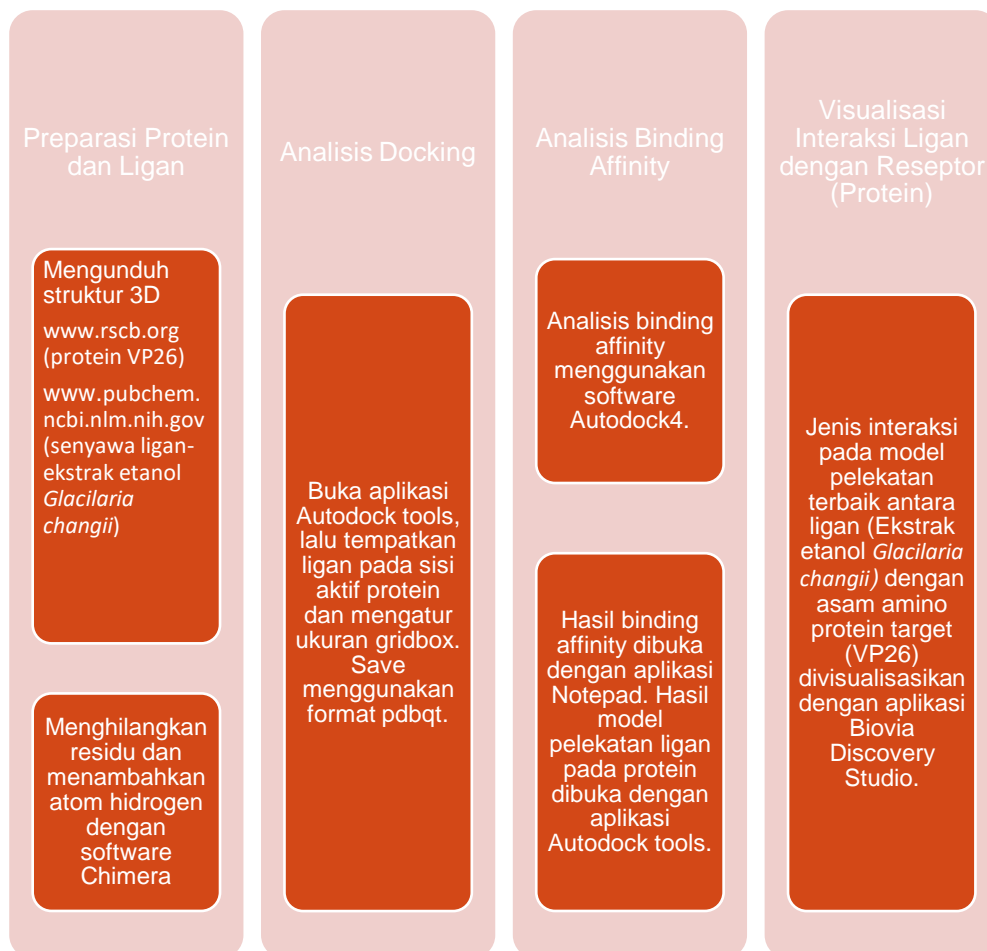
2.3.1 Ekstraksi Senyawa Aktif Rumput Laut

Metode ekstraksi yang digunakan yaitu metode maserasi. Sampel rumput laut dimaserasi menggunakan larutan Etanol 96% dengan perbandingan 1:6 selama 3-4 hari. Sampel kemudian disaring menggunakan kertas saring untuk mendapatkan filtrat. Remaserasi juga dilakukan pada sampel selama 2x24 jam, kemudian disaring menggunakan kertas saring untuk mendapatkan filtrat. Hasil dari filtrasi tersebut diekstrak menggunakan *Rotary Evaporator* hingga didapatkan ekstrak dari rumput laut.

2.3.2 Analisis Senyawa Aktif Rumput Laut dengan Metode Gas Chromatography-Mass Spectroscopy (GC-MS)

Hasil ekstrak rumput laut yang didapatkan selanjutnya akan dianalisis menggunakan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) QP 2010 Shimadzu Ultra* untuk mengetahui senyawa aktif yang terkandung dalam *Glacilaria changii*. 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 (Rumput Laut) dengan Reseptor (Protein VP26) pada *White Spot Syndrome Virus Secara In Silico*.

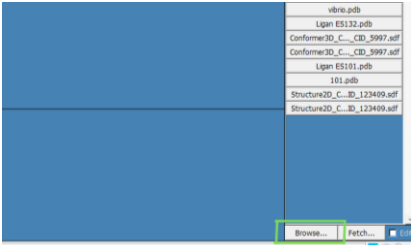
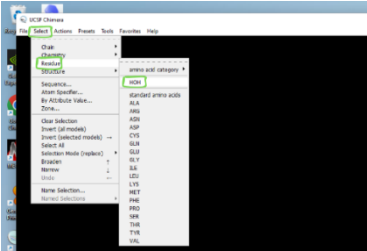
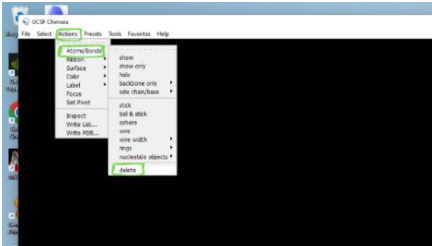
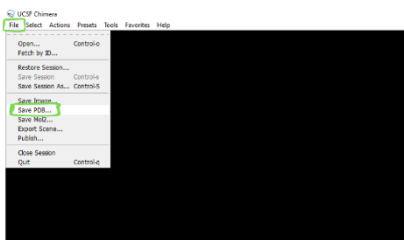


Gambar 2. Prosedur pelaksanaan Molecular Docking

a. Preparasi protein

Protein yang akan digunakan akan diunduh dari situs resmi protein data bank RSCB (www.rscb.org) dalam format PDB. Protein yang digunakan dalam penelitian ini adalah VP26 (PDB ID: 2EDM) untuk *White spot syndrome virus* (WSSV). Setelah protein diunduh dalam format PDB. Protein yang sudah diunduh kemudian divisualisasikan menggunakan Chimera dan dihilangkan residunya. Protein yang sudah tidak memiliki residu ditambahkan atom hidrogen dan disimpan dengan format “.pdb”. Hal ini berfungsi untuk mempersiapkan kebutuhan *docking* yang meliputi protein target. Prosedur preparasi protein dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Prosedur preparasi protein

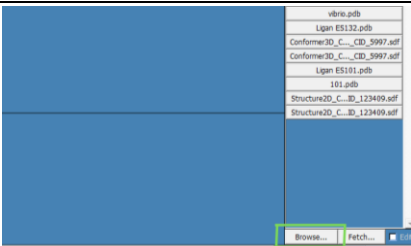
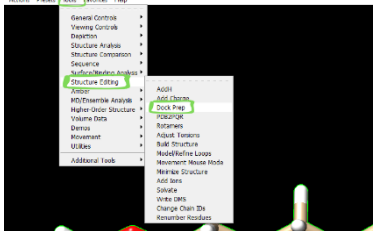
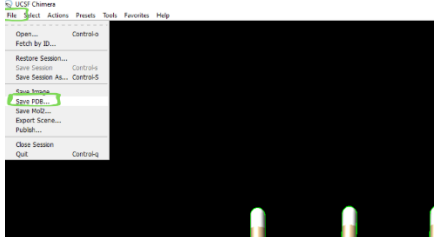
No	Gambar	Keterangan
1.		Buka aplikasi chimera kemudian klik icon bertuliskan browse dan pilih file protein yang akan dipreparasi.
2.		Klik icon select -> residue -> dan pilih residue nya
3.		Klik icon actions -> atom/bonds -> delete
4.		Klik icon tools -> structure editings -> dock prep
5.		Save protein dengan klik icon file -> save pdb, kemudian save file dengan format "nama protein.pdb"

b. Preparasi Ligan

Ligan yang digunakan dalam uji ini adalah senyawa aktif alami dari ekstrak rumput laut *Glacilaria changii* yang didapatkan hasil dari GCMS, kemudian mengumpulkan struktur 3D senyawa alami dari ekstrak rumput laut melalui situs resmi

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. dengan mengunduh file berformat SDF dan mengunduh inhibitor kontrol seperti *chloroquine* untuk virus *White spot syndrome virus* (WSSV). Setelah mengunduh senyawa aktif yang dibutuhkan dan inhibitor kontrol, masing-masing akan divisualisasi menggunakan UCSF Chimera lalu menambahkan atom 5 hidrogen dan disimpan dalam format “pdb”. Hal ini berfungsi untuk mempersiapkan kebutuhan *docking* yang meliputi ligan dan protein target. Prosedur preparasi ligan dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Prosedur preparasi ligan

No	Gambar	Keterangan
1.		Buka aplikasi chimera kemudian klik icon bertuliskan browse dan pilih file ligan yang akan dipreparasi.
2.		Klik icon tools -> structure editing -> dan dock prep
3.		Simpan ligan dengan klik icon file -> save pdb, dan simpan dengan format “ nama.ligan.pdb”

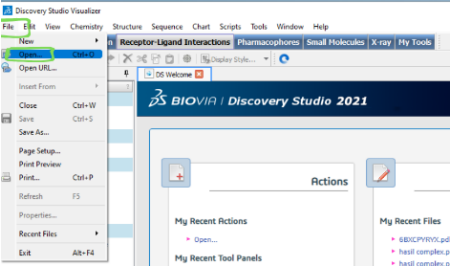
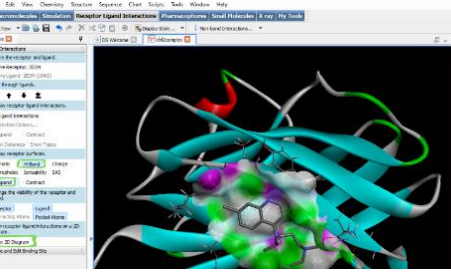
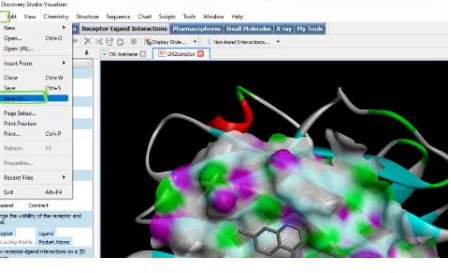
c. Proses *Docking* Penambatan Molekul dengan Autodocktools dan Autodock4

Proses *docking* dilakukan dengan menggunakan *software* Autodock tools dan Autodock4. Preparasi protein *White spot syndrome virus* (WSSV) (VP26), serta inhibitor kontrol *Chloroquine* di masukkan dalam *software* Autodock tools dan mengatur *grid box* dengan ukuran 120x120x120 untuk menemukan model pelekatan dengan asam amino protein yang paling stabil. Setelah ditemukan model pelekatan yang stabil preparasi ligan dimasukkan dan disesuaikan dengan model pelekatan dari inhibitor kontrol. *Grid box* diatur menjadi lebih kecil dengan ukuran 40x40x40. Ligan dan protein target VP26 disimpan dengan format “.pdbqt” menyesuaikan dengan format yang dibutuhkan untuk analisis *binding affinity*. Kemudian *software* Autodock4 dijalankan untuk menganalisis nilai binding affinity pada setiap bentuk struktur molekul atau bentuk pelekatan yang terjadi. Prosedur *molecular docking* dapat dilihat pada Lampiran 1.

d. Visualisasi Interaksi Ligan Senyawa dengan Reseptor

Visualisasi analisis *docking* dilakukan menggunakan perangkat Biovia Discovery Studi untuk menggambar residu-residu asam amino dan melihat letak dan model perlekatan pada target protein. Prosedur visualisasi dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Prosedur visualisasi hasil *molecular docking*

No	Gambar	Keterangan
1.		Buka aplikasi biovia discovery studio kemudian klik icon files pilih open dan pilih file pada folder yang telah di save sebelumnya dengan format “.pdb”.
2.		Klik H-bond untuk menampilkan bentuk struktur pada protein dan expand untuk memperluas nya. Klik show 2D diagram untuk menampilkan gambar dalam bentuk 2D
3.		Klik icon file lalu pilih save as dan simpan pada folder dalam bentuk foto.

2.4 Analisis Data

Molecular docking dan analisis data *docking* dilakukan untuk mengetahui nilai *binding affinity*. Semakin rendah *binding affinity* yang didapat maka menunjukkan kuatnya interaksi antara senyawa pada rumput laut *Glacilaria changii* yang berperan sebagai ligan dengan reseptor protein VP26 pada *white spot syndrome virus* (WSSV).