

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Tuberkulosis (TBC)**

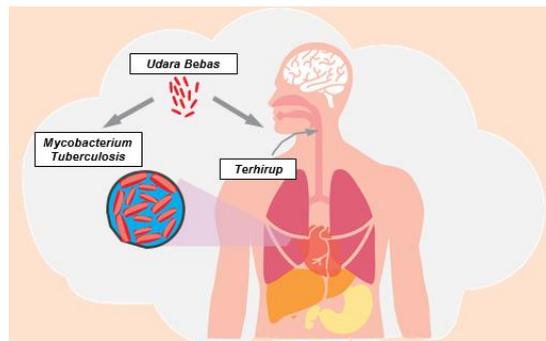
Tuberkulosis (TBC) merupakan penyakit nomor satu menular paling berbahaya di dunia yang dipicu oleh adanya bakteri *Mycobacterium tuberculosis* (Vidyastari, dkk., 2019). Berdasarkan data WHO, pada tahun 2021 terdapat 10,6 juta kasus TBC di seluruh dunia dengan 1,38 juta kematian yang disebabkan oleh penyakit ini. Selain itu, terdapat sebanyak 187.000 kematian terkait TBC terjadi pada individu yang juga terinfeksi *Human Immunodeficiency Virus* (HIV).

Indonesia menduduki peringkat kedua di dunia dalam jumlah kasus tuberkulosis (TBC) tertinggi, dengan persentase sebesar 9,2%. Peringkat pertama dipegang oleh India dengan persentase 28%, dan peringkat ketiga ditempati oleh China dengan persentase 7,4% (WHO, 2022). Berdasarkan data dari Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, pada tahun 2022 terdapat 969.000 pengidap TBC dengan 144.000 kasus kematian dan 28.000 pengidap TBC yang mengalami resisten obat. Di Indonesia, prevalensi TBC terbagi menjadi tiga wilayah yaitu Sumatera sebesar 33%, Jawa dan Bali sebesar 23%, dan Indonesia bagian timur sebesar 44% (Sugiarti, 2018).

Tuberkulosis (TBC) dapat tertular pada semua kelompok usia, tetapi paling banyak diderita oleh usia produktif (15-49 tahun). Pada tahun 2021, tercatat bahwa jumlah kasus baru TBC di Indonesia pada laki-laki sekitar 1,4 kali lebih besar dibandingkan pada perempuan. Persentase kasus baru TBC pada laki-laki (usia  $\geq$  15 tahun) mencapai 53%, sementara pada perempuan (usia  $\geq$  15 tahun) mencapai 38%. Bahkan berdasarkan Survei Prevalensi Tuberkulosis, prevalensi pada laki-laki 3 kali lebih tinggi dibandingkan pada perempuan. Begitu juga yang terjadi di negara-negara lain. (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2018). Hal ini dapat terjadi karena laki-laki lebih sering kontak dengan faktor risiko serta sering mengonsumsi alkohol, merokok dan begadang sehingga menyebabkan sistem imun tubuh tidak baik (WHO, 2018). TBC juga sangat mudah untuk menginfeksi

manusia yang memiliki gizi buruk dengan daya tahan tubuh rendah terutama pada pengidap HIV. Pada tahun 2022 terdapat 56% jumlah kasus penderita TBC yang mengetahui status HIV (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2022)

## 2.2 Mekanisme penularan Tuberkulosis



**Gambar 2.1** Penularan TBC (Hermina Hospital, 2023)

Penularan penyakit Tuberkulosis (TBC) disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis* yang ditularkan ketika seorang penderita TBC berbicara, bersin ataupun batuk, dan secara tidak langsung menyebarkan kuman ke udara dalam bentuk percikan dahak (*droplet nuclei*) yang mengandung *Mt.b* pada orang-orang disekeliling penderita TBC dengan cara menghisap percikan dahak tersebut. Ketikan perderita TBC sekali batuk dapat menghasilkan sekitar 3000 percikan dahak yang mengandung sebanyak 0-3500 *Mt.b* sedangkan ketika sekali bersin dapat mengeluarkan 4500-1.000.000 *Mt.b* (Erni dan Priyastiwi, 2021). Bakteri yang terhirup akan masuk ke dalam paru-paru dan berkumpul hingga berkembang menjadi banyak terutama pada orang yang memiliki daya tahan tubuh rendah dan fisik stres. Kemudian bakteri tersebut menyebar melalui pembuluh darah atau kelenjar getah bening sehingga menyebabkan organ tubuh lain seperti otak, ginjal, saluran pencernaan, tulang, kelenjar getah bening dan lainnya juga ikut terinfeksi, meskipun yang paling banyak adalah organ paru-paru (Kaihena, 2013).

### 2.3 Mekanisme Obat Anti Tuberkulosis

Saat ini penyakit TBC diobati dengan memberikan Obat Anti Tuberkulosis (OAT) berupa antibiotik yang memiliki tiga mekanisme, yaitu aktivitas membunuh bakteri, aktivitas sterilisasi, dan mencegah resistensi. Pengobatan TBC terbagi menjadi dua tahap, yaitu tahap intensif dan tahap lanjutan. Selama tahap intensif pasien TBC aktif diberikan obat Isoniazid (H), Rifampisin (R), Pirazinamid (Z) dan Etambutol (E). Kemudian tahap lanjutan diberi obat isoniazid dan rifampisin untuk memusnahkan sisa bakteri yang ada (Rizwani, 2017). Tujuan kombinasi tahap tersebut yaitu untuk meminimalkan perkembangan resistensi terhadap streptomisin setelah obat tersebut diperkenalkan pertama kali.

Berbagai obat dalam terapi standar memiliki target populasi *M. tuberculosis* yang berbeda-beda. Isoniazid bekerja dengan menghambat sintesis dinding sel bakteri TBC. Obat ini mengganggu pembentukan asam *mycolic* yang penting dalam pembentukan dinding sel bakteri, sehingga menyebabkan kerusakan dan kematian bakteri TBC. Rifampisin adalah obat yang sangat efektif dalam pengobatan TBC. Obat ini bekerja dengan menghambat sintesis RNA bakteri TBC. Rifampisin berikatan dengan enzim RNA polimerase bakteri dan menghambat aktivitas enzim ini, mengganggu produksi RNA dan protein yang diperlukan untuk pertumbuhan dan reproduksi bakteri. Pyrazinamide bekerja dengan mengubah kondisi lingkungan asam di dalam sel bakteri TBC. Perubahan ini menghambat pertumbuhan bakteri dan membuatnya lebih rentan terhadap pengaruh obat lain. Ethambutol menghambat sintesis dinding sel bakteri TBC dengan menghambat enzim arabinosil transferase. Dengan mengganggu pembentukan polisakarida yang penting dalam dinding sel bakteri, Ethambutol menghambat pertumbuhan dan reproduksi bakteri TBC (Chakraborty & Rhee, 2015).

### 2.4 Tanaman Lamun

Laut tropis mempunyai tiga ekosistem pesisir yang tidak dapat dipisahkan baik secara fungsi maupun fisik, yaitu ekosistem *mangrove*, ekosistem lamun dan ekosistem terumbu karang. Ekosistem lamun adalah salah satu penyusun pantai yang mempunyai peran penting dalam struktur ekologi daerah pesisir, yaitu sebagai

produsen primer (penyedia makanan) di laut dangkal, habitat hidup biota (hewan dan tumbuhan), penahan dan pengikat sedimen, dan pendaur zat hara (Azkab, 1999). Lamun ialah tanaman berbiji tertutup (*angiospermae*) dan berbunga yang memiliki *rhizome* (rimpang), daun, dan akar sejati yang dapat beradaptasi pada lingkungan dengan kadar garam atau salinitas yang tinggi (Kawaroe et al. 2016). Tanaman lamun umumnya dapat tumbuh dengan subur pada wilayah pasang surut terbuka dan perairan pantai yang mempunyai dasar perairan lumpur berpasir, kerikil dan patahan karang mati (Wagey dan Sake, 2013).

Lamun sangat beragam, terdapat kurang lebih 60 jenis lamun yang dikenal di dunia. Dari kurang lebih 60 jenis lamun yang dikenal di dunia, 13 jenis diantaranya tersebar di perairan Indonesia (Hutomo dan Nontji 2014). Hasil penelitian yang dilakukan oleh Satrya, dkk (2012) menunjukkan bahwa terdapat lima jenis lamun pada perairan Banten yang dapat tumbuh dan berkembang biak dengan baik, yaitu *Cymodoceea serrulata*, *Cymodocea rotundata*, *Enhalus acoroides*, *Halophila ovalis*, dan *Thalassia hemprichii*. Kelima jenis lamun tersebut digolongkan dalam empat genus yang berbeda dan dua famili yang juga berbeda. Genus *Cymodocea* termasuk ke dalam Famili *Cymodocaceae*, sedangkan genus *Enhalus*, *Thalassia*, dan *Halophila* termasuk ke dalam Famili *Hydrocharitaceae*. Dari kelima jenis lamun tersebut, *Enhalus acoroides* paling mendominasi pada perairan Banten, hal tersebut terjadi karena *Enhalus acoroides* mempunyai struktur yang khas dengan ukuran yang cukup besar jika dibandingkan dengan lamun jenis lainnya.

#### **2.4.1 *Enhalus acoroides***

*Enhalus acoroides* adalah jenis lamun yang dominan di perairan Indonesia. Menurut Den Hartog dan Kuo (2006) dalam Sarinawaty, dkk (2020) *Enhalus acoroides* tersebar luas di sepanjang pesisir Samudera Hindia dan bagian tropis dari wilayah Pasifik bagian barat. Tanaman *Enhalus acoroides* dalam sistematika (taksonomi) tumbuhan diklasifikasikan sebagai berikut:

*Kingdom* : *Plantae*

*Filum* : *Tracheophyta*

*Kelas* : Magnoliopsida  
*Ordo* : Alismatales  
*Famili* : Hydrocharitaceae  
*Genus* : *Enhalus*  
*Spesies* : *Enhalus acoroides*



**Gambar 2.2** *Enhalus acoroides*

*Enhalus acoroides* mempunyai akar dengan bentuk seperti tali, jumlahnya banyak dan tidak ada cabang. Memiliki panjang berkisar antara 18,50 – 157,65 mm dan berdiameter antara 3 – 5 mm. Daunnya berbentuk seperti pita dengan tepi yang rata dan ujung yang tumpul, memiliki panjang antara 65 – 160 cm dan lebar antara 1,2 – 2,0 cm. *Enhalus acoroides* tumbuh berpencair dalam kelompok-kelompok kecil yang terdiri atas beberapa individu atau kumpulan individu yang rapat. *Enhalus acoroides* merupakan jenis lamun yang mempunyai morfologi atau ukuran paling besar, helaian daunnya dapat mencapai ukuran lebih dari 1 meter. Jenis ini tumbuh di perairan dangkal sampai kedalaman 4 meter, pada dasar pasir, pasir lumpur atau lumpur (KKP, 2013).

#### **2.4.2 Kandungan *Enhalus acoroides***

Secara ekologis, lamun berbeda dengan tumbuhan darat termasuk senyawa yang dikandungnya. Lingkungan yang berbeda menyebabkan adaptasi biokimia

oleh lamun untuk menghasilkan suatu senyawa yang disebut senyawa bioaktif atau metabolit sekunder (Owolabi, dkk., 2018), seperti tanin, saponin, triterpenoid, flavonoid, dan steroid (Permana, dkk., 2020). Senyawa-senyawa tersebut memiliki aktivitas antimikroba, antioksidan, antiinflamasi, dan antibakteri (Purnama dan Brahmana, 2018; S, Jumaetri, 2020; Yusuf, dkk., 2021). Banyak metabolit sekunder dari lamun yang telah diketahui aktif secara biologis dan merupakan biomedis penting yang dapat digunakan sebagai obat (Tuapattinaya & Rumahlatu, 2019).

**Tabel 2.1** Hasil Identifikasi Senyawa Bioaktif Ekstrak *Enhalus acoroides*

Uji Fitokimia	Reaksi Positif	Pelarut		
		Etanol	Metanol	n-Heksan
Alkaloid	Endapan Merah atau Jingga	+	+	-
Flavonoid	Larutan Berwarna Kuning, Jingga, Merah, hingga Coklat Tua	+	+	+
Saponin	Membentuk Buih yang Stabil	+	+	-
Steroid	Larutan Bewarna Hijau Kebiruan	+	+	+
Sumber		Mahmiah, dkk (2023)	Nurafni dan Rinto (2018)	

**Tabel 2.2** Jurnal Kandungan *Enhalus acoroides*

No	Judul	Hasil Penelitian	Referensi
1.	Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Lamun ( <i>Enhalus acoroides</i> ) terhadap	Pemberian ekstrak daun lamun ( <i>Enhalus acoroides</i> ) menunjukkan efek antiinflamasi terhadap penurunan volume udem mencit, dengan konsentrasi terbaik 125	Yusuf, dkk. (2021)

	Mencit ( <i>Mus Musculus</i> ) Jantan yang Diinduksi Karagen	mg/kg BB, dimana pada hari pertama yaitu 31,72%, pada hari kedua yaitu 90,29%, dan pada hari ketiga sampai hari ketujuh mengalami persen penurunan rata-rata volume udem sampai batas normal yaitu 100%.	
2.	<i>Phytochemical Analysis and in Vitro Antibacterial Activities of Seagrass Enhalus acoroides Against Staphylococcus aureus</i>	<i>Enhalus acoroides</i> yang diekstrak dengan etanol mengandung beberapa senyawa bioaktif, antara lain: alkaloid, flavonoid, tanin, steroid, dan saponin.  Potensi antibakteri ekstrak <i>Enhalus acoroides</i> dinilai dalam hal zona hambat pertumbuhan bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dengan menggunakan metode difusi cakram. Hasilnya menunjukkan bahwa ekstrak <i>Enhalus acoroides</i> dengan konsentrasi 1600 ppm membentuk zona hambat pertumbuhan bakteri sebesar 11,60 ± 1,51 mm (bagian daun) dan 9,73 ± 0,42 mm (bagian akar). Nilai tersebut mendekati zona hambat amoksilin sebagai kontrol positif yaitu sebesar 13,1 mm - 14,3 mm.	Setyoningrum, dkk (2020)
3.	<i>Analysis of Flavonoid Levels of</i>	Senyawa flavonoid ditemukan pada sampel daun <i>Enhalus acoroides</i> yang diambil dari tiga lokasi	Tuapattinaya dan

	<i>Enhalus acoroides</i> <i>in Different Coastal Waters in Ambon Island, Indonesia</i>	berbeda, dengan rata-rata kandungan flavonoid dari tiga sampel tersebut yaitu sebesar 0,0192%; 0,1475%; dan 3,5697%	Rumahlatu, (2019)
4.	Bioaktivitas Antibakteri Lamun <i>Thalassia hemprichii</i> dan <i>Enhalus acoroides</i>	Ekstrak <i>Enhalus acoroides</i> dengan pelarut etil asetat terhadap <i>Escherichia coli</i> dan <i>Stapillococcus aureus</i> memiliki MIC sebesar 31,25 µg/mL. Ekstrak <i>Enhalus acoroides</i> dengan pelarut n-heksana terhadap <i>Stapillococcus aureus</i> memiliki nilai MIC sebesar 15,625 µg/mL.	Purnama dan Brahmana (2018)
5.	Kandungan Fenol, Komponen Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Lamun <i>Enhalus acoroides</i>	Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode serapan radikal DPPH, menghasilkan ekstrak metanol memiliki aktivitas antioksidan sedang dengan nilai IC <sub>50</sub> sebesar 115,79 ppm, ekstrak etil asetat memiliki aktivitas antioksidan lemah dengan nilai IC <sub>50</sub> sebesar 153,39 ppm dan ekstrak n-heksana memiliki aktivitas antioksidan sangat lemah dengan nilai IC <sub>50</sub> 937,31 ppm.	Rumiantin (2011)
6.	<i>In Vitro Antioxidant Activities of Ethanol Extract</i>	Total aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol <i>Enhalus acoroides</i> yaitu sebesar 11,77 mg <i>asorbic acid</i> pada bagian daun dan akar, 11,532	Kannan (2010)

	<i>from Enhalus acoroides (L.F.) Royle</i>	mg <i>ascorbic acid</i> pada bagian rimpang	
--	--	--	--

## 2.5 Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan zat aktif dari suatu padatan ataupun cairan dengan menggunakan bantuan pelarut berupa air atau pelarut organik. Terdapat berbagai macam metode ekstraksi, salah satunya yaitu metode maserasi. Maserasi adalah salah satu metode ekstraksi yang paling umum digunakan untuk mengambil senyawa aktif dari bahan alami seperti tumbuhan. Maserasi dilakukan dengan cara merendam bahan alami dengan pelarut yang sesuai dengan senyawa aktif yang akan diambil dengan pemanasan rendah atau tanpa adanya proses pemanasan (Suharto, dkk., 2016). Pada saat proses perendaman bahan akan terjadi pemecahan dinding sel dan membran sel yang diakibatkan oleh perbedaan tekanan antara luar sel dengan bagian dalam sel, sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan pecah dan terlarut pada pelarut organik yang digunakan (Novitasari dan Putri, 2016). Setelah proses perendaman selesai, bahan alami yang telah direndam kemudian diperas untuk mengeluarkan ekstrak yang terkandung di dalamnya. Ekstrak yang dihasilkan kemudian diuapkan untuk menghilangkan pelarutnya dan meninggalkan senyawa aktif yang diinginkan.

Metode ekstraksi maserasi memiliki beberapa keuntungan, seperti prosedur dan peralatan yang digunakan sederhana dan tidak memerlukan pemanasan sehingga bahan alam tidak menjadi terurai dan dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil. Selain itu, metode ini relatif murah dan mudah dilakukan, serta dapat digunakan pada senyawa yang tidak tahan panas. Namun, kekurangan dari metode ini adalah waktu yang dibutuhkan cukup lama, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan beberapa senyawa mungkin sulit diekstraksi pada suhu kamar (Mukhriani, 2014).

## 2.6 Pelarut

Pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi maserasi harus sesuai agar dapat memisahkan senyawa yang diinginkan tanpa melarutkan zat lainnya yang tidak diinginkan. Terdapat dua syarat penggunaan pelarut yaitu pelarut yang digunakan merupakan pelarut terbaik untuk bahan yang akan diekstraksi dan pelarut harus dapat terpisah dengan cepat. Pelarut yang biasa digunakan adalah air, eter, etanol atau campuran etanol dan air (Kurniawati, 2019).

Pelarut atau larutan pengestraksi yang digunakan disesuaikan dengan kepolaran senyawa-senyawa yang diinginkan. Pelarut polar akan cenderung lebih melarutkan solut yang polar dan pelarut non polar akan melarutkan solut yang non polar atau disebut dengan “*like dissolves like*”. Pemilihan jenis pelarut harus mempertimbangkan banyak faktor antara lain harganya murah dan mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, tidak mempengaruhi zat berkhasiat (Saifudin, 2014). Selain itu, juga harus memperhatikan tingkat toksisitas, ketersediaan, rendahnya suhu kritis, dan tekanan kritis untuk meminimalkan biaya operasi serta reaktivitas. (Kurniawati, 2019).

**Tabel 2.3** Jurnal Penggunaan Pelarut pada Ekstraksi *Enhalus acoroides*

No	Judul	Hasil Penelitian	Referensi
1.	<i>Seagrass of Enhalus acoroides as a Traditional Body Scrubs in Preventing Malarial Bites by Pahawang Island Community in Indonesia</i>	Rendemen rata-rata pelarut etanol yaitu 5,82%, lebih tinggi dibandingkan dengan menggunakan pelarut heksana yaitu 0,47%. Hal ini menunjukkan bahwa <i>Enhalus acoroides</i> lebih banyak mengandung senyawa aktif yang bersifat polar dibandingkan non polar.	Noor, dkk (2022)
2.	Identifikasi Senyawa Bioaktif	Pelarut terbaik yang mampu mengekstraksikan kandungan	Permana, dkk (2020)

	dan Potensi Aktivitas Antioksidan Lamun <i>Enhalus acoroides</i> (Linn. F)	senyawa bioaktif secara maksimal pada sampel daun lamun <i>Enhalus acoroides</i> adalah metanol dengan rendemen 20,1%. Sementara untuk pelarut etil asetat dan n-heksana kurang dari 1%.	
3.	<i>Phytochemical Compounds of Enhalus acoroides from Wanci Island (Wakatobi) and Talango Island (Madura) Indonesia</i>	Rendemen yang dihasilkan <i>Enhalus acoroides</i> melalui ekstraksi dengan pelarut metanol, yaitu sebesar 1,125% dan 1,1725%; etil asetat yaitu sebesar 0,25% dan 0,125%; dan kloroform yaitu sebesar 0,55% dan 0,8%. Rendemen yang dihasilkan <i>Enhalus acoroides</i> melalui ekstraksi dengan pelarut metanol lebih tinggi, jika dibandingkan dengan pelarut etil asetat dan kloroform.	Dewi, dkk (2018)
4.	Identifikasi Senyawa Bioaktif Jenis-Jenis Lamun Di Perairan Pulau Morotai	Hasil ekstraksi menunjukkan bahwa ekstraksi dengan pelarut metanol menghasilkan rendemen yang lebih banyak yaitu sebanyak 9,55% dibandingkan n-heksan yang hanya 0,35%.	Nurafni dan Rinto (2018)
5.	Kandungan Fenol, Komponen Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Lamun <i>Enhalus acoroides</i>	Rendemen ekstrak kasar tertinggi dihasilkan oleh ekstrak metanol sebesar 6,10%, diikuti ekstrak etil asetat sebesar 0,41% dan ekstrak n-heksana sebesar 0,09%.	Rumiantin (2011)

## 2.7 Uji Hayati Senyawa Metabolit Sekunder *Enhalus acoroides*

### 2.7.1 Uji Toksisitas dengan metode BSLT

*Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) adalah suatu metode untuk menguji tingkat toksisitas suatu senyawa dalam ekstrak tanaman dan merupakan *bioassay* yang pertama untuk penelitian bahan alam. *Bioassay* adalah suatu pengujian dengan memanfaatkan organisme yang masih hidup untuk mengetahui efektivitas suatu bahan hidup ataupun bahan organik dan anorganik. Metode BSLT menggunakan larva udang *Artemia salina Leach* sebagai hewan yang diuji cobakan dan efek toksik dari suatu senyawa yang diuji ditentukan dalam waktu singkat yaitu selama 24 jam setelah pemberian dosis uji (Meyer, et al. 1982).

Pengujian menggunakan metode BSLT didasari oleh kemampuan senyawa untuk mematikan larva udang *Artemia salina Leach*, dengan menentukan nilai  $LC_{50}$  (*Letal Concentration*) dari aktivitas komponen aktif tanaman terhadap larva udang *Artemia salina Leach*. Tingkat toksisitas suatu bahan berdasarkan nilai  $LC_{50}$  dapat dilihat pada tabel berikut 2.4.

**Tabel 2.4** Toksisitas menurut kategori  $LC_{50}$

Kategori	$LC_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )
Sangat toksik	<30
Toksik	30-1000
Tidak toksik	>1000

Sumber: Meyer dkk. (1982)

**Tabel 2.5** Jurnal Tingkat Toksisitas *Enhalus acoroides*

No	Judul	Hasil Penelitian	Referensi
1.	<i>In Vitro Citotoxicity Assays of Seagrass (Enhalus acoroides) Methanol Extract from Soropia Coastal</i>	Hasil uji toksisitas menunjukkan bahwa sampel dengan konsentrasi 10 ppm, 100 ppm dan 1000 ppm pada ekstrak daun menghasilkan nilai $LC_{50}$ sebesar 404,88 ppm, sedangkan ekstrak batang dan akar	Orno dan Rantesalu (2020)

	<i>Waters in Southeast Sulawesi Province</i>	memiliki nilai LC <sub>50</sub> > 1000 ppm. Pengujian dilanjutkan dengan penambahan konsentrasi ekstrak daun yang terdiri dari 250 ppm, 500 ppm, dan 1000 ppm. Uji toksisitas menunjukkan nilai LC <sub>50</sub> sebesar 0,7309 yang berarti sangat beracun.	
2.	Komponen Fitokimia dan Toksisitas Senyawa Bioaktif dari Lamun <i>Enhalus acoroides</i> dan <i>Thalassia hemprichii</i> dari Pulau Pramuka, DKI Jakarta	Uji toksisitas dengan metode BSLT yang dilakukan menunjukkan ekstrak metanol <i>Enhalus acoroides</i> bersifat sangat toksik dengan nilai LC <sub>50</sub> 5,74 ppm, sedangkan ekstrak n-heksana <i>Enhalus acoroides</i> bersifat tidak toksik ditunjukkan dengan nilai LC <sub>50</sub> 1309,42 ppm.	Dewi, dkk (2012)

### 2.7.2 Uji Kualitatif Flavonoid

Uji kualitatif flavonoid dengan menggunakan metode fitokimia dan spektrofotometri UV-Vis adalah cara yang umum digunakan untuk mengidentifikasi keberadaan flavonoid dalam suatu sampel.

#### a. Uji fitokimia

Uji fitokimia melibatkan penggunaan berbagai pereaksi kimia yang dapat bereaksi dengan flavonoid, menghasilkan perubahan warna atau endapan yang khas. Berikut merupakan hasil uji fitokimia flavonoid pada sampel *Enhalus acoroides*.

**Tabel 2.6** Jurnal Uji Fitokimia

No	Metode	Hasil	Referensi
1.	Sebanyak 3 mL ekstrak daun dan batang lamun ditambahkan dengan 100 ml air panas, kemudian	Positif: larutan membentuk lapisan amil alkohol	Taminggu & Tahril (2022)

	dididihkan selama 5 menit, lalu disaring. Setelah itu filtrat sebanyak 5 ml ditambahkan dengan 0,05 g Mg dan HCl pekat lalu dikocok dengan kuat.	dengan warna merah, kuning, atau jingga	
2.	Sebanyak 0,05 g ekstrak kasar daun dan akar lamun ditambahkan dengan bubuk Magnesium (Mg), kemudian ditambahkan larutan amil alkohol sebanyak 0,4 ml, selanjutnya ditambahkan alkohol sebanyak 4 ml dan dihomogenkan.	Positif: larutan membentuk lapisan amil alkohol dengan warna merah, kuning, atau jingga.	Gustavina, dkk (2017)
3.	Sejumlah sampel ditambah 0,1 mg amoniak, 0,4 mL natrium hidroksida dan 4 mL alkohol, kemudian campuran dikocok	Positif: terbentuknya warna merah, kuning atau jingga pada lapisan natrium hidroksida	Rahakbauw & Watuguly (2016)

### b. Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis merupakan metode analisis yang menggunakan panjang gelombang UV dan Visible sebagai area serapan untuk mendeteksi senyawa. Pada umumnya senyawa yang dapat diidentifikasi menggunakan Spektrofotometri UV-Vis adalah senyawa yang memiliki gugus kromofor dan gugus auksokrom. Pengujian dengan Spektrofotometri UV-Vis tergolong cepat jika dibandingkan dengan metode lain (Sahumena, dkk., 2020).

Spektrofotometri UV-Vis berdasar pada hukum Lambert-Beer (Sembiring, dkk., 2019). Prinsip kerja dari alat ini adalah sumber cahaya yang datang merupakan sinar polikromatis yang dilewatkan melalui monokromator, sehingga menjadi sinar monokromatis yang kemudian diteruskan melalui sel yang berisi sampel. Sebagian sinar akan diserap oleh

sel dan sebagian lagi akan diteruskan ke fotosel yang berfungsi untuk mengubah energi cahaya menjadi energi listrik. Energi listrik akan memberikan sinyal pada detektor yang kemudian akan diubah menjadi nilai serapan (absorbansi) dari zat yang dianalisis (Miarti & Legasari, 2022).

### 2.7.3 Uji Identifikasi Senyawa Menggunakan GC-MS

*Gas Chromatography Mass Spectrometry* (GC-MS) ialah metode kromatografi gas yang digunakan bersamaan dengan spektrometri massa. Kromatografi gas digunakan untuk mencari senyawa yang mudah diuapkan atau senyawa yang menguap pada kondisi vakum tinggi dan tekanan rendah jika dipanaskan. Sedangkan spektrometri massa digunakan untuk mengidentifikasi dan menentukan bobot molekul, rumus molekul, dan menghasilkan molekul bermuatan dari komponen sampel (Darmapatni et al., 2016).

Menurut Gandjar, I.G. dan Rohman, A., (2012) dalam Candraningrat, dkk., (2021), metode GC-MS merupakan metode dengan mekanisme pemisahan sampel yang dilakukan dengan metode kromatografi gas sedangkan analisis menggunakan MS (*Mass spectroscopy*). Metode GC-MS memiliki sensitivitas yang tinggi, sehingga dapat memisahkan senyawa yang saling bercampur dan mampu menganalisis berbagai senyawa bahkan dalam kadar atau konsentrasi yang rendah.

*Gas Chromatography Mass Spectrometry* (GC-MS) merupakan kombinasi antara metode analisis *Gas Chromatography* (GC) dan *Mass Spectrometry* (MS). Dalam hal ini *Gas Chromatography* (GC) hanya sebagai pemisah tanpa dilengkapi detektor seperti GC lainnya. Jadi dalam GC-MS yang berperan sebagai detektornya adalah *Mass Spectrometry* (MS). Prinsip kerja GC-MS yaitu sampel yang berupa cairan diinjeksikan ke dalam injector untuk diuapkan. Setelah berubah menjadi uap, sampel dibawa oleh gas pembawa menuju kolom untuk proses pemisahan. Setelah terpisah, masing-masing komponen akan melewati ruang pengion dan akan terjadi ionisasi. Fragmen ion yang dihasilkan akan diterima oleh detektor dan akan dihasilkan spektrum massa.

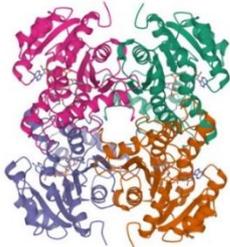
#### 2.7.4 Penambatan Molekul secara *in Silico*

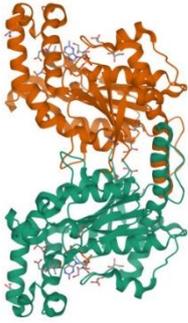
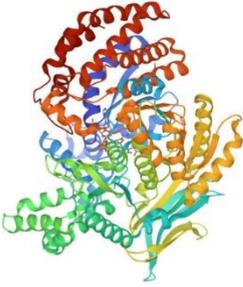
Menurut Pranowo (2019) dalam Pratama, dkk (2017), pemodelan molekul merupakan metode yang digunakan dalam penyelidikan struktur dan sifat molekul menggunakan kimia komputasi dan visualisasi grafis dalam menampilkan ilustrasi 3D pada sistem kimia. Metode komputasi yang digunakan dalam memprediksi pengikatan suatu molekul calon obat dengan sasaran proteinnya, memprediksi afinitas dan aktivitas dari suatu molekul calon obat serta melihat geometri 3D dari senyawa yang terikat pada sisi aktif protein yaitu *docking molecular* (Young et al., 2011; Mukesh & Rakesh, 2011 & Ferreira et al., 2015).

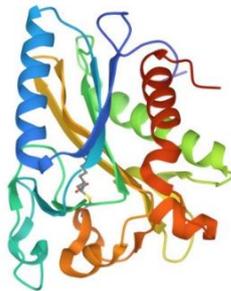
*Docking molecular* ialah suatu metode berbasis genetika yang dapat digunakan untuk mencari pola interaksi yang paling tepat antara dua molekul, yaitu reseptor dengan ligan. *Docking molecular* bertujuan untuk meniru interaksi suatu molekul ligan dengan protein yang menjadi sarannya pada uji *in-vitro*. *Docking molecular* menjadi dasar untuk penemuan obat secara simulasi komputasi. *Docking molecular* bertujuan untuk mencapai konfigurasi protein dan ligan yang optimal. *Docking molecular* membantu dalam mengkaji obat/ligan atau interaksi reseptor/protein dengan mengidentifikasi situs aktif yang tepat pada protein dan mendapatkan geometri terbaik dari kompleks ligan dengan reseptor (Setiawan & Irawan, 2017).

Penambatan atau *Docking* ialah proses ketika dua molekul dipadankan melalui penambatan dalam ruang tiga dimensi. Saat ini, pendekatan *docking molecular* sering kali dimanfaatkan dalam perancangan obat untuk membantu dalam memahami interaksi antara obat dengan reseptor. Dalam hal ini reseptor ialah sisi aktif dari kerja obat yang berperan terhadap efek farmakologi. Banyak laporan bahwa teknik komputasi dapat mendukung dan membantu desain senyawa untuk mendapatkan inhibitor yang lebih ampuh melalui mekanisme obat reseptor (Thomsen & Christensen (2006) dalam Pratoko (2012)).

**Tabel 2.7** Protein *Mycobacterium tuberculosis*

No	Reseptor	Gambar	Fungsi
1.	<p><i>Enoyl-Acyl Carrier Protein (ACP) Reductase (1BVR)</i></p>		<p>InhA adalah <i>Enoyl-Acyl Carrier Protein (ACP) Reductase</i> di dalam <i>Mycobacterium tuberculosis</i> yang merupakan target untuk pengembangan obat baru terhadap TBC. InhA adalah target pertama obat <i>isoniazid</i> untuk pengobatan infeksi tuberkulosis. Senyawa yang secara langsung bekerja pada InhA, tidak memerlukan aktivasi oleh mikobakteri katalase-peroksidase katG adalah kandidat yang menjanjikan untuk mengobati infeksi yang disebabkan oleh strain yang resisten terhadap <i>isoniazid</i> (Luckner, 2010). Selain itu InhA juga berperan dalam perkembangan parasit malaria. Dimana inhibisi pada enzim tersebut akan menyebabkan biosintesis lemak tipe II pada parasit akan terhenti (Fazri, 2011).</p>

2.	<i>Pantothenate kinase</i> (3AF3)		<p><i>Pantothenate kinase</i> (PanK) adalah enzim target yang berperan penting dalam sistem sintesis asam lemak (FASII) dan biosintetik koenzim A (CoA). <i>Pantothenate kinase</i> (PanK) akan mengkatalisis fosforilasi <i>pantothenate</i> yang bergantung pada ATP, yang merupakan langkah awal dalam biosintetik koenzim A (CoA) dari asam <i>pantothenate</i> (Puranik, dkk., 2018).</p>
3.	<i>Isocitrate dehydrogenase</i> (5KVU)		<p><i>Isocitrate dehydrogenase</i> (IDH) adalah enzim pembatas laju utama dalam siklus krebs yang memainkan peran penting dalam metabolisme energi. Mutasi IDH dapat menghasilkan asam 2-<i>hidroksiglutarat</i> (2-HG) tingkat tinggi sehingga menghambat diferensiasi sel induk glioma. Pada saat yang sama, mutasi IDH dapat meningkatkan regulasi faktor pertumbuhan endotel vaskular (VEGF) untuk mendorong pembentukan lingkungan mikro tumor dan dapat menginduksi faktor <i>hipoksia-inducible factor-1α</i> (HIF-1α) tingkat tinggi untuk</p>

			mendorong invasi glioma (Huang dkk, 2019).
4.	Lipoate Protein Ligase B (MtbLipB) (1W66)		Lipoate protein ligase B (LipB), juga dikenal sebagai <i>octanoyl-[acyl carrier protein]-</i> protein acyltransferase adalah enzim yang mengkatalisis transfer asam oktanoat endogen ke domain lipoil melalui ikatan thioester ke kofaktor <i>4'-phosphopantetheine</i> dari protein pembawa asil (ACP). Lipoate protein ligase B (LipB) dianggap sebagai target obat yang sangat menjanjikan pada <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , karena bakteri tersebut tidak memiliki enzim pengganti yang dapat mengambil alih peran LipB dalam sistem metabolismenya. (Billones dkk, 2013)