

Potensi Tanaman Endemik Sulawesi Tengah *Etlingera Tjiasmantoi* Sebagai Kandidat Obat Antituberkulosis Baru: Studi In Silico Dan In Vitro

Zahwa Azzahra ^{a, 1}, Nurul Izza Amalia ^{a, 2}, Zhafirah Tri Nursagita ^{b, 3}, Febriyadi ^{c, 4}, Shara Wardhani ^{a, 5}, Ihwan ^{a, 6}, Jamaluddin ^{a, 7*}

^a Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tadulako, Palu, Indonesia

^b Program Studi Statistika, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tadulako, Palu, Indonesia

^c Program Studi Teknik Informatika, Fakultas Teknik, Universitas Tadulako, Palu, Indonesia

¹ zahwaazzahra4250@gmail.com, ² nurulizza025@gmail.com, ³ zgitha3@gmail.com, ⁴ febriyadi05@gmail.com,

⁵ shara22shair@gmail.com, ⁶ ihwantadulako@gmail.com, ⁷ jamaluddin@untad.ac.id*

*jamaluddin@untad.ac.id

Kata kunci:

Etlingera tjiasmantoi;

In silico;

In vitro;

Obat antituberkulosis

ABSTRAK

Tanaman famili *Zingiberaceae* memiliki banyak potensi sebagai bahan baku obat khususnya genus *Etlingera* yang mempunyai aktivitas sebagai antimikroba. Diduga senyawa metabolit sekunder dalam genus *Etlingera* berperan penting dalam aktivitas antimikroba dengan mengaktifkan STAT yang mempengaruhi produksi sitokin dan kemokin yang penting dalam melawan bakteri *Mycobacterium tuberculosis*, seperti halnya pada spesies *Etlingera tjiasmantoi* yang baru ditemukan sebagai tanaman endemik yang secara empiris digunakan sebagai antikanker. Riset ini dilakukan untuk mengetahui potensi ekstrak etanol daun *Etlingera tjiasmantoi* sebagai antituberkulosis secara in silico dan in vitro. Metode riset melalui dua tahap, yaitu secara in silico dengan tahapan uji *network pharmacology*, *molecular docking*, dan prediksi Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Ekskresi dan Toksisitas (ADMET) senyawa serta secara in vitro untuk memvalidasi hasil pengujian in silico menggunakan metode *Resazurin Microtiter Assay* (REMA). Hasil analisis secara in silico menunjukkan bahwa tanaman *Etlingera tjiasmantoi* memiliki senyawa 2-Methyldecalin dengan *binding energy* -6,2 yang lebih kecil dari ligan kontrol isoniazid sehingga memiliki ikatan kuat dengan protein target JAK2 dan profil ADMET yang baik secara oral, pada uji in vitro menunjukkan bahwa konsentrasi 500 ppm dan 750 ppm mampu melawan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* sehingga ekstrak etanol daun *Etlingera tjiasmantoi* berpotensi sebagai kandidat obat antituberkulosis baru.

Key word:

Etlingera tjiasmantoi;

In silico;

In vitro;

Antituberculosis drug

ABSTRACT

Plants of the *Zingiberaceae* family have a lot of potential as medicinal raw materials, especially the *Etlingera* genus which has antimicrobial activity. It is suspected that secondary metabolite compounds in the *Etlingera* genus play an important role in antimicrobial activity by activating STAT that affects the production of cytokines and chemokines that are important in fighting *Mycobacterium tuberculosis* bacteria, as is the case with the newly discovered *Etlingera tjiasmantoi* species as an endemic plant that is empirically used as an anticancer. This research was conducted to determine the potential of ethanol extract of *Etlingera tjiasmantoi* leaves as an antituberculosis in silico and in vitro. The research method went through two stages, namely in silico with the stages of network pharmacology test, molecular docking, and prediction of Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion and Toxicity (ADMET) of compounds and in vitro to validate the results of in silico testing using the *Resazurin Microtiter Assay* (REMA) method. The results of in silico analysis showed that the *Etlingera tjiasmantoi* plant has a 2-Methyldecalin compound with a binding energy of -6.2 which is smaller than the isoniazid control ligand so that it has a strong bond with the JAK2 target protein and a good ADMET profile orally, in vitro tests showed that concentrations of 500 ppm and 750 ppm were able to fight *Mycobacterium tuberculosis* bacteria so that the ethanol extract of *Etlingera tjiasmantoi* leaves has the potential as a new antituberculosis drug candidate.

Pendahuluan

Jumlah kasus tuberkulosis terus meningkat. Berdasarkan *World Health Organization* (WHO) pada tahun 2017 9,6 juta orang terinfeksi tuberkulosis dan 1,5 juta orang meninggal karena penyakit tersebut. Jumlah ini meningkat menjadi 10 juta orang terinfeksi tuberkulosis pada tahun 2019, hingga pada tahun 2021 jumlah kasus tuberkulosis di seluruh dunia mencapai 10,6 juta orang. Sebagai salah satu negara dengan beban tuberkulosis tertinggi di dunia, Indonesia mencatat 324.539 kasus tuberkulosis dari tahun 2014, kemudian meningkat pada tahun 2015 dengan jumlah 330.910 kasus tuberkulosis. Pada tahun 2020, terdapat 393.323 kasus tuberkulosis yang terdiagnosis di Indonesia (Athosra *et al.*, 2023). Jumlah kasus tuberkulosis mengalami peningkatan yang signifikan hingga sepanjang tahun 2021, 845.000 orang di Indonesia terinfeksi tuberkulosis dan 98.000 orang diantaranya meninggal. Dari jumlah tersebut, hanya sekitar 67% yang telah mendapatkan pengobatan (Baliasa, dkk., 2020; Adhanty dan Syarif, 2023).

Meningkatnya jumlah kasus tuberkulosis disebabkan oleh kegagalan pengobatan yang dipicu oleh ketidakpatuhan pasien. Hal ini disebabkan oleh regimen pengobatan tuberkulosis yang panjang (6-8 bulan) yang akan meningkatkan risiko terjadinya kasus *Multi Drug Resistant-Tuberculosis* (MDR-TB) (Khadijah, dkk., 2023). Meningkatnya kasus resistensi juga dapat meningkatkan biaya pengobatan tuberkulosis yang pada gilirannya meningkatkan pengeluaran pemerintah. Bukti dari fenomena ini adalah dari seluruh kasus tuberkulosis yang terdiagnosis, hanya 44,4% yang patuh menjalani program pengobatan tuberkulosis. Salah satu obat tuberkulosis yang ada saat ini adalah isoniazid yang bekerja dengan cara menghambat *enoyl-acyl carrier protein reductase* (InhA) sehingga mampu menekan sintesis asam mikolat dan komponen vital dari pembentukan dinding sel bakteri (Lailiyyah dan Lisdiana, 2023). Namun, obat-obatan modern, terutama isoniazid memiliki efek samping seperti ruam (2%), demam (1,2%), kulit atau mata kuning (0,6%), dan kerusakan saraf tepi (0,2%) (Anggoro, 2015). Resistensi terhadap obat tuberkulosis dan efek sampingnya saat ini menjadi tantangan serius bagi kesehatan global, termasuk di Indonesia. Oleh karena itu, diperlukan pencarian alternatif pengobatan bagi pasien tuberkulosis. Pendekatan yang menarik adalah eksplorasi senyawa aktif dari tumbuhan yang memiliki potensi sebagai agen antibakteri melawan *Mycobacterium tuberculosis*. Obat-obatan herbal tidak dapat menginduksi resistensi pada patogen, efektif, murah, dan tidak memiliki efek samping yang besar (Lailiyyah dan Lisdiana, 2023).

Salah satu tanaman herbal yang potensial untuk pengobatan tuberkulosis adalah famili *Zingiberaceae* khususnya genus *Etlingera* yang banyak digunakan dalam pengobatan yang terdiri dari rimpang, buah, dan bunga serta memiliki jumlah spesies yang banyak dan potensi yang menarik karena mempunyai aktivitas antiinflamasi, antimikroba, antivirus, antidiabetik, dan antikanker (Andesmora, dkk., 2022). Keanekaragaman spesies *Zingiberaceae* di Sulawesi cukup besar, beberapa spesies *Etlingera* yang memiliki banyak aktivitas farmakologis antimikroba adalah *Etlingera sublimata* (Pitopang, dkk., 2022) dan *Etlingera elatior* yang telah terbukti memiliki aktivitas farmakologis antivirus [Formatting Citation]. Pada tahun 2020, ditemukan spesies baru genus *Etlingera* di daerah Tentena, Kabupaten Poso, Sulawesi Tengah, yaitu *Etlingera tjiasmantoi* (Ardiyani, dkk., 2021). Oleh karena itu, perlu dilakukan riset terhadap spesies baru tersebut untuk memperoleh gambaran aktivitasnya sebagai antibakteri khususnya terhadap bakteri patogen *Mycobacterium tuberculosis* sehingga dapat dijadikan kandidat obat antituberkulosis dengan melakukan studi *molecular docking* untuk memperoleh gambaran aktivitasnya dan kemudian dilanjutkan dengan pengujian secara *in vitro* untuk mengetahui konsentrasi yang dapat digunakan untuk melawan bakteri patogen tersebut.

Metode

Pengambilan dan Identifikasi Sampel

Pengambilan sampel dilakukan di Kelurahan Tentena, Kecamatan Pamona Puselemba, Kabupaten Poso, Provinsi Sulawesi Tengah. Identifikasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biodiversitas dan Biosistematika Tanaman, Jurusan Biologi, Universitas Tadulako.

Ekstraksi Tanaman *Etlingera tjiasmantoi*

Daun tanaman *Etlingera tjiasmantoi* dibersihkan dan diolah menjadi simplisia. Serbuk simplisia kemudian dimasukkan ke dalam wadah maserasi, kemudian ditambahkan etanol 96% sebagai pelarut hingga serbuk simplisia terendam dan didiamkan. Setelah proses ekstraksi pertama selesai, ampas dimaserasi kembali dengan etanol baru selama 3 hari. Ekstrak yang dihasilkan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental (Ahmad, dkk., 2015).

Skrining Fitokimia

Uji flavonoid

Sebanyak 0,2 g sampel ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian dilarutkan dengan 10 ml akuades dan dipanaskan dalam penangas air selama 5 menit. Setelah dipanaskan, ditambahkan 5 tetes HCl 2N dan 0,2 g serbuk Mg ke dalam tabung reaksi dan ditunggu selama 3 menit (Khafid, dkk., 2023).

Uji saponin

Sebanyak 0,2 g sampel ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian dilarutkan dengan 10 ml akuades dan dikocok. Setelah itu, ditambahkan HCl 2N sebanyak 1 tetes ke dalam tabung reaksi (Khafid, dkk., 2023).

Uji alkaloid

Sebanyak 0,2 g ekstrak dimasukkan ke dalam 3 tabung reaksi yang berbeda, kemudian dilarutkan dengan 10 ml akuades dan setiap tabung ditambahkan 3 tetes HCl. Setelah itu, tabung pertama ditetesi dengan 5 tetes reagen Wegner, tabung kedua ditetesi dengan 5 tetes reagen Mayer, dan tabung ketiga ditetesi dengan 5 tetes reagen Dragendorff (Khafid, dkk., 2023).

Uji tannin

Sebanyak 0,2 g ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian dilarutkan dengan akuades hingga terendam semua. Sampel dipanaskan dalam penangas air selama 5 menit. Setelah pemanasan, ditambahkan larutan FeCl_3 1% ke dalam ekstrak sebanyak 1 tetes (Khafid, dkk., 2023).

Uji triterpenoid

Sebanyak 0,2 g ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan asam asetat glasial hingga ekstrak terendam dan didiamkan selama kurang lebih 15 menit. Sebanyak 6 tetes larutan sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi dengan pipet, kemudian ditambahkan 3 tetes H_2SO_4 (Khafid, dkk., 2023).

Analisis LC-MS/MS

Setiap senyawa diisolasi sebanyak 1 mg dilarutkan dalam 1000 μl etanol, kemudian sebanyak 5 μl sampel tersebut disuntikkan ke dalam suatu alat yang disebut kolom UPLC BEH C18 1.7 μm , 2.1x50mm. Untuk mengeluarkan senyawa dari sampel, digunakan campuran dua zat kimia yaitu asam format 0,1% dalam air (A) dan 0,1% asam format dalam asetonitril (B) dengan laju alir 0,4 ml/menit yang berjalan selama 20 menit. Analisis spektrofotometri massa (MS) dilakukan dalam mode positif 50-1200 m/z. Hasil analisis data LC-MS/MS akan didapatkan kromatogram berupa alur tinggi

peak yang diinterpretasikan menggunakan ChemSpider dan CFM-ID (Denanda, 2023; Mangurana, dkk., 2019).

Pengujian Network Pharmacology

Pengumpulan protein

Protein target terkait dengan aktivitas tuberkulosis diperoleh dari basis data *Online Mendelian Inheritance in Man* (OMIM), *GeneCards*, *DrugBank*, *Disgenet*, dan *Therapeutik Target Database* (TTD). Protein target yang ditemukan dari kelima basis data tersebut digabungkan dan duplikat dihilangkan. Nama protein target kemudian disesuaikan dengan standar basis data Uniprot. Protein target yang terkait dengan komponen bioaktif *Etlingera tjiasmantoi* dikumpulkan dari basis data *Similarity Ensemble Approach* (SEA), *Targetnet*, dan *SwissTarget Prediction*. Pengumpulan protein target dibatasi pada *Homo sapiens* (manusia) dengan batasan *Tanimoto Coefficient* (TC) $\geq 0,5$. Hasil dari protein target yang diperoleh dari ketiga basis data digabungkan dan duplikat dihapus. Nama protein target kemudian disesuaikan dengan standar basis data Uniprot (Tjandrawinata, dkk., 2022).

Pembuatan jejaring target dan interaksi protein-protein

Untuk membuat jaringan senyawa-target, komponen aktif dari *Etlingera tjiasmantoi* dan target terapeutik tuberkulosis dimasukkan ke dalam *Cytoscape* (versi 3.8.2). Simbol node jaringan melambangkan komponen kimia dan target, sementara edge menunjukkan interaksinya. Korelasi antara target terapeutik tuberkulosis dievaluasi menggunakan database string (versi 11.0), yang diproduksi oleh ELIXIR di *Wellcome Genome Campus*, Hinxton, Cambridgeshire, CB10 1SD pada organisme *Homo sapiens* dengan confidence level 0,4. PPI network diunduh, kemudian divisualisasikan di *Cytoscape* (versi 3.8.2), dan digabungkan untuk mendapatkan irisannya. Analisis menggunakan CytoNCA dilakukan untuk mengidentifikasi protein-protein inti (core protein) berdasarkan kriteria centrality yang lebih besar atau sama dengan nilai median masing-masing. Analisis dilanjutkan di *enrichr* dan di *metascape* untuk melihat kluster protein tuberkulosis yang terpilih melalui aksi kerjanya (Tabassum, dkk., 2022).

Molecular Docking

Preparasi reseptor

Persiapan protein target dilakukan dengan pengunduhan struktur protein terpilih yaitu JAK2 melalui website (<http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>) kode PDB 7F7W. Protein dipisahkan dari pelarut dan ligan atau residu. Pemisahan dilakukan menggunakan *Discovery Studio*. Pengoptimasian untuk penambahan atom hidrogen dan *Computer Gasteiger* menggunakan *Autodock Tools-1.5.6rc3* dan disimpan dengan nama protein dalam format Mol 2 (Lailiyah dan Lisdiana, 2023).

Validasi metode docking

Validasi metode *docking* dilakukan dengan metode *redocking* menggunakan ligan uji dari co-crystal yang terdapat pada reseptor dengan kode PDB 7F7W dengan cara menghitung *Root Mean Square Distance* (RMSD) dengan cara *Analyze > RMSD of > Molecules*. Nilai RMSD $< 2,0 \text{ \AA}$ biasanya digunakan sebagai kriteria validitas metode *docking* (Lailiyah dan Lisdiana, 2023).

Preparasi dan docking ligan uji terhadap reseptor

Ligan atau senyawa uji senyawa tanaman *Etlingera tjiasmantoi* dari analisis LC-MS (SI>85%) dibangun menggunakan perangkat lunak Arguslab. Kemudian dilakukan optimasi geometri menggunakan Chem3d. Hasil optimasi tersebut kemudian dikonversi menggunakan Open Babel untuk dijadikan file PDB. Kemudian dilakukan penyiapan senyawa uji dengan *AutodockTools1.5.6rc3* (Lailiyah dan Lisdiana, 2023). Pengaturan grid box parameter dilakukan menggunakan *AutodockTools-1.5.6rc3*. Koordinat grid box ditentukan berdasarkan koordinat ligan co-crystal dari

file reseptor yang digunakan pada saat validasi, kemudian dilakukan proses penambatan menggunakan Autodock Vina (Lailiyah dan Lisdiana, 2023).

Prediksi ADME dan Toksisitas Senyawa

Prediksi absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi (ADME) dari senyawa *Etlingera tjiasmantoi* dilakukan dengan analisis lebih lanjut menggunakan *Simplified Molecular Input Line Entry System* (SMILES) yang diperoleh dari database Chemspider. Kemudian dilanjutkan dengan mendapatkan informasi tentang farmakokinetika senyawa tersebut yang diperoleh dari Swiss ADME dan database pkcsm untuk mengetahui toksisitas senyawa tersebut (Aristyani, dkk., 2018).

Uji Antimikobakteri secara in vitro

Pada uji antimikobakteri dengan menggunakan REMA, larutan senyawa dengan konsentrasi 250 ppm, 500 ppm, dan 750 ppm dimasukkan ke dalam microplate bersama dengan *Mycobacterium tuberculosis* sebanyak 30 µl. Media Middlebrook 7H9 sebanyak 100 µl kemudian ditambahkan ke setiap sumur pada microtiter plate. Setelah diinkubasi selama 7 hari, 30 µl larutan resazurin ditambahkan ke setiap sumur dan kemudian diinkubasi kembali selama 24 jam. Pada hari ke 8, perubahan warna dari biru menandakan bakteri tidak tumbuh ke merah muda menandakan bakteri tumbuh diamati sebagai indikasi proses oksidasi-reduksi yang terjadi (Ruswanto, c 2019).

Hasil dan Pembahasan

Hasil Identifikasi Tanaman

Sampel yang digunakan adalah daun *Etlingera tjiasmantoi* yang diidentifikasi di Laboratorium Biodiversitas dan Biosistemika Tanaman, Jurusan Biologi, Universitas Tadulako untuk menetapkan dan membuktikan kebenaran sampel yang digunakan dalam riset ini. Hasil identifikasi menyatakan bahwa tumbuhan yang digunakan benar merupakan daun *Etlingera tjiasmantoi* yang berasal dari family *Zingiberaceae*.

Hasil Ekstraksi Tanaman *Etlingera tjiasmantoi*

Pada proses ekstraksi daun *Etlingera tjiasmantoi* menggunakan pelarut etanol 96% dengan metode maserasi dihasilkan ekstrak kental dan persen rendemen yang dapat dilihat pada tabel 1 di bawah ini:

Tabel 1. Hasil ekstraksi maserasi daun *Etlingera tjiasmantoi*

Sampel	Bobot daun kering	Bobot ekstrak kental	%Rendemen
<i>Etlingera tjiasmantoi</i>	2.100 g	340 g	16,19

Proses ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi yang bertujuan untuk mendapatkan ekstrak kental terbaik, berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Siskawati, dkk., 2023) menyatakan bahwa untuk ekstraksi material lunak, seperti daun dan sejenisnya disarankan menggunakan proses ekstraksi dengan metode maserasi yang merupakan ekstraksi yang tidak perlu dipanaskan sehingga bahan alam pada sampel tidak rusak atau terurai. Pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi ini adalah etanol 96% karena bersifat polar, selektif, tidak toksik, absorbsinya baik dan kemampuan penyariannya yang tinggi sehingga dapat menyari senyawa yang bersifat non-polar, semi polar, dan polar. Selain itu, pelarut etanol 96% lebih mudah masuk berpenetrasi ke dalam dinding sel sampel daripada pelarut etanol dengan konsentrasi lebih rendah sehingga menghasilkan ekstrak yang pekat (Wendersteyt, dkk., 2021).

Sampel kering yang digunakan pada proses ekstraksi untuk mendapatkan ekstrak kental diperoleh setelah dilakukan penguapan menggunakan *rotary evaporator* sebesar 340 g sehingga didapatkan rendemen daun *Etlingera tjiasmantoi* sebesar 16,19%. Hasil nilai rendemen yang tinggi

menyatakan bahwa senyawa kimia yang dapat tersari didalam ekstrak cukup banyak. Nilai rendemen ekstrak dikatakan baik jika nilainya >10% (Indriaty, dkk., 2022).

Hasil Skrining Fitokimia

Dalam riset ini, skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa yang terdapat pada ekstrak etanol 96% daun *Etlingera tjiasmantoi*. Adapun hasil skrining fitokimia dapat dilihat pada tabel 2 berikut.

Tabel 2. Hasil skrining fitokimia ekstrak daun *Etlingera tjiasmantoi*

Sampel	Flavonoid	Saponin	Alkaloid	Tanin	Triterpenoid
Ekstrak	+	+	+	+	+

Uji skrining fitokimia dari daun *Etlingera tjiasmantoi* menunjukkan keberadaan flavonoid, saponin, alkaloid, tannin dan triterpenoid. Pada uji flavonoid didapatkan hasil positif mengandung flavonoid dengan adanya perubahan warna menjadi kuning. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Abdulrahman, dkk. (2022), menyatakan bahwa uji flavonoid menunjukkan hasil positif apabila terbentuk larutan berwarna kuning. Perubahan warna terjadi karena serbuk Mg bereaksi dengan HCl menghasilkan gas hidrogen (H_2) yang mereduksi inti benzopiron pada struktur flavonoid. Hasil reduksi flavonoid membentuk kompleks dengan magnesium menghasilkan garam flavilium. Garam flavilium yang terbentuk memiliki karakteristik warna merah, kuning atau jingga. Flavonoid yang memiliki struktur fenol dengan gugus karbonil, diketahui diproduksi oleh tumbuhan sebagai respons terhadap infeksi mikroba. Efektivitas flavonoid sebagai antibakteri diduga berasal dari kemampuannya membentuk ikatan kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut, serta dengan dinding sel bakteri. Tingkat lipofilisitas flavonoid berbanding lurus dengan kemampuannya merusak dinding sel bakteri (Ramayani, dkk., 2021; Wahid dan Safwan, 2020; Rauf, dkk., 2019).

Pada uji saponin menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya busa setelah penambahan HCl. yang stabil selama kurang lebih 15 menit. Menurut penelitian Yuliyanti, dkk. (2019), penambahan HCl pada sampel bertujuan untuk menghidrolisis saponin. Proses hidrolisis ini akan menghasilkan aglikon spesifik dari saponin, yang kemudian akan berubah menjadi saraponin atau sapogenin. Kombinasi antara rantai senyawa sapogenin atau saraponin yang bersifat non-polar dengan rantai samping polar yang larut dalam air akan memicu terbentuknya busa. Saponin memiliki mekanisme kerja sebagai antibakteri. Senyawa ini mampu menurunkan tegangan permukaan pada membran sel bakteri sehingga terjadi peningkatan permeabilitas membran sel yang berarti membran menjadi lebih mudah dilalui oleh berbagai zat. Kondisi ini dapat menyebabkan terjadinya kebocoran pada sel bakteri. Dengan kata lain, saponin merusak integritas membran sel bakteri sehingga mengganggu fungsi normalnya yang menyebabkan saponin dapat mematikan bakteri tersebut (Villiya dan Maimunah, 2021; Syamsu, dkk., 2021).

Pada uji alkaloid menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya endapan coklat pada sampel dengan penambahan pereaksi Wagner, terbentuk endapan putih pada penambahan pereaksi Mayer dan endapan coklat kemerahan pada penambahan pereaksi Dragendorff. Khafid, dkk. (2023), menyatakan bahwa uji alkaloid menunjukkan hasil positif apabila terbentuk endapan coklat kemerahan dengan penambahan pereaksi Wagner, endapan putih pada pereaksi Mayer, dan endapan coklat muda hingga kuning dengan pereaksi Dragendorff. Penambahan HCl pada uji alkaloid menyebabkan terbentuknya garam alkaloid yang kemudian diendapkan dengan penambahan reagen Wagner, Mayer dan Dragendorff. Atom nitrogen pada alkaloid memiliki pasangan elektron bebas yang dapat membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion K^+ dari kalium tetraiodomerkurat (II) pada pereaksi Mayer membentuk endapan putih. Endapan coklat kemerahan pada pereaksi Wagner terbentuk karena ion K^+ pada kalium iodida akan membentuk ikatan kovalen koordinat dengan nitrogen pada alkaloid sehingga membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap. Warna yang timbul pada endapan terjadi karena iodin (I_2) bereaksi dengan ion I^- dari kalium iodida

menghasilkan ion I^{3-} yang berwarna coklat kemerahan. Endapan coklat kemerahan pada pereaksi Dragendorff terbentuk karena nitrogen pada alkaloid membentuk ikatan kovalen dengan ion K^+ dari kalium tetraiodobismut membentuk endapan kalium-alkaloid yang berwarna coklat kemerahan. Senyawa alkaloid terdeteksi bekerja sebagai antibakteri dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada dinding sel bakteri. Hal ini mengakibatkan tidak terbentuknya lapisan dinding sel secara utuh yang pada akhirnya menyebabkan kematian sel bakteri (Hanifa, dkk., 2021; Rauf, dkk., 2019).

Pada uji tanin menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya warna hijau kehitaman. Dalam proses identifikasi tanin, perubahan warna yang terjadi merupakan hasil dari reaksi antara $FeCl_3$ dan salah satu gugus hidroksil yang terdapat pada molekul tanin. Perubahan warna ini terjadi melalui pembentukan senyawa kompleks antara molekul tanin dan ion Fe^{3+} dari $FeCl_3$. Menurut Khafid, dkk. (2023), adanya gugus fenol dalam ekstrak ditandai dengan perubahan warna menjadi hijau kehitaman atau biru tua. Uji ini menunjukkan kemungkinan adanya tanin dalam ekstrak daun, yang termasuk dalam kelompok senyawa polifenol. Senyawa ini memiliki kemampuan menghambat enzim DNA-topoisomerase yang mengakibatkan terhambatnya proses replikasi bakteri (Munadi, 2020; Rauf, dkk., 2019).

Pada uji triterpenoid menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan adanya perubahan warna coklat kemerahan. Menurut Khafid, dkk. (2023), yang menyatakan uji triterpenoid menunjukkan hasil positif apabila terjadi perubahan warna menjadi coklat. Kandungan triterpenoid dalam ekstrak daun *Etlingera tjiasmantoi* dapat berkontribusi pada aktivitasnya sebagai antituberkulosis yang dapat mengakibatkan lisis dinding sel bakteri (Gitari, dkk., 2017).

Hasil Analisis LC-MS/MS

Hasil analisis LC-MS/MS menunjukkan bahwa terdapat 17 komponen senyawa yang berhasil dianalisis pada bagian daun *Etlingera tjiasmantoi*. 3 peak yang memiliki puncak tertinggi dilanjutkan untuk *molecular docking* seperti yang tersaji pada tabel 3 dibawah ini:

Senyawa	RT	OBS MASS	CAL MASS	Molekul Formula
1	0.421	103,83	103	C ₄ H ₉ NO ₂ Gamma- Aminobutyric Acid
2	12.743	202,74	201,74	C ₁₁ H ₂₀ 2-Methyldecalin
3	5.310	324,76	323,76	C ₉ H ₁₀ ClN ₂ O ₅ PS Azamethiphos

Hasil Network Pharmacology

Dari pengujian network pharmacology di dapatkan hasil bahwa protein JAK 2 merupakan protein terpilih dengan nilai *degree* tertinggi yaitu 30 dari total 876 protein tuberkulosis yang memiliki interaksi dengan senyawa *Etlingera tjiasmantoi*. Pada tabel 4 terdapat sepuluh protein paling sentral(berdasarkan analisis platform *Cytoscape*) berhubungan dengan tuberkulosis dan merupakan target dari senyawa *Etlingera tjiasmantoi*.

Name	Closeness Centrality	Degree	Betweenness Centrality
JAK 2	0,3791208791208791	30	0,027314794091593

Pengikatan cytokin dengan reseptor ekstraseluler menyebabkan dimerisasi, kemudian mengaktifkan JAK. JAK memfosforilasi reseptor. fosforilasi ini dibantu dengan senyawa tanaman yang dapat terikat stabil pada JAK2. Dimana pada saat JAK2 aktif dapat terjadi inhibisi negatif regulator JAK2 seperti melalui protein SHP atau SOCS yang menghentikan fosforilasi. Senyawa tanaman *Etlingera tjiasmantoi* yg berikatan stabil pada JAK2 dapat bekerja dengan menghambat

molekul penghambat ini, memperpanjang du rasi dan efisiensi fosforilasi yang dilakukan oleh JAK2. Kemudian JAK2 yg berhasil terfosforilasi menarik protein lain yang disebut STAT. yang selanjutnya dimerisasi. Setelah bergabung, STAT berpindah ke dalam inti sel (translokasi). Stat merupakan singkatan dari sinyal transmittion dan transcription. Yang pada akhirnya ini akan mengarah pada transkripsi banyak gen, dan ini sangat penting untuk jalur persinyalan interferon. Dimana sel yang terinfeksi mikroba mengeluarkan interferon kejalur jak-stat pathway disel terdekat dan mengarah pada produksi molekul antimikroba (Tiwary, dkk., 2019).

Hasil Molecular Docking

Hasil validasi metode docking

Pada proses validasi docking yang diperhatikan adalah nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD). Nilai RMSD digunakan sebagai parameter untuk menggambarkan seberapa besar perubahan interaksi antara protein dan ligan pada struktur kristal sebelum dan sesudah dilakukan docking serta untuk mengetahui tingkat penyimpangannya. Metode docking dianggap valid jika nilai $RMSD \leq 2 \text{ \AA}$ yang menunjukkan bahwa parameter docking digunakan sudah tepat sehingga metode tersebut dapat diterapkan untuk docking senyawa uji (Sari, dkk., 2020). Hasil nilai RMSD yang diperoleh dapat dilihat pada tabel 5 berikut.

Tabel 5. Nilai RMSD							
Kode PDB	Center			Size			RMSD
	X	Y	Z	X	Y	Z	
JAK2	-8,16	-40,92	39,438	40	40	40	1,50

Nilai RMSD yang diperoleh pada riset ini adalah 1,50Å. Nilai tersebut menunjukkan bahwa metode *molecular docking* digunakan telah terbukti valid. Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa semakin rendah nilai RMSD, semakin tinggi tingkat kesesuaian antara posisi ligan bawaan hasil docking dengan ligan bawaan yang diperoleh melalui kristalografi sehingga validitas hasil docking bernilai di bawah 2Å menunjukkan keakuratan yang tinggi. Dalam proses docking ini, digunakan ligan yang fleksibel. Kondisi ligan fleksibel memungkinkan ligan untuk melakukan penyesuaian struktur, demi mencapai konformasi yang stabil saat berikatan dengan sisi aktif reseptor (Rut, dkk., 2020). Proses validasi metode penambatan molekul bertujuan untuk memastikan akurasi metode yang digunakan dan kesesuaian ukuran grid box dengan sisi aktif pada enzim, yang penting untuk tahap docking senyawa uji berikutnya (Thahara, dkk., 2022).

Hasil preparasi dan docking ligan uji terhadap reseptor

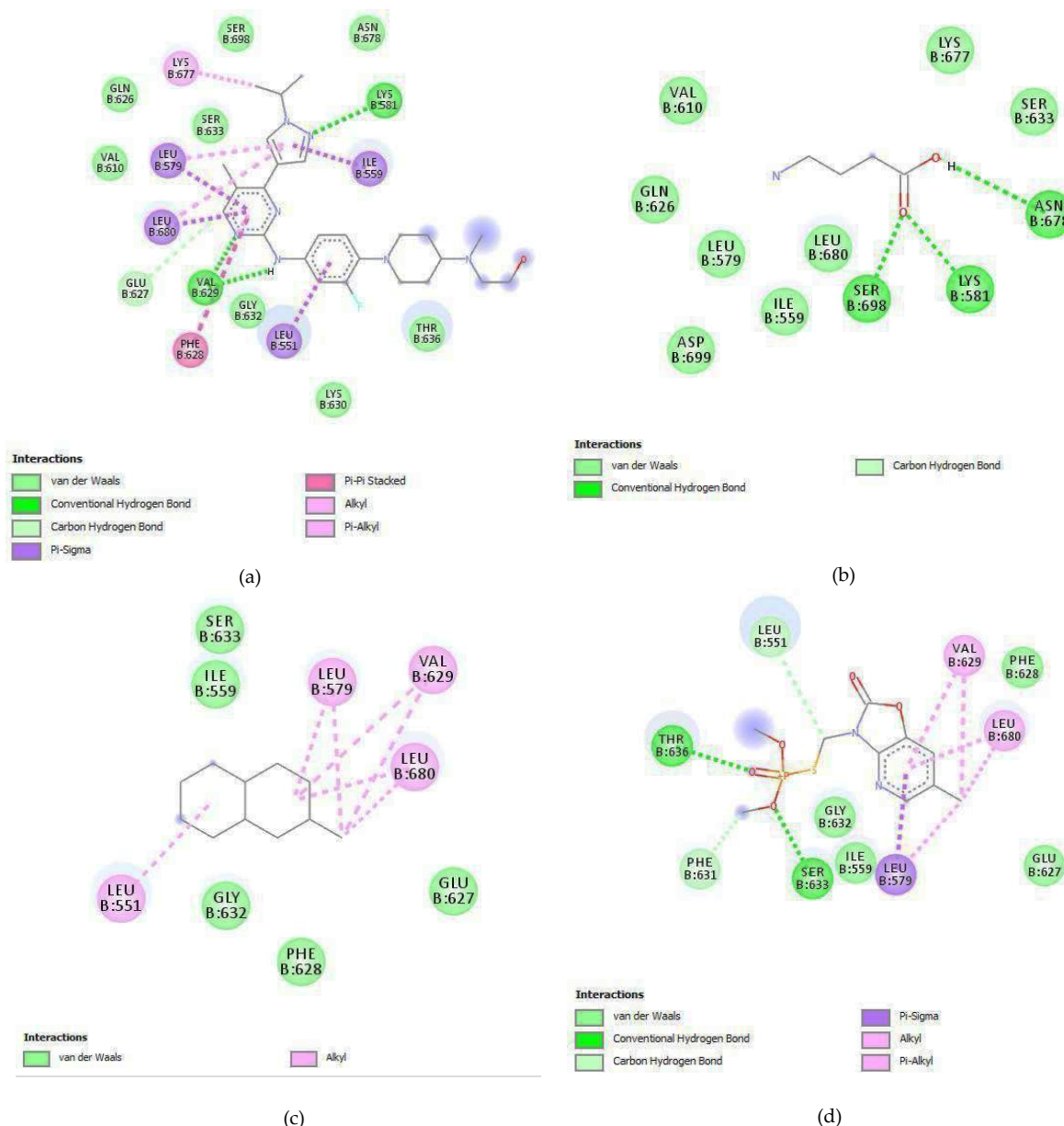
Penambatan molekul senyawa (ligan) kepada reseptor (protein target) dilakukan menggunakan software AutoDockTool-1.5.7. Hasil *molecular docking* senyawa *Etlingera tjiasmantoi* dengan protein JAK2 dapat dilihat pada tabel 6 di bawah ini.

Tabel 6. Nilai Binding Energy Senyawa	
Nama senyawa	Binding Energy
Isoniazid (ligan kontrol)	-5,1
Gamma-Aminobutyric Acid	-3,9
2-Methyldecalin	-6,2
Azamethiphos	-5,9

Berdasarkan tabel 6 di atas, menunjukkan bahwa senyawa 2-Methyldecalin dan Azamethipos memiliki nilai *binding energy* yang lebih kecil dibandingkan dengan ligan kontrol, sementara senyawa Gamma-Aminobutyric Acid menunjukkan nilai *binding energy* yang lebih besar. Diantara senyawa-senyawa tersebut, 2-Methyldecalin memiliki nilai *binding energy* terkecil yaitu -6,2. Menurut penelitian Ningrat (2022), energi ikatan bebas lebih rendah (di bawah ligan kontrol) mengindikasikan ikatan lebih kuat yang berarti interaksi antara ligan dan reseptor menjadi lebih stabil. Hal ini menunjukkan

bahwa 2-Methyldecalin diprediksikan memiliki afinitas lebih baik terhadap sisi aktif reseptor JAK2 dibandingkan dengan ligan kontrol lainnya. Berdasarkan hal ini, dapat diindikasikan bahwa senyawa tersebut berpotensi untuk dikembangkan sebagai antituberkulosis.

Visualisasi *molecular docking* melalui ikatan asam amino



Gambar 1. Interaksi senyawa (a) Isoniazid (b) Gamma-Aminobutyric Acid (c) 2-Methyldecalin (d) Azamethipos pada protein JAK2

Visualisasi hasil *docking* dilakukan dengan memanfaatkan software *Discovery Studio Visualizer* (BIOVIA). Gambar 1 (a) merupakan interaksi isoniazid sebagai ligan kontrol dengan protein target JAK2. Berdasarkan hasil, senyawa uji tersebut berinteraksi dengan protein JAK2. Dapat dilihat pada gambar 1 (b) bahwa senyawa Gamma-aminobutyric acid dengan ligan kontrol memiliki kemiripan dengan mengikat asam amino yang sama yaitu LYS B:581 melalui ikatan *conventional hydrogen*. Kemudian pada gambar 1 (c) senyawa 2-Methyldecalin terhadap ligan kontrol memiliki kemiripan dengan mengikat asam amino yang sama yaitu SER B:633 dan GLY B:632 melalui ikatan *van der waals*. Pada gambar 1 (d) senyawa Azamethipos memiliki kemiripan dengan ligan kontrol yaitu

mengikat asam amino yang sama yaitu GLU B:627 melalui ikatan *carbon hydrogen bond* dan mengikat asam amino LEU B:579 melalui ikatan *pi-sigma*. Berdasarkan hasil tersebut, dapat dilihat bahwa senyawa 2-Methyldecalin dan Azamethipos memiliki penambatan yang lebih banyak kemiripan dengan ligan uji sehingga kedua senyawa tersebut memiliki afinitas penghambatan pada reseptor protein JAK2 yang lebih baik. Menurut Sari, dkk., (2020), semakin banyak interaksi asam amino antara ligan kontrol dan senyawa uji maka semakin baik aktivitas penghambatannya.

Hasil Prediksi ADME dan Toksisitas Senyawa

Profil farmakokinetik secara *in silico* diperlukan sebagai acuan awal dalam pengembangan senyawa obat. Aturan untuk mendefinisikan bioaktif berpotensi dikembangkan sebagai agen pengembangan obat meliputi absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi (ADME). Hasil prediksi ADME senyawa yang terkandung dalam tanaman *Etlingera tjiasmantoi* dapat dilihat pada tabel 7 dibawah ini:

Tabel 7. Tabel Hasil Prediksi ADME

Senyawa	GI Absorbtion	BBB Permeant	Lipinski rule
Gamma Aminobutiric Acid	High	No	Yes; 0 volation
2-Methyldecalin	High	Yes	Yes; 0 volation
Azamethipos	High	No	Yes; 0 volation

Hasil pengamatan parameter absorpsi gastrointestinal (GI) menunjukkan bahwa ketiga senyawa uji memiliki tingkat absorpsi yang tinggi sehingga senyawa dari tanaman *Etlingera tjiasmantoi* menunjukkan tingkat penyerapan yang tinggi. Kemampuan obat menembus sawar darah otak atau *Blood Brain Barrier* (BBB) menjadi parameter penting dalam pertimbangan pengurangan efek samping, toksisitas, serta peningkatan efikasi obat dengan aktivitas farmakologis di otak. Parameter BBB memungkinkan kemampuan pembuluh darah untuk melakukan vaskularisasi sistem saraf pusat (*Central Nervous System*, CNS) yang secara ketat mengatur pergerakan ion, molekul serta sel antara darah dan otak. Tabel 7 menunjukkan bahwa senyawa 2-Methyldecalin berpenetrasi melalui sawar darah otak, sedangkan senyawa Gamma-Aminobutiric Acid dan Azamethipos dapat berpenetrasi melalui sawar darah otak. Untuk memastikan potensi hasil analisis docking sebagai pengembangan obat antituberkulosis, perlu dipastikan kesesuaiannya dengan aturan lima Lipinski, meliputi: (a) massa molekul ≤ 500 dalton; (b) tingkat liposilisitas (LogP) ≤ 5 ; (c) donor ikatan hydrogen ≤ 5 ; (d) akseptor ikatan hydrogen ≤ 10 . Tabel 7 menunjukkan ketiga senyawa memiliki permeabilitas yang tinggi karena sudah sesuai dengan aturan Lipinski. Suatu senyawa dianggap memiliki permeabilitas tinggi jika tidak memiliki penyimpangan atau hanya satu penyimpangan dari aturan Lipinski. Senyawa dengan lebih dari satu penyimpangan dianggap memiliki permeabilitas rendah (Inayah, dkk., 2024).

Penilaian awal sifat toksik struktur kimia sangat penting dilakukan dalam bidang penemuan obat. Oleh karena itu, uji toksisitas pada studi *in silico* menjadi langkah utama untuk mengidentifikasi senyawa atau bahan kimia berbahaya. Pengujian toksisitas dilaksanakan melalui *web server protox II* yang digunakan untuk memprediksi potensi toksisitas dalam bentuk basis data dengan memasukkan struktur kimia senyawa target sebagai input analisis. Klasifikasi LD_{50} berdasarkan dosis dinyatakan dalam rentang kelas 1-6 dengan $\text{LD}_{50} < 1$ (toksik), 1-50 (sangat toksik), 50-500 (toksik ringan), 500-5000 (toksik sedang), 5000-15000 (praktis tidak toksik) dan lebih dari 15000 (relatif tidak berbahaya) (Musdalipah, dkk., 2022). Hasil toksisitas senyawa tanaman *Etlingera tjiasmantoi* dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Hasil Toksisitas Senyawa

Senyawa	LD ₅₀ (mg/kg)	Predicted tox class
Gamma Aminobutiric Acid	12680	5
2-Methyldecalin	15380	6
Azamethipos	1190	4

Berdasarkan hasil uji toksisitas menggunakan *web server protox II* diperoleh data hasil pada LD₅₀ yang ditunjukkan pada tabel 8 bahwa senyawa Gamma-Aminobutiric Acid dan 2-Methyldecalin aman untuk dijadikan obat karena berada pada kelas 5 dan 6, sedangkan Azamethipos bersifat toksik sedang karena berada pada kelas 4, semakin besar angka yang diperoleh maka prediksi toksik suatu senyawa akan semakin baik, sebaliknya jika semakin kecil nilai yang didapat maka prediksi toksik suatu senyawa akan semakin buruk (Banerjee, dkk., 2018).

Hasil Pengujian in vitro

Tabel 9. Hasil Pengujian in vitro

Perlakuan	Replikasi		
	1	2	3
Kontrol negatif	+	+	+
Konsentrasi 250 ppm	+	+	+
Konsentrasi 500 ppm	-	-	-
Konsentrasi 750 ppm	-	-	-

Keterangan:

- + : terdapat pertumbuhan bakteri
- : tidak terdapat pertumbuhan bakteri

Pada uji in vitro didapatkan hasil untuk konsentrasi 250 ppm terdapat pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* ditandai dengan terjadinya perubahan warna menjadi merah muda. Menurut Marraskuranto, dkk., (2021), ekstrak yang efektif menghambat pertumbuhan bakteri akan menghasilkan warna biru pada sumuran, sedangkan ekstrak yang tidak aktif akan menghasilkan warna merah muda atau pink. Hal ini dikarenakan adanya ketidakseimbangan antara sifat sinergis dari senyawa yang ada dalam ekstrak *Etlingera tjiasmantoi* dengan toksisitas senyawa. Sebaliknya pada konsentrasi 500 ppm dan 750 ppm, tidak terjadi perubahan warna setelah penambahan *rezasurin* yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Sehingga konsentrasi 500 ppm dan 750 ppm dapat memberikan aktivitas farmakologi antibakteri penyebab tuberkulosis yaitu *Mycobacterium tuberculosis*.

Kesimpulan dan Saran

Kesimpulan

Dari hasil riset yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa pengujian secara in silico menunjukkan senyawa 2-Methyldecalin berpotensi sebagai antituberculosis melalui pengikatan yang stabil terhadap JAK2 dan pengujian secara in vitro pada senyawa *Etlingera tjiasmantoi* yang efektif sebagai antimikrobakteri yaitu pada konsentrasi 500 ppm dan 750 ppm.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan uji in vivo menggunakan model hewan, seperti mencit atau tikus yang diinduksi dengan *Mycobacterium tuberculosis* untuk menentukan dosis efektif serta kemungkinan efek samping dari ekstrak *Etlingera tjiasmantoi*.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Direktorat Belmawa, Universitas Tadulako, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tadulako dan Fakultas Teknik Universitas Tadulako.

Daftar Pustaka

- Abdulrahman, Utami, S.R., Widia & Roanisca, O. 2022. Kajian metabolit sekunder batang bajakah (*Spatholobus littoralis* Hassk.) dalam pengembangan sebagai obat herbal antikanker payudara dan antioksidan. *Cendekia Journal of Pharmacy*. 6(1):1–12.
- Adhanty, S. & Syarif, S. 2023. Kepatuhan pengobatan pada pasien tuberculosis dan faktor-faktor yang mempengaruhinya: tinjauan sistematis. *Jurnal Epidemiologi Kesehatan Indonesia*. 7(1):7–14.
- Ahmad, A.R., Juwita, Ratulangi, S.A.D. & Malik, A. 2015. Penetapan kadar fenolik dan flavonoid total ekstrak metanol buah dan daun patikala (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.SM). *Pharmaceutical Sciences and Research*. 2(1):1–10.
- Ardiyani, M., Ardi, W.H., Hutabarat, P.W.K. & Poulsen, A.D. 2021. *Etlingera comosa*, a new species (Zingiberaceae: Alpinioideae) from Central Sulawesi. *Reinwardtia*. 20(2):63–68.
- Aristyani, S., Nur, M.I., Widyarti, S. & Sumitro, S.B. 2018. In silico study of active compounds ADMET profiling in *Curcuma xanthorrhiza* Roxb and *Tamarindus indica* as tuberculosis treatment. *Jurnal Jamu Indonesia*. 3(3):101–108.
- Athosra, Maisyarah, Satria, E.B. & Adriani. 2023. Prevalensi penyakit tuberculosis di wilayah kerja Puskesmas Lasi Kab Agam tahun 2022. *Human Care Journal*. 7(3):749–755.
- Baliasa, I.W., Kaunang, W.P.J. & Kairupan, B.H.R. 2020. Hubungan pengetahuan, sikap dan tindakan penderita tuberculosis dengan hasil terapi di Puskesmas Biak Banggai. *Journal of Public Health and Community Medicine*. 1(4):63–69.
- Faisal Syamsu, R., Nuryanti, S., & Azis, A. U. 2021. Asupan Nutrisi Mikro Pada Penderita Tuberculosis dari Beberapa Ekstrak Tanaman. *UMI Medical Journal*, 6(1): 20-27.
- Gitari, N. M., Bagus Rai Mulya Hartawan, I. G., & Nyoman Putra, I. B. 2017. Potensi Nanopartikel Alginat-Kitosan - Ekstrak Daun Kedondong Hutan (SPONDIAS PINNATA (L.f.) Kurz.) Dalam Penatalaksanaan Tuberculosis dan Multi Drug Resistance Tuberculosis (MDR-TB). *Jurnal Scientific Pinisi*, 3(2): 135-143.
- Khafid, A., Wiraputra, M.D., Putra, A.C., Khoirunnisa, N., Putri, A.A.K., Suedy, S.W.A. & Nurchayati, Y. 2023. Uji kualitatif metabolit sekunder pada beberapa tanaman yang berkhasiat sebagai obat tradisional. *Buletin Anatomi dan Fisiologi*. 8(1):61–70.
- Lailiyyah, H. & Lisdiana, L. 2023. Uji aktivitas antibakteri senyawa aktif temu kunci (*Boesenbergia rotunda*) terhadap *Mycobacterium tuberculosis* secara in silico. *LenteraBio : Berkala Ilmiah Biologi*. 12(2):132–149.
- Marraskuranto, E., Nursid, M., Utami, S., Setyaningsih, I. & Tarman, K. 2021. Kandungan fitokimia, potensi antibakteri dan antioksidan hasil ekstraksi *Caulerpa racemosa* dengan pelarut berbeda. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. 16(1):1–10.
- Ningrat, A.W.S. 2022. Docking molekuler senyawa brazilein herba caesalpina sappanis lignum pada *Mycobacterium tuberculosis inha* sebagai antituberculosis. *Inhealth: Indonesian Health Journal*. 1(1):29–34.
- Pitopang, R., Lestari, E., Banilai, P.A.S. & Harso, W. 2022. Fitokimia, dan aktivitas antibakteri dari *Etlingera sublimata* Poulsen (Zingiberaceae), tumbuhan endemik Sulawesi. *Biocelbes*. 16(2):79–92.
- Ruswanto, R., Rahayuningsih, N., Hidayati, N.L.D., Nuryani, G.S. dan Mardianingrum, R. 2019. Uji in vitro dan studi in silico senyawa turunan N '-Benzoylisonicotinohydrazide sebagai kandidat antituberculosis. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 17(2):218–226.

- Sari, I.W., Junaidin & Pratiwi, D. 2020. Studi molecular docking senyawa flavonoid herba kumis kucing (*Orthosiphon stamineus* B.) pada reseptor α -glukosidase sebagai antidiabetes tipe 2. *Jurnal Farmagazine*. 7(2):54–60.
- Siskawati, Haeruddin & Nurlansi. 2023. Uji fitokimia dan aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun kelor (*Moringa oleifera*). *Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia*. 12(1):1–9.
- Tabassum, S., Khalid, H.R., Haq, W.U., Aslam, S., Alshammari, A., Alharbi, M., Rajoka, M.S.R., Khurshid, M. & Ashfaq, U.A. 2022. Implementation of system pharmacology and molecular docking approaches to explore active compounds and mechanism of *Ocimum sanctum* against tuberculosis. *Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI)*. 10(2):1–19.
- Tjandrawinata, R.R., Amalia, A.W., Tuna, H., Saidi, V.N. & Tan, S. 2022. Molecular mechanisms of network pharmacology-based immunomodulation of huangqi (*Astragali radix*). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 20(2):184–195.
- Wahyuni, Diantini, A., Ghazali, M. & Sahidin. 2022. *Etlingera* genus: phytochemical screening and anticancer activity. *Jurnal Farmasi Sains dan Praktis*. 7(3):136–149.
- Wendersteyt, N.V., Wewengkang, D.S. & Abdullah, S.S. 2021. Uji aktivitas antimikroba dari ekstrak dan fraksi ascidian *Herdmania momus* dari perairan pulau Bangka Likupang terhadap pertumbuhan mikroba *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* dan *Candida albicans*. *Pharmacon*. 10(1):706–712.
- Yuliyanti, M., Husada, V.M.S., Fahrudi, H.A.A. & Setyowati, W.A.E. 2019. Quality and detergency optimization, liquid detergent preparation, mahogany seed extract (*Swietenia mahagoni*). *Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia*. 4(2):65–76.
- Zubair, M.S., Anam, S., Khumaidi, A., Susanto, Y., Hidayat, M. & Ridhay, A. 2016. Molecular docking approach to identify potential anticancer compounds from Begonia (*Begonia* sp). *AIP Conference Proceedings*. 1755(1):1-7.