

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan yaitu penelitian eksperimental dengan rancangan *pre experimental design* secara *in silico* dari senyawa turunan flavonoid terhadap enzim *Acetylcholinesterase* menggunakan aplikasi *Chem Draw*, *Autodock*, *Autodock Vina* dan *Discovery Studio*.

3.2 Sampel

Penelitian ini menggunakan sampel berupa senyawa turunan flavonoid yang dipilih berdasarkan penelitian sebelumnya. Sebanyak 6 sampel diambil dalam bentuk struktur tiga dimensi yang diperoleh melalui unduhan dari situs *PubChem* (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>).

3.3 Bahan dan Alat Yang Digunakan

3.3.1 Bahan

Bahan yang digunakan berupa struktur tiga dimensi dari reseptor *Acetylcholinesterase* dengan kode PDB ID : 1EVE dan 4EY7 yang didapat dari *Protein Data Bank*, serta struktur tiga dimensi dari senyawa turunan flavonoid.

3.3.2 Alat

Penelitian ini menggunakan perangkat keras berupa laptop Asus dengan spesifikasi prosesor AMD Ryzen™ 7 7730U dan RAM sebesar 16 GB, serta perangkat lunak seperti sistem operasi Windows 11, *Microsoft Office Word 2021*, *BIOVIA Discovery Studio 2024*, *Chem3D*, *Autodock Vina*, *AutodockTools-1.5.7*, *Pymol*, dan *Chemdraw Professional 15.0*. Selain itu, penelitian ini juga memanfaatkan program berbasis web, yaitu *Pubchem*, *SwissADME*, *pkSCM* dan *Protein Data Bank (PDB)*.

3.4 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di ruang Laboratorium Komputasi, Program Studi Farmasi, Universitas Buana Perjuangan Karawang.

3.5 Waktu Penelitian

Penelitian ini berlangsung pada bulan Februari 2025 sampai dengan Mei 2025.

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Preparasi Ligan

Ligan alami terlebih dahulu dilakukan anhidrasi untuk menghilangkan molekul air, kemudian dipisahkan menggunakan perangkat lunak BIOVIA *Discovery Studio* 2024. Sebagai langkah paralel, struktur ligan uji dipreparasi secara dua dimensi dengan *ChemDraw Professional* 15.0, diikuti oleh pemodelan tiga dimensi dan minimisasi energi menggunakan *Chem3D* 15.0 dan disimpan dalam format .mol2. Selanjutnya, ligan alami dan ligan uji dipreparasi dengan *AutoDockTools*-1.5.7 melalui penambahan muatan Gasteiger, penambahan atom hidrogen, penggabungan senyawa non-polar, serta penentuan derajat kebebasan torsi. Tahapan preparasi diakhiri dengan penyimpanan seluruh ligan dalam format .pdbqt.

3.6.2 Preperasi Reseptor

Reseptor AChE dengan kode 1EVE dan 4EY7 diperoleh dari *Protein Data Bank* melalui situs (<http://www.rcsb.org/>) dalam format .pdb. Setelah itu, reseptor dipisahkan dari ligan alaminya dan dilakukan preparasi, yang mencakup penghapusan molekul air serta penambahan proton pada struktur reseptor. Hasil preparasi tersebut kemudian disimpan kembali dalam format .pdbqt untuk analisis lebih lanjut.

3.6.3 Identifikasi Reseptor Target

Identifikasi reseptor target dilakukan dengan meninjau profil reseptor menggunakan kode PDB yang telah dipilih. Kode tersebut dimasukkan ke situs <http://www.ebi.ac.uk/pdbsum/>, sehingga profil data reseptor dapat ditampilkan untuk dianalisis (Ruswanto, Mardianingrum, Siswandono, & Kesuma, 2020).

3.6.4 Validasi *Docking*

Proses ini dilakukan untuk memastikan metode yang digunakan valid. Reseptor target yang telah diunduh kemudian divalidasi dengan menggunakan ligan alaminya melalui metode *docking*. Validitas metode

ini dianalisis menggunakan parameter *root-mean-square deviation* (RMSD). Metode *docking* dinyatakan valid jika nilai RMSD yang dihasilkan ≤ 2 Å (Ruswanto *et al.*, 2020).

3.6.5 Molecular Docking

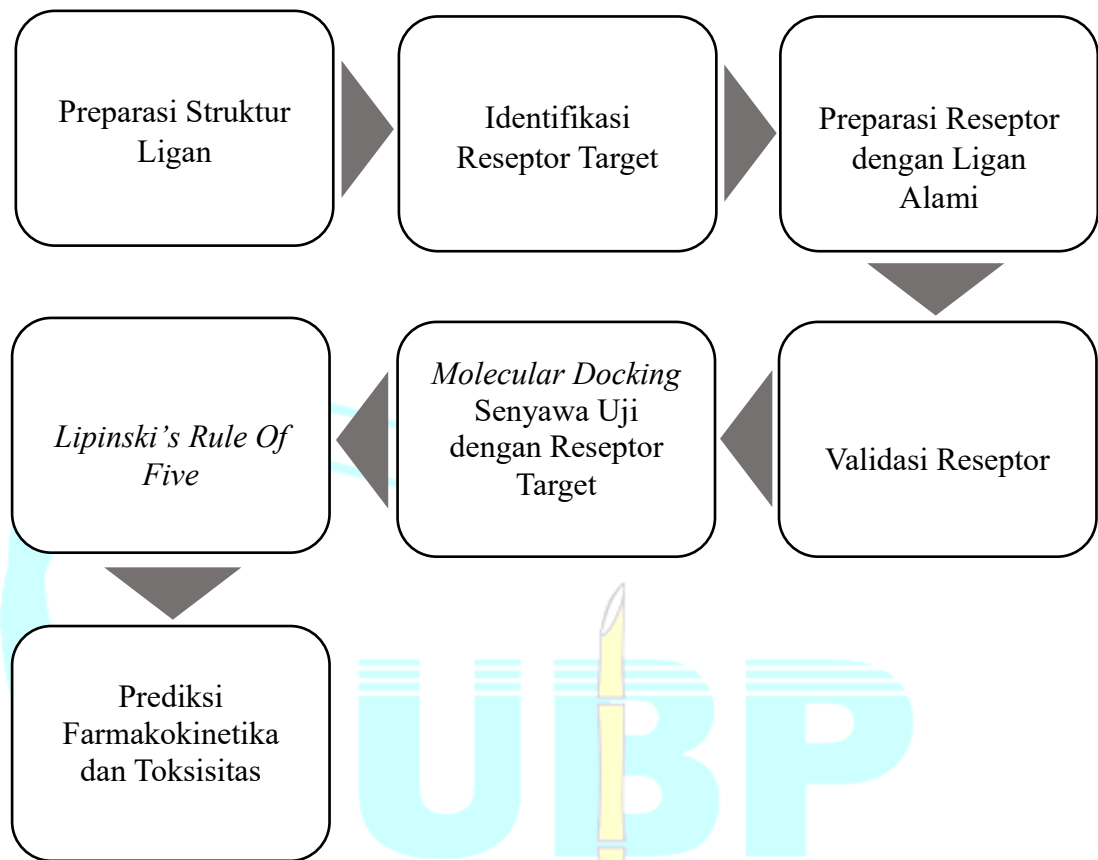
Setelah proses preparasi, *docking* dilakukan menggunakan *AutoDock Vina* dengan memasang ligan pada sisi aktif reseptor target (Riverson *et al.*, 2021). Proses ini bertujuan untuk memprediksi afinitas ikatan dan orientasi terbaik ligan berdasarkan skor energi ikatan. Senyawa hasil *docking* terbaik kemudian divisualisasikan menggunakan perangkat lunak *Discovery Studio 2024* untuk mengamati interaksi dalam bentuk dua dan tiga dimensi (Ruswanto *et al.*, 2022).

3.6.6 Prediksi Profil Farmakokinetika dan Toksisitas

Uji terhadap absorpsi, distribusi, metabolisme, dan toksisitas dilakukan menggunakan program pkCSM yang dapat diakses melalui laman <https://biosig.lab.uq.edu.au/pkcsm/prediction>. Sebelum menggunakan program ini, struktur senyawa dari kandidat terbaik diubah terlebih dahulu ke dalam format molfile (*.mol2). Program pkCSM kemudian akan menghitung secara otomatis profil farmakokinetik dengan mempertimbangkan beberapa parameter, seperti *Human Intestinal Absorption* (HIA), Caco-2, dan interaksi dengan protein plasma.

3.6.7 Diagram Penelitian

Berikut ini adalah diagram kegiatan ketika melakukan penelitian :



Gambar 3. 1 Diagram Alir Penelitian