

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan yaitu penelitian eksperimental *in silico* dengan pemodelan *molecular docking* untuk menguji efek kuersetin, kurkumin dan gedunin serta masing-masing kelima turunannya sebagai penghambat enzim BChE dalam upaya pencegahan Alzheimer dengan memanfaatkan perangkat *Avogadro*, *Molegro* dan *Discovery Studio*.

3.2 Sampel

Sampel dalam penelitian ini terdiri dari senyawa kuersetin, kurkumin, dan gedunin beserta beberapa turunannya yang dipilih berdasarkan referensi ilmiah mengenai potensi aktivitas neuroprotektifnya. Turunan dari kuersetin yang digunakan meliputi kaempferol, myricetin, luteolin, tamarixetin, dan isorhamnetin; turunan kurkumin meliputi dihydrocurcumin, bisdemethoxycurcumin, demethoxycurcumin, cyclocurcumin, dan tetrahydrocurcumin; sedangkan turunan gedunin meliputi 6-alpha-acetoxygedunin, 7-deacetyl-oxogedunin, andirobin, methyl angolensate, dan deacetylgedunin. Struktur tiga dimensi dari setiap senyawa diperoleh dari basis data PubChem, kemudian dianalisis aktivitasnya sebagai penghambat enzim *Butyrylcholinesterase* menggunakan metode pemodelan molekuler secara *in silico* untuk mendukung pengembangan terapi pencegahan penyakit *Alzheimer's disease*.

3.3 Bahan dan Alat

3.3.1 Bahan

Bahan yang digunakan berupa struktur tiga dimensi dari reseptor enzim *Butyrylcholinesterase* dengan kode PDB ID: 5K5E yang diperoleh dari Protein Data Bank, serta struktur tiga dimensi dari senyawa alam kuersetin, kurkumin, dan gedunin beserta turunannya. Turunan kuersetin

yang digunakan meliputi kaempferol, myricetin, luteolin, tamarixetin, dan isorhamnetin; turunan kurkumin meliputi dihydrocurcumin, bisdemethoxycurcumin, demethoxycurcumin, cyclocurcumin, dan tetrahydrocurcumin; sedangkan turunan gedunin meliputi 6-alpha-acetoxygedunin, 7-deacetyl-oxogedunin, andirobin, methyl angolensate, dan deacetylgedunin.

3.3.2 Alat

Penelitian memanfaatkan komputer dengan spesifikasi minimal RAM 16 GB dan prosesor multicore, serta perangkat lunak *Avogadro*, *Molegro* dan *BIOVIA Discovery Studio* sebagai alat analisis, visualisasi, serta proses validasi struktur dan interaksi protein-ligan.

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 November 2025 sampai dengan Maret 2026.

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Preparasi Ligan

Ligan alami terlebih dahulu diproses dengan menghilangkan molekul air (*dehydration*) dari kompleks protein. Selanjutnya, ligan uji dipreparasi menggunakan perangkat lunak *Molegro Virtual Docker* melalui penambahan atom hidrogen, optimasi geometri molekul, serta pengaturan fleksibilitas ligan sebelum dilakukan proses *molecular docking*. Tahap preparasi ini dilakukan untuk memperoleh struktur ligan yang stabil sehingga dapat berinteraksi secara optimal dengan reseptor. Setelah proses preparasi selesai, seluruh struktur ligan disimpan dalam format file yang sesuai untuk digunakan pada tahap simulasi docking selanjutnya.

3.6.2 Preparasi Reseptor

Reseptor BChE dengan kode 5K5E diunduh dari Protein Data Bank dalam format .pdb. Struktur reseptor kemudian dipisahkan dari ligan bawaan, dibersihkan dengan menghilangkan molekul air dan penambahan proton pada residu yang diperlukan, lalu disimpan kembali dalam format .pdbqt untuk tahap analisis berikutnya.

3.6.3 Identifikasi Reseptor Target

Identifikasi reseptor target dilakukan dengan menelusuri profil struktur reseptor berdasarkan kode PDB yang telah ditentukan. Kode tersebut kemudian dimasukkan ke situs <http://www.ebi.ac.uk/pdbsum/>, untuk menampilkan informasi lengkap mengenai reseptor sehingga dapat dianalisis lebih lanjut (Ruswanto *et al.*, 2020).

3.6.4 Molecular Docking

Molecular docking merupakan metode komputasi yang digunakan untuk memprediksi cara suatu ligan berikatan dengan protein target, meliputi posisi ligan pada sisi ikat serta kekuatan interaksinya berdasarkan perhitungan energi. Pada penelitian ini, *molecular docking* dilakukan terhadap reseptor *butirilkolinesterase* (BChE) yang telah dipreparasi menggunakan perangkat lunak *Molegro* dengan menempatkan ligan pada situs aktif reseptor untuk memperoleh nilai afinitas ikatan dan orientasi ligan yang paling stabil.

Sebelum proses *docking* ligan uji dilakukan, metode *docking* terlebih dahulu divalidasi untuk memastikan keandalan dan akurasi protokol yang digunakan. Validasi dilakukan melalui proses redocking menggunakan ligan ko-kristal pada reseptor BChE, kemudian tingkat kesesuaian antara posisi ligan hasil redocking dan ligan asli dievaluasi berdasarkan nilai *root mean square deviation* (RMSD). Metode docking dinyatakan valid apabila nilai RMSD berada ≤ 2 Å. Hasil docking dengan nilai afinitas terbaik selanjutnya divisualisasikan menggunakan perangkat lunak *Discovery Studio 2024* untuk mengamati pola interaksi ligan-

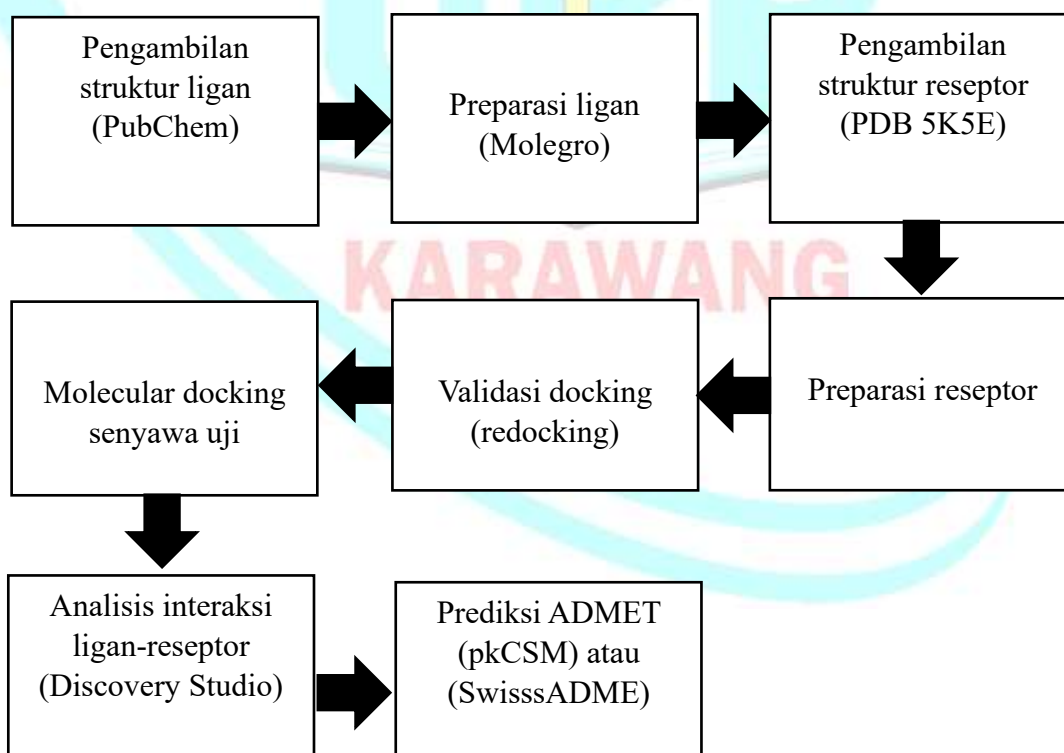
reseptor, baik dalam tampilan dua maupun tiga dimensi (Ruswanto *et al.*, 2020).

3.6.5 Prediksi Profil Farmakokinetika dan Toksisitas

Profil farmakokinetik senyawa dianalisis menggunakan pkCSM atau SwissADME melalui situs resmi. Sebelum dianalisis, struktur senyawa dikonversi ke format molfile (mol2). Program secara otomatis menghitung parameter ADMET yang relevan, meliputi LogS (kelarutan), LogP (lipofilisitas), Human Intestinal Absorption (HIA), permeabilitas *Blood–Brain Barrier* (BBB), dan Ames toxicity (potensi mutagenik). Hasilnya disajikan dalam tabel untuk memudahkan evaluasi sifat farmakokinetik setiap ligan.

3.6.6 Diagram Penelitian

Berikut ini adalah diagram kegiatan ketika melakukan penelitian :



Gambar 3. 1 Diagram Alir Penelitian