

BAB 3 PROSEDUR PENELITIAN

3.1 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam suatu penelitian merupakan cara ilmiah untuk memperoleh data dengan tujuan dan kegunaan tertentu (Sugiyono, 2017). Metode penelitian yang dilakukan pada penelitian ini adalah deskriptif kualitatif secara *in silico* dengan teknik *molecular docking*, untuk mengolah dan menginterpretasikan data yang diperoleh dari *database* dan perangkat lunak yang digunakan. Penelitian diawali dengan analisis *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS) untuk mengidentifikasi senyawa bioaktif dalam gula aren yang berpotensi sebagai antihipertensi. Reseptor yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Angiotensin converting enzyme* (ACE) sebagai target protein. Teknik *molecular docking* dilakukan menggunakan *PyRx*, sedangkan analisis interaksi molekululer dilakukan dengan *BIOVIA Discovery Studio*. Analisis *docking* bertujuan untuk mengevaluasi *binding affinity* atau energi afinitas pengikatan senyawa dengan protein target. Semakin rendah nilai *binding affinity* semakin kuat interaksi antara senyawa dengan protein target, yang dapat mendukung potensi antihipertensi senyawa tersebut. Senyawa yang diuji dibandingkan dengan captopril sebagai control positif. Selain *molecular docking*, penelitian ini juga dilakukan prediksi fisikokimia, farmakokinetik dan toksisitas senyawa menggunakan *SwissADME* dan *Protox-II*. Analisis fisikokimia dilakukan berdasarkan *Lipinski's Rule of Five*, yang merupakan aturan untuk mengevaluasi kelayakan suatu senyawa sebagai kandidat obat oral. Analisis farmakokinetik dilakukan untuk mengevaluasi penyerapan, distribusi, metabolisme, dan ekskresi senyawa. Sementara itu, analisis toksisitas bertujuan untuk mengidentifikasi potensi efek samping atau toksisitas senyawa, termasuk klasifikasi tingkat toksisitas berdasarkan parameter yang telah ditentukan. Hasil dari semua analisis ini digunakan untuk menilai kelayakan senyawa bioaktif dalam gula aren sebagai kandidat obat antihipertensi yang potensial.

3.2 Ruang Lingkup Penelitian (Fokus Penelitian)

Hal yang menjadi fokus penelitian dari penelitian yang akan dilakukan adalah melakukan analisis *in silico* pada senyawa-senyawa bioaktif yang terdapat pada gula aren dengan ACE inhibitor melalui teknik *molecular docking*. Hasil yang akan dianalisis adalah pengujian GC-MS, *molecular docking* dengan menggunakan tiga parameter utama, yaitu nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD), *binding affinity* dan interaksi ligan dengan residu asam amino pada reseptor, prediksi fisikokimia, farmakokinetik dan tingkat toksisitas pada senyawa bioaktif gula aren. Sehingga akan mendapatkan kesimpulan apakah gula aren berpotensi menjadi kandidat obat mencegah hipertensi atau tidak.

3.3 Sumber Data Penelitian

Sumber data yang diperlukan dalam penelitian ini yaitu sumber data sekunder. sumber data sekunder adalah sumber data yang tidak memberikan data secara langsung kepada peneliti, melainkan melalui dokumen atau informasi dari pihak lain. Sumber data dalam penelitian ini diperoleh dari hasil studi literatur dari jurnal-jurnal ilmiah mengenai penelitian *in silico*, hasil pengujian GCMS dan buku-buku yang digunakan sebagai sumber penelitian. Ligan uji maupun ligan kontrol yang digunakan di peroleh dari data base PubChem. Sedangkan reseptor di unduh dari RCSB Protein Data Bank (PDB).

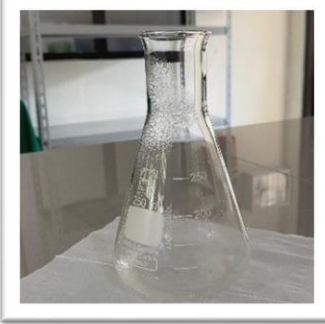
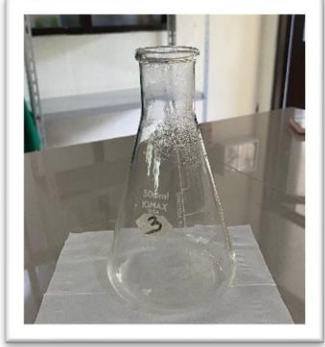
3.4 Langkah-langkah Penelitian

3.4.1 Alat dan Bahan

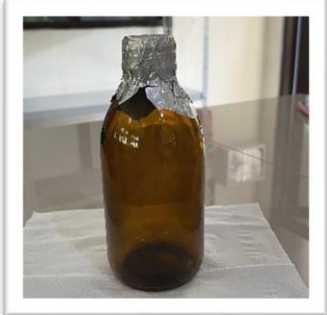
1. Alat dan bahan yang digunakan untuk proses identifikasi senyawa bioaktif gula aren menggunakan GCMS sebagai berikut.

Tabel 3.1 Alat dan bahan untuk pengujian GC-MS

No .	Alat dan Bahan	Spesifikasi dan Kegunaan	Jumlah	Gambar
1.	Gula Aren	Gula aren dibeli dari pedagang di desa Langkaplancar, Kecamatan Langkaplancar, Kabupaten Pangandaran. Gula aren ini terkenal keasliannya.	1 bungkus	
2.	Autoklaf	Autoclave all American untuk mensterilkan alat	1 buah	
3.	Ethanol	Kadar ethanol 96%, digunakan sebagai pelarut pada proses maserasi.	1 liter	
4.	Timbangan	Untuk mengukur berat simplisia pada proses maserasi.	1 buah	

				
5.	<i>Chopper</i>	Untuk menghaluskan gula aren pada proses maserasi.	1 buah	
6.	Labu Erlenmeyer	Tipe Pyrx, ukuran 250ml digunakan sebagai wadah untuk proses maserasi	2 buah	
7.	Labu Erlenmeyer	Type pyrx, ukuran 500ml digunakan sebagai wadah untuk proses maserasi.	2 buah	

8.	Thermoshaker	Thermoshake 500 gerhardt digunakan untuk menghomogenkan simplisia dan pelarut ethanol.	1 buah	
9.	Alumunium foil	Digunakan untuk membungkus alat yang akan di sterilisasi	1 roll	
10.	Kertas Saring	Digunakan untuk memisahkan ekstrak dari ampas.	6 buah	
11.	Corong	Digunakan dalam proses ekstraksi maserasi.	1 buah	

12.	Botol Kaca Gelap	Digunakan untuk menyimpan ekstrak agar terlindungi dari cahaya.	1 buah	
13.	Sarung Tangan	Digunakan untuk melindungi tangan, menjaga kebersihan dan mencegah kontaminasi.	3 pasang	
14.	Plastic Wrap	Digunakan dalam proses ekstraksi maserasi.	1 roll	
15.	<i>Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GCMS)</i>	Digunakan untuk mengidentifikasi senyawa yang terkandung dalam ekstrak gula aren.	1 buah	

2. Alat dan Bahan untuk Pengujian *In silico*

Alat yang digunakan dalam penelitian ini berupa perangkat keras (*hardware*) dan perangkat lunak (*software*). Perangkat keras (*hardware*) yang

digunakan yaitu laptop HP 14s-DQ0XXX dengan spesifikasi *processor intel® Celeron® N4120 CPU @ 1.10GHz*, RAM 4,00 GB, *system type 64-bit operating system, x64-based processor*.

Sedangkan perangkat lunak (*software*) yang digunakan berupa sistem operasi *Windows 11 Home Single Language*, aplikasi *BIOVIA Discovery Studio Visualizer*, *PyRx*, *Protein Data Bank* (<https://rcsb.org/>), *Pubchem* (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>), *SwissADME* (<http://www.swissadme.ch/>), dan *ProTox II* (https://tox-new.charite.de/prottox_II/index.php?site=home). Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu struktur 3 dimensi *angiotensin converting enzyme* (ACE) dengan kode 1O86 yang di *download* dari *Protein Data Bank* dalam format **pdb* dan struktur 3D senyawa bioaktif gula aren yaitu sebagai ligan yang diunduh dari situs PubChem dalam format **sdf*.

3.4.2 Pembuatan Ekstrak Ethanol Gula Aren (*Arenga pinnata*)

Tahap ekstraksi gula aren meliputi beberapa langkah, yaitu penyiapan sampel, sterilisasi, pembuatan simplisia, dan proses ekstraksi. Sampel yang digunakan adalah 30gram gula aren. Tahap selanjutnya adalah sterilisasi alat yang bertujuan untuk meminimalisasi kontaminasi mikroorganisme yang dapat memengaruhi hasil penelitian. Langkah-langkah sterilisasi yang dilakukan adalah sebagai berikut:

- a) Alat yang akan digunakan cuci terlebih dahulu, lalu keringkan dengan tisu.
- b) Alat yang sudah dikeringkan, dibungkus dengan *aluminium foil* pada bagian tutupnya.
- c) Lapsi tutup yang sudah dibungkus dengan aluminium tadi dengan *plastic wrap*.
- d) Alat yang sudah siap kemudian dimasukan ke dalam plastik piala dan diikat dengan karet.
- e) Masukan alat tersebut ke dalam autoklaf selam 2 jam dengan pada suhu 40°C.
- f) Matikan pemanas, tunggu hingga tekanan autoklaf mencapai titik nol.
- g) Keluarkan alat dari autoklaf, tiriskan, dan dinginkan.
- h) Alat siap digunakan



Gambar 3.1 Proses sterilisasi

Sumber: Dokumentasi Pribadi

Proses pembuatan simplisia gula aren dengan langkah-langkah sebagai berikut:

- a) Gula aren yang akan di ekstraksi harus dihancurkan atau dipotong menjadi bagian kecil untuk meningkatkan luas permukaan kontak dengan pelarut.
- b) Lakukan penyaringan menggunakan saringan hingga yang tersisa adalah bubuk halus



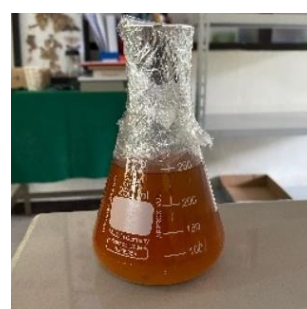
Gambar 3. 2 Proses pembuatan simplisia

Sumber: Dokumentasi Pribadi

Proses pembuatan ekstrak gula aren dengan metode maserasi yaitu sebagai berikut:

- a) Timbang 30gram serbuk gula aren menggunakan timbangan analitik.
- b) Siapkan 300 ml ethanol dengan konsentrasi 96%.
- c) Masukkan 30gram serbuk gula aren ke dalam labu erlenmeyer ukuran 300 ml.

- d) Tambahkan ethanol 96% ke dalam yang berisi gula aren dengan perbandingan 1:10.
- e) Kemudian labu erlenmeyer ditutup menggunakan aluminium foil dan *plastic wrap*
- f) Masing-masing labu erlemeyer dihomogenisasi selama 6 jam dengan suhu 27°C.
- g) Larutan yang sudah dihomogenitas lalu dipindahkan dan saring ke labu erlenmeyer ukuran 500 ml menggunakan kertas saring.
- h) Lalu labu erlenmeyer tersebut ditutup dengan aluminium foil dan *plastic wrap*.
- i) Simpan selama 1 hari di tempat yang terhindar dari sinar matahari.
- j) Lakukan 2 kali penyaringan dengan kertas saring.
- k) Setelah penyaringan selesai, masukan masukan ekstrak ke dalam botol yang berukuran 200 ml yang ditutup dengan dilapisi *aluminium foil* dan *plastic wrap*.
- l) Kemudian ekstrak diidentifikasi senyawa bioaktifnya menggunakan filtrat akhir maserasi yang selanjutnya dilakukan uji *Gas Chromatography Mass Spectrometry* (GCMS).





Gambar 3. 3 Proses pembuatan simplisia

Sumber: Dokumentasi Pribadi

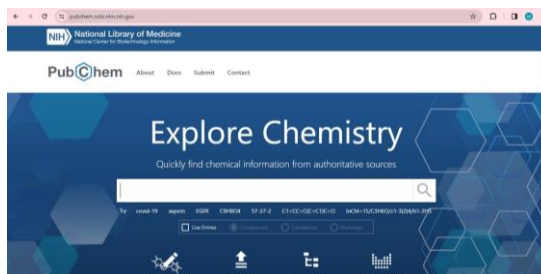
3.4.3 Identifikasi Senyawa Bioaktif menggunakan GC-MS

Tujuan mengidentifikasi senyawa bioaktif gula aren menggunakan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* sebelum dilakukan analisis *in silico* adalah untuk mendeteksi dan mengidentifikasi senyawa kimia yang terkandung dalam gula aren secara akurat. Teknik ini memisahkan senyawa berdasarkan massa dan struktur kimianya, sehingga memberikan gambaran jelas tentang komposisi kimia bioaktif yang terdapat dalam sampel. Setelah senyawa-senyawa teridentifikasi, informasi ini digunakan sebagai dasar dalam proses *in silico*. Dalam studi *in silico*, struktur kimia senyawa yang diidentifikasi dari hasil GC-MS akan digunakan untuk simulasi interaksi dengan target enzim terkait hipertensi. Dengan demikian, analisis GC-MS memberikan langkah awal yang penting untuk menentukan senyawa mana yang memiliki potensi sebagai agen hipertensi sebelum dilakukan uji *in silico*. Pengujian GC-MS ini dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada (LPPT UGM).

3.4.4 Tahap Pencarian dan Pengunduhan Ligan

Pencarian ligan uji berupa senyawa bioaktif dari gula aren berdasarkan hasil uji GC-MS, serta ligan kontrol berupa captopril, dilakukan melalui studi pustaka dari artikel-artikel yang telah meneliti senyawa bioaktif sebagai kandidat antihipertensi. Selanjutnya, berkas ligan uji dan ligan kontrol diunduh dari situ web PubChem dalam bentuk struktur 3D dan disimpan dalam format sdf dengan langkah-langkah sebagai berikut:

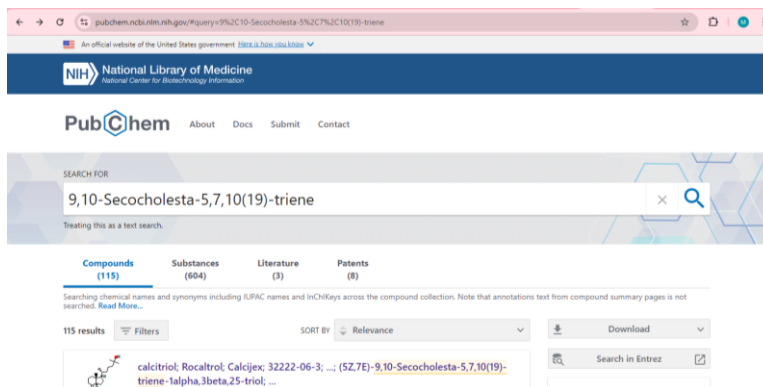
- 1) Mengakses alamat web *PubChem* pada (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) seperti gambar dibawah ini.



Gambar 3. 4 Tampilan awal *PubChem*

Sumber: Dokumentasi Pribadi

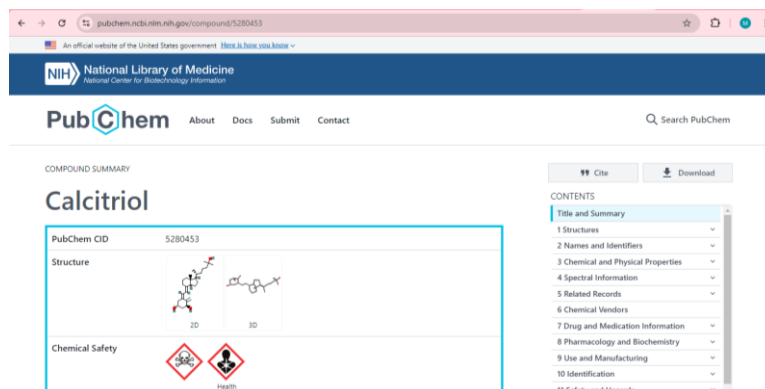
- 2) Selanjutnya masukkan senyawa kimia yang dibutuhkan ditulis pada menu pencarian kemudian tekan *enter* untuk memulai pencarian.
- 3) Hasil pencarian tersebut otomatis akan terbuka pada halaman web. Kemudian klik pada hasil yang paling memenuhi kebutuhan atau *best mach* untuk membuka informasi lebih. Tampilan tersebut dapat dilihat pada gambar dibawah ini.



Gambar 3. 5 Kolom pencarian ligan di *PubChem*

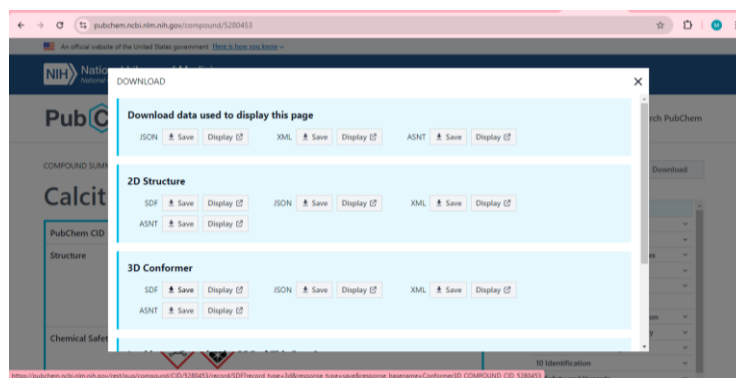
Sumber: Dokumentasi Pribadi

- 4) Selanjutnya, halaman berisi data informasi yang lebih lengkap mengenai senyawa tersebut akan otomatis terbuka. Tampilan data informasi tersebut dapat dilihat pada gambar berikut.



Gambar 3. 6 Tampilan hasil pencarian ligan di PubChem

- 5) Setelah itu melakukan pengunduhan struktur 3D dengan klik **Download** dan pilih **SDF Save** pada kolom content **3D conformer**.
- 6) Setelah itu melakukan pengunduhan struktur 3D dengan klik **Download** dan pilih **SDF Save** pada kolom content **3D conformer** seperti pada gambar dibawah ini.



Gambar 3. 7 Tampilan pengunduhan ligan di PubChem

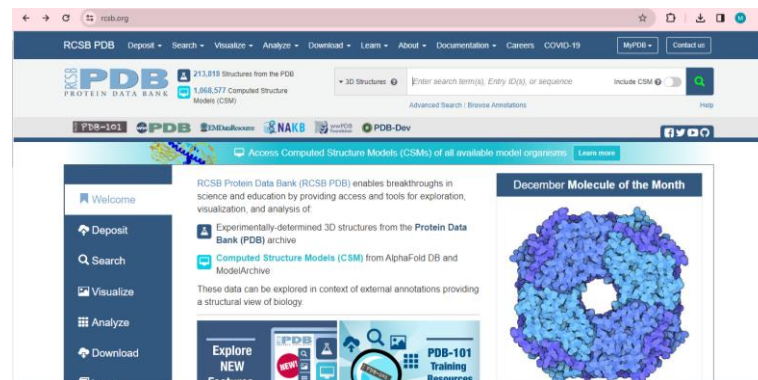
Sumber: Dokumentasi Pribadi

3.4.5 Tahap Pencarian dan Pengunduhan Reseptor

Pada tahap ini menentukan protein target atau reseptor yang ingin ditambatkan dengan molekul ligan. Protein target ini terkait dengan penyakit atau kondisi tertentu yang ingin diteliti. Pencarian reseptor dilakukan dengan cara mencari informasi dari jurnal ilmiah, basis data, dan situs web yang terpercaya. Dari beberapa jurnal ditemukan bahwa *Angiotensin Converting Enzyme (ACE)* kode 1086 merupakan salah satu reseptor utama dalam regulasi tekanan darah serta

paling umum dihambat untuk mengatasi hipertensi. Kemudian, reseptor tersebut diunduh dalam bentuk *.pdb di laman *RCSB PDB* dengan langkah sebagai berikut:

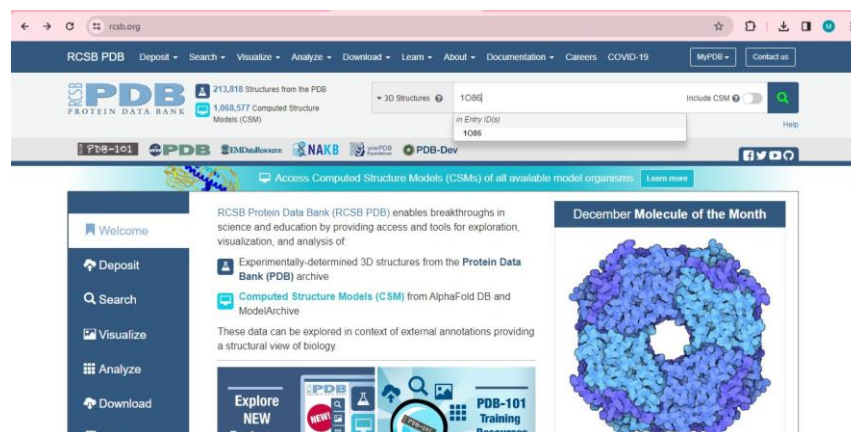
- 1) Mengakses alamat website PDB di <http://www.rcsb.org> seperti gambar di bawah ini.



Gambar 3. 8 Tampilan awal RCSB

Sumber: Dokumentasi Pribadi

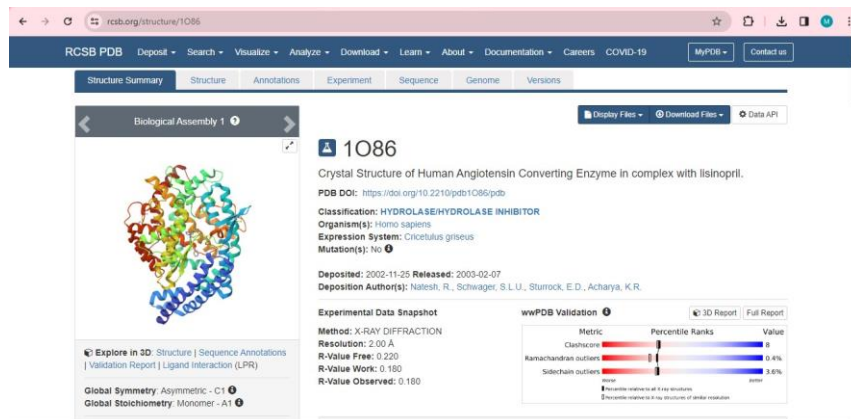
- 2) Selanjutnya menuliskan nama protein reseptor pada kolom pencarian, yaitu 1O86 seperti pada gambar dibawah ini.



Gambar 3. 9 Pencarian reseptor di RCSB

Sumber: Dokumentasi Pribadi

- 3) Klik **Download Files** lalu pilih **PDB Format**. Tampilan *Download Files* dapat dilihat pada Gambar di bawah ini.

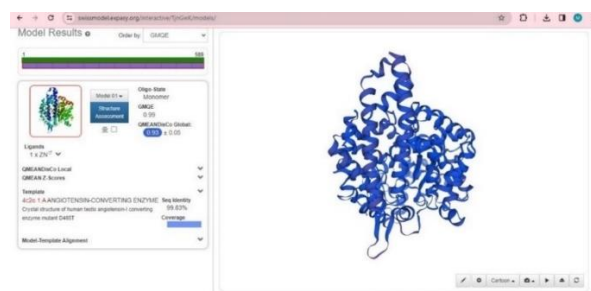


Gambar 3. 10 Tampilan download file reseptor 1O86 di RCSB

Sumber: Dokumetasi Pribadi

3.4.6 Pemodelan dan Validasi Reseptor

Pemodelan protein target dianalisis secara *in-silico* yang dapat menyediakan informasi dalam memahami karakter, sifat, dan interaksi protein di tingkat molekuler. Pemodelan dilakukan melalui pendekatan homologi menggunakan SWISS MODEL memasukkan *sequence* protein target pada *upload target sequence* file, kemudian memilih *build model* untuk mendapatkan hasil prediksi protein target. Hasil pemodelan dilakukan dengan memilih *template* dengan *identity* tertinggi. Template dengan *identity* tertinggi akan mengurangi kesalahan dalam memprediksi struktur tiga dimensi protein target.



Gambar 3. 11 Tampilan download file reseptor 1O86 di RCSB

Sumber: Dokumentasi Pribadi

3.4.7 Tahap Preparasi Ligan dan Reseptor

File ligan yang telah diunduh dari aplikasi PubChem dengan format **sdf* diubah menjadi format **pdb* menggunakan aplikasi *Biovia Discovery Studio*.

Kemudian simpan file tersebut dengan nama file “ligan” dalam format *.pdb. Sementara itu, untuk preparasi reseptor diawali dengan cara membuka struktur reseptor yang telah diunduh dari website *Protein Data Bank* (<http://www.rcsb.org>) kemudian untuk menseleksi menggunakan aplikasi *BIOVIA Discovery Studio*. Struktur reseptor tersebut dibuka untuk menghilangkan molekul air dan memisahkan reseptor dengan ligan alaminya. Reseptor dan ligan yang telah di pisahkan kemudian di simpan dalam format *.pdb.

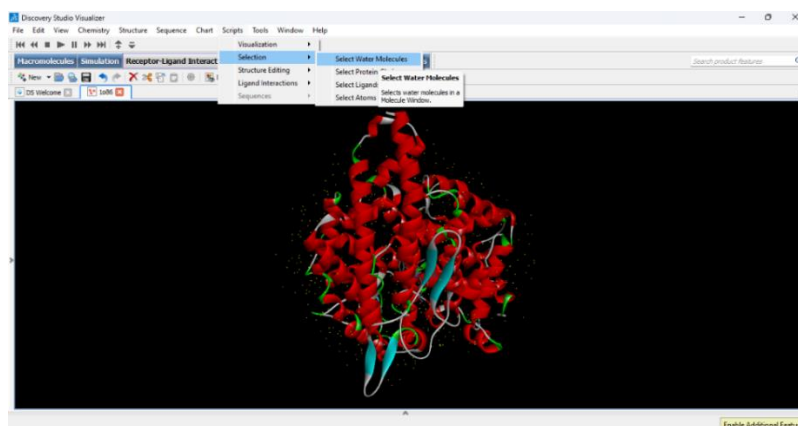


Gambar 3. 12 Logo aplikasi BIOVIA Discovery Studio

Sumber: Dokumentasi Pribadi

Langkah-langkah untuk menseleksi atau menghilangkan molekul air dan ligan alami menggunakan aplikasi *BIOVIA Discovery Studio* adalah sebagai berikut:

- 1) Untuk menyeleksi, buka aplikasi *BIOVIA Discovery Studio*. Kemudian klik open, pilih protein target yang sudah di unduh.
- 2) Kemudian klik *scripts*, *selection*, *select water molecule* dan klik edit kemudian *delete*.



Gambar 3. 13 Tahap menghapus molekul air

Sumber: Dokumentasi Pribadi

- 3) Selanjutnya, melakukan preparasi dengan cara menghapus atau menghilangkan ligan alami atau molekul-molekul yang berikatan pada protein. Klik *hetatm* yang merupakan ligan-ligan yang berikatan pada protein kemudian klik delete. Kemudian *save as* dalam bentuk *.pdb.

3.4.8 Tahap Docking Ligan dan Reseptor

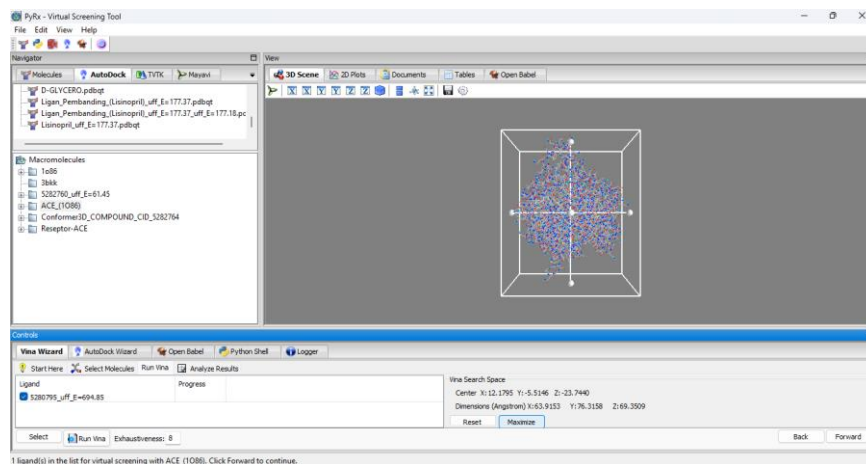
Pada proses *docking* menggunakan aplikasi *PyRx* dengan sistem *Autodock Vina*. Struktur makromolekul dan ligan yang telah dioptimasi secara terpisah dalam satu folder yang sama. Proses *docking* dilakukan dengan menggunakan *gridbox* dan parameter minimasi energi sesuai hasil validasi.



Gambar 3. 14 Logo aplikasi *PyRx*

Berikut merupakan langkah-langkah proses docking menggunakan aplikasi *PyRx*:

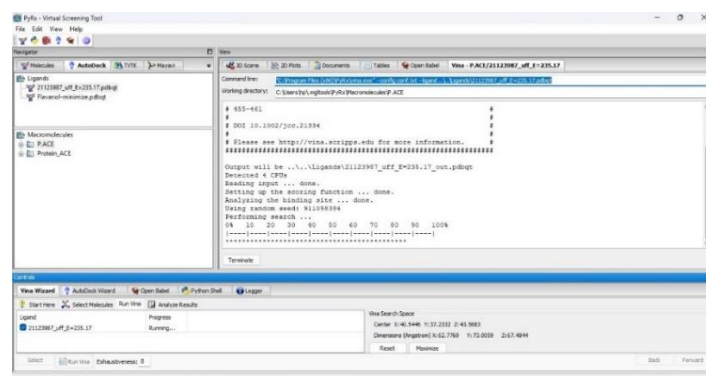
- 1) Langkah pertama yaitu membuka aplikasi *PyRx*. Klik *load molecule*, yang di *load molecule* adalah protein dan ligan.
- 2) Selanjutnya untuk ligannya di preparasi terlebih dahulu dengan cara klik *open babel*→*insert new item*→pilih file ligannya dalam bentuk *.sdf→klik formula→klik kanan→klik *minimize selected*. Nanti akan terlihat energinya telah di minimalisir untuk mempermudah dalam *docking*.
- 3) Klik kanan dan klik *convert selected to Autodock Ligan (pdbqt)*.
- 4) Langkah selanjutnya, klik kanan→*Autodock*→*Make macromolecule*.
- 5) Setelah itu, klik *vina wizard*→*start*, untuk langkah docking→klik protein ACE dan ligan→*forward*→*maximize*→*forward*. Menyesuaikan nilai *grid box* pada jendela “vina search space”, kemudian klik *run vina*.



Gambar 3. 15 Tahap Penyesuaian Grid Box

Sumber: Dokumentasi Pribadi

- 6) Tunggu beberapa menit untuk proses *running docking*. Pada aplikasi PyRx ini menggunakan *Autodock Vina* dan *open babel* yang terintegrasi dalam satu software.

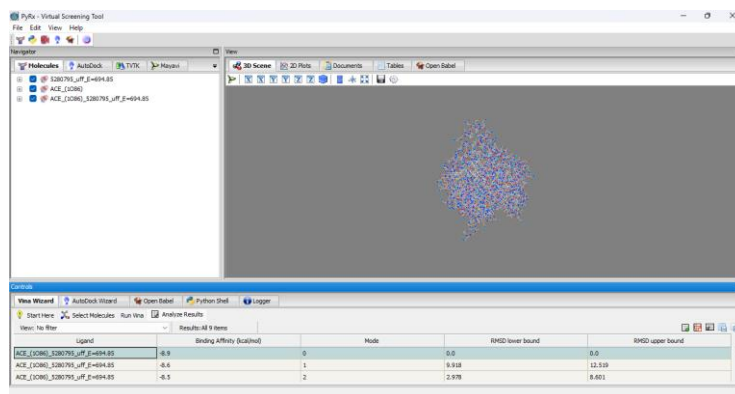


Gambar 3. 16 Proses *running docking*

Sumber: Dokumentasi Pribadi

- 7) Selanjutnya, akan terlihat hasil *binding affinity*. Hasil *binding affinity* yang dipilih yaitu nilai *root mean square deviation* (RMSD) atau jarak ikatannya 0.0, karena RMSD ini menyatakan jarak penyimpangan *native ligand* dengan protein setelah di *docking* terhadap posisi ikatan *native ligand* yang sebenarnya. Nilai RMSD yang semakin rendah dapat memprediksi pose ligan yang semakin baik karena semakin dekat dengan konformasi

native ligand. Semakin negative nilai afinitas ikatan maka semakin kuat interaksi antara ligan dengan protein.



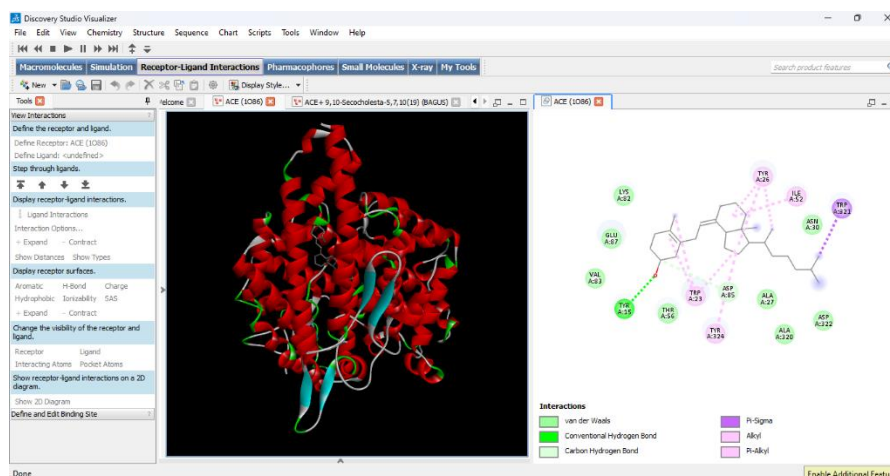
Gambar 3. 17 Tampilan setelah docking

Sumber: Dokumentasi Pribadi

Selain itu, model docking terbaik di pilih berdasarkan energi terendah dan konformasi pengikatan yang paling cocok di pilih berdasarkan interaksi ikatan *hydrogen* antara ligan dan protein di dekat pengikatan substrat. Pose energi terendah menunjukkan afinitas pengikatan tertinggi karena energi tinggi menghasilkan konformasi yang tidak stabil.

3.4.9 Visualisasi Hasil Docking

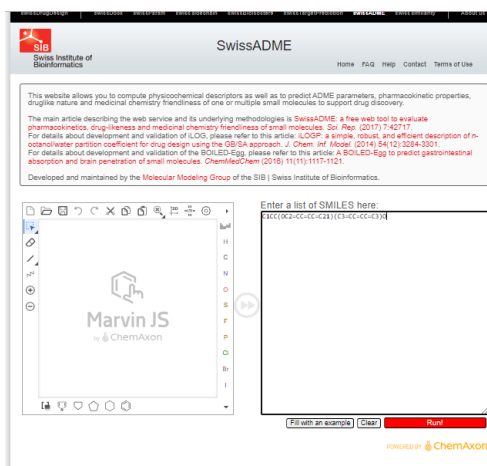
Visualisasi hasil docking dilakukan menggunakan *software BIOVIA Discovery Studio* untuk dilihat bentuk interaksinya antara senyawa uji dengan residu asam amino pada resptor dalam bentuk 3D maupun 2D.



Gambar 3. 18 Visualisasi hasil docking

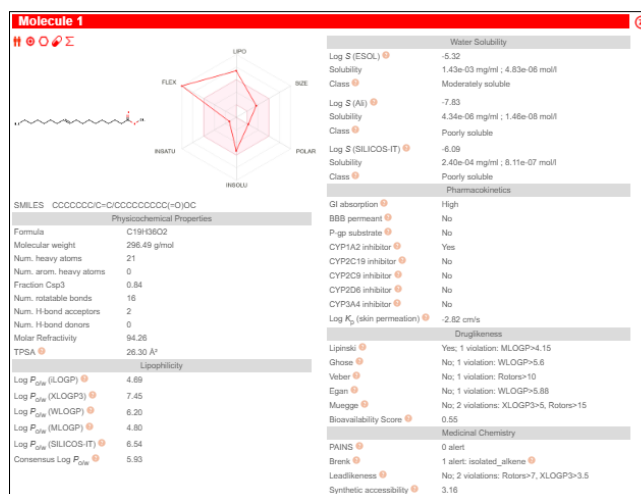
3.4.10 Tahap Analisis Sifat Fisikokimia dan Farmakokinetik

Identifikasi sifat fisikokimia dari senyawa uji menggunakan *website SwissADME* (<http://www.swissadme.ch/>) untuk menentukan parameter fisikokimia beserta profil farmakokinetika. *SwissADME* memungkinkan penilaian parameter ADME dan kandidat obat dan molekul kecil memberikan informasi yang memungkinkan penilaian risiko dini dalam pengembangan obat. Langkah pertama untuk analisis fisikokimia dan farmakokinetik menggunakan *SwissADME* yaitu memasukkan *Canonical Smiles* dari senyawa uji yang dapat diperoleh dari situs web PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Kode *Canonical Smiles* yang di dapatkan di input dalam kolom yang sudah di sediakan pada *website SwissADME*.



Gambar 3. 19 Tampilan awal web server *SwissADME*

Selanjutnya klik tombol *run*. Sehingga molekul akan di proses, dianalisis, dan di prediksi sifat-sifat fisikokimia, farmakokinetik, druglikeness dan sebagainya.

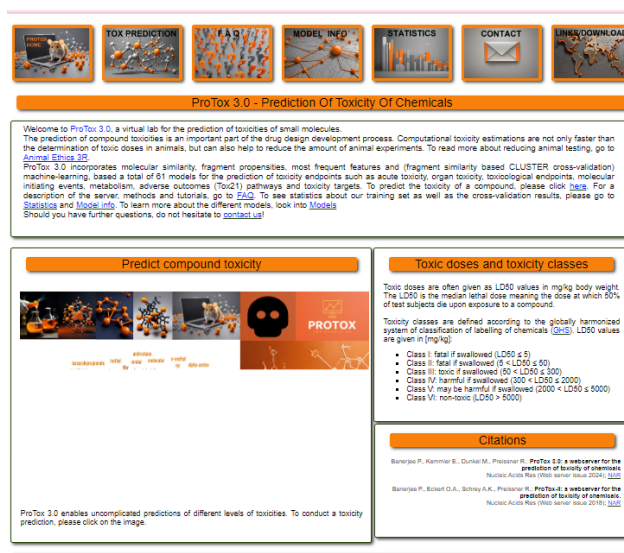


Gambar 3. 20 Hasil analisis fisikokimia dan farmakokinetik

Sumber: Dokumentasi Pribadi

3.4.11 Tahap Prediksi Toksisitas

Protox II web server adalah laboratorium virtual untuk prediksi toksisitas pada molekul kecil. Langkah pertama uji toksisitas yaitu masuk ke *database Protox II* (https://tox-new.charite.de/protox_II/index.php?site=home).



Gambar 3. 21 Tampilan awal web server Protox

Setelah terbuka halaman web server protox, klik menu “*Tox Prediction*” dan akan di arahkan pada halaman aru untuk ujii toksisitas. Selanjutnya memasukkan

Canonical Smiles dari senyawa uji yang dapat diperoleh dari situs web PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Kode *Canonical Smiles* yang di dapatkan di input dalam kolom yang sudah di sediakan pada *web server protox*. Pada tampilan “*additional models*” centang semua model toksik prediksi kemudian tekan tombol “*start tox-prediction*” dan tunggu beberapa saat sampai muncul halaman hasil prediksi toksisitas

3.5 Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data adalah teknik atau metode yang digunakan untuk mengumpulkan data yang akan diteliti (Salmaa, 2023). Artinya, teknik ini memerlukan langkah yang strategis dan juga sistematis untuk mendapatkan data yang valid dan juga sesuai kenyataanya. Teknik pengumpulan data dalam penelitian ini yaitu teknik pengumpulan data dokumentasi yang meliputi studi pustaka jurnal-jurnal penelitian, buku-buku, dan screening melalui website dan studi biologi komputasi. Dalam studi biologi menggunakan secara *in silico*, peneliti dapat melakukan simulasi interaksi molekuler, pemodelan struktur protein, dan berbagai analisis lainnya menggunakan alat komputasi. Teknik ini memungkinkan peneliti untuk memperoleh pemahaman yang lebih dalam tentang berbagai fenomena biologis melalui pendekatan komputasi dan juga dapat menghemat waktu dan biaya. Melakukan percobaan secara efisien menggunakan bantuan komputer. Teknik *in silico* melibatkan ketersediaan *database* dan *software* yang terbuka untuk diakses secara gratis. *Database* dan *software* yang digunakan pada penelitian ini yaitu *PubChem*, *Protein Data Bank (PDB)*, *BIOVIA Discovery Studio*, *ProTox-II*, *Swiss-model* dan *SwissADME*. Pada penelitian ini senyawa bioaktif dalam gula aren yang akan ditambahkan dengan molekul target berupa *Angiotensin Converting Enzyme (ACE)*.

3.6 Teknik Analisis Data

Afinitas senyawa aktif dari gula aren (*arenga pinnata*) terhadap reseptor target *Angiotensin Converting Enzyme (ACE)* akan diukur berdasarkan nilai energi afinitas, RMSD (*Root Mean Square Deviation*) dan kesamaan residu asam amino.

Energi afinitas merupakan energi ikatan antara ligan dengan reseptor, semakin negatif nilai afinitas energi maka ikatan antara ligan dengan reseptor semakin kuat terbentuk. RMSD merupakan parameter yang menggambarkan nilai penyimpangan terhadap interaksi struktur kristal sebelum dan sesudah *docking*. Pada umumnya, nilai RMSD dikatakan baik jika ≤ 2 Å. Semakin besar penyimpangan, semakin besar pula kesalahan pada prediksi interaksi ligan dengan protein.

Farmakokinetik merupakan cabang ilmu dari farmakologi yang mempelajari perjalanan obat mulai dari obat minum hingga obat keluar melalui organ sekresi dari tubuh. Dalam melakukan pengembangan suatu obat selama pengembangan obat baru, aspek absorpsi harus diperhatikan seperti penyerapan, distribusi, metabolisme, ekskresi dan toksisitas sebelum dilakukannya uji klinis.

Dalam uji *in silico*, dapat dilakukan untuk menilai bioaktivitas dan hubungan antara parameter fisikokimia dan farmakokinetik, dan terbukti efektif dalam pengembangan obat. Analisis fisikokimia dan farmakokinetik dilakukan dengan menggunakan *SwissADME*. Prediksi sifat fisikokimia bertujuan untuk memprediksi probabilitas suatu senyawa menjadi obat oral secara *in silico* yang berdasarkan pada aspek hukum lima Lipinski. Prediksi fisikokimia meliputi $\log P \leq 5$, berat molekul ≤ 500 g/mol, jumlah akseptor ikatan hidrogen ≤ 10 , dan jumlah donor ikatan hidrogen ≤ 5 . Selanjutnya prediksi toksisitas dari senyawa dilakukan dengan situs ProTox dengan parameter berupa LD50, *ames toxicity*, dan *hepatotoxicity*. Kelas toksisitas LD50 diklasifikasikan berdasarkan *Globally Harmonized System* (GHS) yang dibagi menjadi kelas toksisitas I sampai VI. Semua situs yang digunakan dalam prediksi sifat fisikokimia dan toksisitas ini menggunakan kode *SMILES* untuk menjalankan skrining (Naufa et al., 2022). Teknik analisis data pada penelitian ini akan dilakukan melalui tiga tahapan sesuai dengan teknik analisis data pada penelitian kualitatif yaitu sebagai berikut:

1) Reduksi

Reduksi data merupakan tahap teknik analisis data kualitatif. Tujuan reduksi data adalah menyederhanakan, menggolongkan, dan membuang data yang tidak relevan sehingga data tersebut dapat menghasilkan informasi yang bermakna dan memudahkan dalam penarikan kesimpulan. Pada penelitian ini,

penulis memilih data dari jurnal-jurnal penelitian dan *screening* senyawa dari website resmi, kemudian dipilih data-data yang sesuai dan diperlukan dalam penelitian.

2) Penyajian Data

Penyajian data merupakan kegiatan ketika sekumpulan data disusun secara sistematis dan mudah dipahami, sehingga memberikan kemungkinan untuk menghasilkan kesimpulan. Penajian data dalam penelitian ini akan dilakukan berupa penjelasan deskriptis dan disajikan dalam bentuk tabel.

3) Penarikan Kesimpulan

Penarikan kesimpulan merupakan tahap terakhir dalam teknik analisis data dan hasil temuannya bersifat baru, belum pernah ada sebelumnya, dan didukung oleh bukti-bukti yang valid dan konsisten sehingga kesimpulan dianggap kredibel. Simpulan yang dibuat harus relevan dengan fokus penelitian tujuan penelitian, dan temuan penelitian. Pada penarikan kesimpulan, penulis akan menyimpulkan hasil dari penyajian data yang telah dilakukan.

3.7 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada (LPPT UGM) untuk pengujian senyawa bioaktif dengan teknik GCMS. Selain itu, penelitian juga dilakukan di Laboratorium Botani, Jurusan Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Siliwangi, untuk pembuatan ekstrak dan pengujian secara *in silico* pada bulan Juli hingga November 2024.

