

BAB 2

TINJAUAN TEORITIS

2.1 Kajian Pustaka

2.1.1 Pengujian *In Silico*

In silico merupakan istilah yang merujuk pada percobaan atau uji simulasi yang dilakukan dengan bantuan komputer melalui penambahan molekul tertentu (Komalasari *et al.*, 2024). Tujuan dari *in silico* ini yaitu untuk meningkatkan efisiensi dan akurasi dalam proses perancangan obat (Shofi, 2021). Prinsip dasar *in silico* adalah prediksi aktivitas senyawa berdasarkan struktur molekulnya, karena sifat intrinsik dan interaksinya sudah terkode dalam struktur tersebut (Madden *et al.*, 2020). Salah satu teknik yang sering digunakan dalam metode ini adalah *molecular docking*. *Molecular docking* merupakan proses penyesuaian antara ligan yaitu molekul kecil, dengan target sel berupa molekul protein berukuran besar (Siagian *et al.*, 2022). Dalam kimia komputasi, aplikasi seperti PyRx dengan bantuan Biovia Discovery Studio Visualizer sangat membantu dalam penemuan obat, khususnya pada tahap desain obat melalui simulasi *docking*. Proses *docking* bertujuan menyesuaikan posisi dan interaksi antara ligan dan reseptor agar dapat terbentuk ikatan yang optimal (Kinasih *et al.*, 2023).

Tahapan *in silico* dilakukan melalui beberapa langkah. Pertama, penyiapan struktur senyawa uji dengan memanfaatkan basis data seperti PubChem. Kemudian, dilakukan penyiapan struktur reseptor dengan memanfaatkan web PCSB PDB, selanjutnya dilakukan pemodelan dan validasi struktur 3D reseptor. Pemodelan dapat dilakukan dengan menggunakan web seperti SWISS-MODEL, sedangkan validasi struktur dapat dilakukan menggunakan web seperti SAVES. Validasi ini bertujuan untuk memastikan struktur reseptor yang digunakan sesuai dengan standar kualitas untuk dianalisis lanjutan (Abbas & Jumarudin, 2024). Tahap berikutnya dilakukan preparasi dan optimasi struktur 3D senyawa, baik ligan uji maupun kontrol, dengan tujuan memperoleh konformasi paling stabil dan meminimalkan energi molekul. Selanjutnya, preparasi reseptor dipersiapkan dengan cara membersihkan struktur 3D yang diperoleh dari basis data, misalnya

dengan menghapus ligan bawaan atau molekul pengganggu lainnya, sehingga terbentuk ruang ikatan yang siap digunakan dalam simulasi. Tahap berikutnya dilakukan proses *docking* ligan uji maupun kontrol terhadap reseptor dengan bantuan *AutoDock*, sehingga diperoleh informasi mengenai energi ikatan serta jenis interaksi yang terbentuk, seperti ikatan hidrogen atau interaksi hidrofobik (Febriyanti, 2022). Hasil uji *in silico* akan menghasilkan nilai energi ikatan yang disebut *Rerank Score* (RS). Energi ikatan ini menggambarkan seberapa besar energi yang dibutuhkan untuk membentuk ikatan antara ligan dengan reseptor. Semakin kecil nilai energi ikatan, maka ikatan tersebut semakin stabil. Dengan ikatan yang lebih stabil, aktivitas biologis ligan terhadap reseptor dapat diprediksi juga semakin tinggi (Pramudiyawati *et al.*, 2024).

Tahapan selanjutnya dalam *in silico* adalah analisis sifat fisikokimia, farmakokinetik, dan toksisitas ligan uji. Analisis sifat fisikokimia dapat dilakukan dengan menggunakan web SwissADME yang secara otomatis menampilkan parameter penting, antara lain berat molekul (BM), lipofilisitas (Log P), jumlah ikatan rotasi (torsion), jumlah donor dan akseptor ikatan hidrogen (HBD dan HBA), serta jumlah akseptor ikatan hidrogen. Kemudian, analisis sifat farmakokinetik menggunakan web pkCSM, yaitu perangkat akan memperkirakan profil farmakokinetik ADME sehingga dapat diketahui kecenderungan senyawa untuk diserap, diedarkan, dimetabolisme, dan dieksresikan dalam tubuh. Kemudian, tahapan terakhir dalam *in silico* yaitu prediksi toksisitas senyawa, yang dapat dilakukan dengan bantuan ProTox 3.0. Analisis ini berfokus pada nilai LD₅₀ oral sebagai indikator utama untuk memperkirakan dosis yang dapat menimbulkan efek samping lain, seperti nefrotoksitas, toksisitas pernapasan, karsinogenisitas, dan mutagenisitas (Noer & Putri, 2024). Dengan demikian, pendekatan *in silico* memungkinkan evaluasi awal potensi senyawa uji melalui serangkaian tahapan yang sistematis, mulai dari preparasi dan optimasi struktur ligan serta reseptor, proses *molecular docking*, hingga analisis sifat fisikokimia, farmakokinetik, dan toksisitas. Informasi yang diperoleh, seperti kestabilan ikatan ligan dengan reseptor yang ditunjukkan oleh nilai energi ikatan serta profil ADME dan toksisitas,

memberikan dasar ilmiah dalam menilai potensi dan kelayakan senyawa sebelum dilakukan pengujian eksperimental lebih lanjut.

2.1.2 Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder menggunakan Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)

Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) merupakan suatu teknik yang menggabungkan kromatografi gas dengan spektrometri massa secara bersamaan. Kromatografi gas digunakan untuk memisahkan senyawa yang bersifat volatil atau mudah menguap ketika dipanaskan dalam kondisi vakum tinggi dan tekanan rendah. Di sisi lain, spektrometri massa berfungsi untuk menentukan rumus molekul, berat molekul, serta menghasilkan molekul bermuatan. Teknik GC-MS merupakan metode pemisahan sampel melalui kromatografi gas yang kemudian dianalisis menggunakan spektrometri massa. Teknik ini memiliki tingkat ketelitian yang tinggi sehingga mampu memisahkan senyawa yang tercampur dan mendeteksi senyawa dalam berbagai kadar, termasuk konsentrasi yang sangat rendah. GC-MS bahkan dapat mendeteksi konsentrasi obat hingga di bawah 1 µg/L dengan waktu proses yang relatif singkat. Analisis menggunakan GC-MS efektif untuk senyawa yang mudah menguap, namun senyawa yang sulit menguap perlu menjalani proses derivatisasi terlebih dahulu agar dapat dianalisis secara optimal menggunakan teknik ini (Nuriah *et al.*, 2023).

Tahapan uji GC-MS dimulai dengan persiapan sampel, yaitu melarutkan sampel organik dalam pelarut volatil seperti *hexane* atau diklorometana agar mudah diinjeksi. Sampel tersebut kemudian diinjeksi ke injektor yang dipanaskan yang menguapkan sampel sehingga masuk ke kolom kromatografi gas (GC) dalam bentuk gas. Dalam kolom kapiler yang dilapisi fase diam, komponen-komponen sampel terpisah berdasarkan interaksi kimia dan titik didihnya, sehingga keluar pada waktu retensi yang berbeda. Komponen yang keluar dari kolom GC langsung masuk ke detektor spektrometer massa (MS), di mana molekul diionisasi dan terfragmentasi menjadi ion bermuatan yang kemudian dipisahkan berdasarkan rasio massa terhadap muatan (m/z). Spektrum massa khas dihasilkan dan dapat dicocokkan dengan pustaka spektrum untuk identifikasi senyawa. Gas pembawa seperti helium mengalirkan sampel melalui kolom, oven GC mengatur suhu kolom

agar pemisahan berjalan efektif, dan detektor MS menggunakan elektron multiplikator untuk memperkuat sinyal ion (Pramod* *et al.*, 2021). Berdasarkan prinsip kerja dan tahapan analisis GC-MS, metode ini efektif digunakan untuk mengidentifikasi dan mengkarakterisasi senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam sampel tanaman. Informasi mengenai jenis senyawa dan waktu retensinya menjadi dasar penting dalam menentukan komponen kimia yang berpotensi memiliki aktivitas biologis dan dapat dipertimbangkan untuk dianalisis lebih lanjut pada tahap penelitian berikutnya.

2.1.3 *Python Prescription (PyRx)*

PyRx adalah platform perangkat lunak yang banyak digunakan dalam proses pengembangan obat berbasis komputasi, khususnya untuk melakukan *virtual screening* dan *molecular docking*. Pada dasarnya, PyRx memudahkan para peneliti dalam melakukan simulasi interaksi antara molekul kecil (ligan) dengan reseptor secara efisien. Platform ini menggabungkan beberapa program sumber terbuka seperti *AutoDock*, *AutoDock Vina*, dan *Open Babel* untuk menjalankan proses *virtual screening* dan *molecular docking* secara terpadu dan efisien. *AutoDock Vina*, yang telah terintegrasi dalam PyRx, berfungsi sebagai mesin utama untuk melakukan pencocokan antara reseptor dan molekul ligan, dengan memprediksi bagaimana ligan akan berikatan di situs aktif protein tersebut. Setelah protein target dipersiapkan, *docking* dilakukan melalui tampilan *Vina Wizard* yang ada di PyRx, sehingga proses simulasi menjadi lebih mudah dioperasikan dan teorganisir dengan baik. Hasil dari proses *docking* berupa nilai afinitas ikatan (*Binding Affinity*), *Root Mean Square Deviation* (RMSD), yang menjadi dasar pemilihan senyawa terbaik berdasarkan afinitas ikatan. Nilai energi bebas ikatan yang lebih rendah menandakan interaksi yang lebih kuat antara ligan dan protein. Setelah simulasi, hasil *docking* dapat dianalisis dan divisualisasikan menggunakan perangkat lunak pendukung seperti Biovia Discovery Studio Visualizer (Raheem *et al.*, 2023). Oleh karena itu, PyRx berperan sebagai platform yang memfasilitasi proses *molecular docking* dan *virtual screening*. Melalui perhitungan nilai afinitas ikatan dan RMSD, PyRx memungkinkan evaluasi awal kekuatan dan kestabilan

interaksi antara ligan dan reseptor, sehingga mendukung proses pemilihan senyawa dengan potensi interaksi terbaik.

2.1.4 Biovia Discovery Studio 2025

Biovia Discovery Studio Visualizer digunakan untuk memvisualisasikan interaksi antara protein dan ligan. Protokol ini menawarkan panduan untuk menampilkan struktur molekul dalam bentuk 3D dan menonjolkan interaksi khusus antara protein dan ligan, seperti ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik, yang menjadi penentu kestabilan kompleks dan afinitas pengikatan antara keduanya (Adrianne Tapiory *et al.*, 2020). Hasil visualisasi dapat disimpan atau diekspor untuk keperluan presentasi, publikasi, atau penggunaan lainnya (Baroroh, S.Si., M.Biotek. *et al.*, 2023). Dengan demikian, Biovia Discovery Studio Visualizer berperan sebagai alat bantu penting dalam menganalisis hasil *molecular docking*, karena mempermudah interpretasi posisi dan jenis ikatan yang terbentuk antara ligan dan reseptor serta memperkuat pemahaman terhadap kestabilan kompleks molekuler.

2.1.5 Database

2.1.5.1 Public Chemical (PubChem)

PubChem adalah sebuah basis data publik yang sangat besar dan terintegrasi yang mengumpulkan informasi komprehensif mengenai senyawa kimia dan aktivitas biologisnya. Dikelola oleh *National Institutes of Health* (NIH). PubChem menyediakan data lebih dari seribu sumber, mencakup 119 juta senyawa dan 322 juta substansi kimia, serta hampir 295 juta data bioaktivitas yang berasal dari lebih 1,67 juta eksperimen biologis hingga September 2024. Basis data ini menyajikan berbagai koleksi data seperti substansi kimia, struktur senyawa unik, hasil eksperimen biologis (*bioassay*), serta informasi terkait protein, gen, jalur biokimia, sel, dan organisme yang menjadi target biologis. Selain itu, PubChem menyuguhkan akses ke literatur ilmiah dan dokumen paten yang berhubungan dengan senyawa kimia, lengkap dengan fitur panel literatur terkonsolidasi dan panel pengetahuan paten untuk memudahkan eksplorasi hubungan antara senyawa, gen, dan penyakit. PubChem juga mengakomodasi data kimia non-molekul kecil seperti biologi molekuler, mineral, polimer, dan bahan kompleks yang tidak memiliki

struktur kimia diskrit, sehingga meningkatkan kegunaannya pada bidang ilmu kimia dan kehidupan secara luas (Kim *et al.*, 2025). Dengan demikian, PubChem menjadi sumber utama dalam penyediaan data struktur dan informasi biologis senyawa kimia yang digunakan sebagai ligan uji. Akses terhadap data senyawa yang terstandarisasi dan terdokumentasi dengan baik mendukung ketepatan penyiapan ligan dalam penelitian berbasis *in silico*.

2.1.5.2 Research Collaboration Struktural Bioinformatics Protein Data Bank (RCSB PDB)

Research Collaboration for Structural Bioinformatics Protein Data Bank (RCSB PDB) adalah pusat bank data protein secara global. (RCSB PDB) berperan sebagai tempat penyimpanan dan penyedia data struktur makromolekul 3D, seperti protein dan asam nukleat, yang dihasilkan oleh para ilmuwan di seluruh dunia melalui metode seperti kristalografi sinar-X, spektroskopi resonansi magnetik nuklir (NMR), mikroskopi elektron 3D, dan difraksi mikro-elektron. (RCSB PDB) menyediakan data secara gratis, tanpa batasan akses kepada jutaan pengguna, termasuk peneliti, pendidik, dan pelajar yang mempelajari biologi dasar, biomedis, bioteknologi, *bioengineering*, hingga ilmu energi. (RCSB PDB) menyediakan empat layanan utama bagi para penggunanya. Pertama, layanan penyimpanan data, validasi, dan biokurasi yang memastikan struktur makromolekul biologis yang diunggah oleh depositor data lengkap dan akurat. Kedua, pengelolaan arsip yang terorganisir dengan prinsip FAIR, sehingga data dapat diakses dengan mudah dan terstruktur. Ketiga, penyediaan alat pencarian, penjelajahan, visualisasi, dan analisis data struktur makromolekul yang memungkinkan pengguna untuk mengeksplor informasi secara mendalam. Terakhir, (RCSB PDB) juga aktif dalam penjangkauan pendidikan dengan menyediakan sumber daya pembelajaran yang mendukung pengajaran dan pemahaman tentang biologi struktural (Burley *et al.*, 2021). Dengan demikian, RCSB PDB berperan penting dalam menyediakan struktur tiga dimensi protein target yang telah tervalidasi secara eksperimen, sehingga ketersediaan struktur protein yang akurat memungkinkan simulasi *molecular docking* dilakukan secara tepat.

2.1.6 Penilaian Kualitas Protein

2.1.6.1 SWISS-MODEL

SWISS-MODEL adalah web server otomatis pertama yang dibuat untuk pemodelan homologi protein, yaitu teknik yang menggunakan informasi dari protein homolog yang telah diketahui strukturnya untuk memprediksi struktur 3D protein target. Selama 25 tahun terakhir, SWISS-MODEL terus dikembangkan dan ditingkatkan. Fungsinya telah diperluas, tidak hanya untuk memodelkan protein monomer, tetapi juga kompleks protein homo- dan heteromerik, dengan menggunakan urutan asam amino dari protein yang berinteraksi sebagai titik awal. Dalam pemodelan kompleks ini, SWISS-MODEL dapat mengestimasi stoikiometri (perbandingan jumlah subunit protein dalam kompleks) serta struktur keseluruhan kompleks tersebut melalui teknik homologi. SWISS-MODEL mengalami peningkatan dalam menghasilkan model protein setiap harinya, dari 1500 model sehari pada tahun 2014, menjadi sekitar 3000 model protein per hari, menjadikannya salah satu server pemodelan struktur protein yang paling banyak digunakan di dunia (Waterhouse *et al.*, 2018). Dengan demikian, SWISS-MODEL dapat digunakan untuk memprediksi struktur tiga dimensi protein target ketika data struktur eksperimental belum tersedia, dan model protein hasil pemodelan ini kemudian menjadi dasar yang penting dalam analisis interaksi ligan dengan reseptor pada proses *molecular docking*.

2.1.6.2 Struktural Analysis and Verification Server (SAVES)

SAVES UCLA adalah sebuah server validasi struktur protein yang mengintegrasikan beberapa program penting untuk mengevaluasi dan memverifikasi kualitas model struktur protein (Oladejo *et al.*, 2023). Layanan ini mengintegrasikan beberapa program penting yang masing-masing menilai aspek berbeda dari model protein untuk memastikan keakuratan hasil pemodelan. Adapun program dari server ini yaitu, PROCHECK yang memiliki kegunaan untuk menilai stereokimia stuktur protein dengan memeriksa konformasi ikatan dalam protein agar sesuai dengan standar stereokimia yang benar. Kemudian terdapat program ERRAT yang melakukan analisis perbandingan interaksi antara pasangan atom berat yang tidak terikat dalam model protein dengan standar yang telah ditentukan,

hal ini bertujuan untuk mengidentifikasi bagian-bagian struktur yang mungkin terdapat kesalahan. Selain itu, program VERIFY 3D untuk mengevaluasi kesesuaian struktur 3D atom protein dengan urutan asam aminonya yang dilakukan dengan memeriksa konsistensi lingkungan sekitar setiap residu dalam model tersebut (Raheem *et al.*, 2023). Oleh karena itu, validasi struktur protein menggunakan server SAVES menjadi tahap penting untuk memastikan kualitas stereokimia dan keandalan model protein. Struktur protein yang memenuhi kriteria validasi memberikan tingkat kepercayaan yang lebih tinggi terhadap hasil analisis *molecular docking*.

2.1.7 Penilaian Kelayakan Senyawa sebagai Kandidat Obat

2.1.7.1 SwissADME

SwissADME adalah web server yang populer dan bebas akses yang digunakan dalam penemuan obat molekul kecil secara *in silico*. Web server ini memungkinkan para peneliti dengan mudah dan cepat memprediksi berbagai parameter penting seperti sifat fisikokimia, lipofilisitas, kelarutan dalam air, farmakokinetik, *drug-likeness*, dan faktor-faktor lain yang berkaitan dengan kimia medisinal (Bakchi *et al.*, 2022). Sifat fisikokimia yang dianalisis meliputi parameter-parameter penting seperti berat molekul, lipofilisitas (LogP), polaritas (*polar surface area*/TPSA), kelarutan (LogS), fleksibilitas molekul yang ditentukan dari jumlah ikatan yang dapat diputar, serta saturasi karbon. Pemodelan ini membantu menilai potensi senyawa sebagai obat oral dengan menerapkan aturan-aturan yang umum digunakan dalam kimia medisinal, yaitu aturan *Lipinski*, *Ghose*, dan *Veber*. Aturan *Lipinski*, sebagai salah satu komponen utama analisis *drug-likeness*, merupakan kriteria penting untuk menilai kelayakan senyawa sebagai obat oral. Kriteria ini mensyaratkan bahwa senyawa harus memiliki massa molekul kurang dari 500 g/mol, nilai logP (lipofilisitas) kurang dari 5, jumlah donor ikatan hidrogen tidak lebih dari 5, dan jumlah akseptor ikatan hidrogen tidak lebih dari 10 agar dapat diserap secara efektif (Abdullah *et al.*, 2021).

Selain analisis numerik, SwissADME juga menyajikan radar bioavailabilitas 2D yang memvisualisasikan senyawa tersebut berada dalam kisaran optimal berdasarkan enam sifat fisikokimia utama untuk menjadi obat oral yang

efektif. Dalam konteks farmakokinetik, ilmu ini mempelajari perjalanan obat dalam tubuh yang mencakup proses absorpsi atau penyerapan obat, distribusi obat ke berbagai jaringan tubuh, metabolisme obat menjadi bentuk yang lebih mudah diekskresikan, serta ekskresi obat dari tubuh. SwissADME memprediksi parameter farmakokinetik penting, seperti absorpsi gastrointestinal (*GI absorption*), status senyawa sebagai inhibitor atau substrat dari transporter *P-glycoprotein* (P-gp), aktivitas terhadap enzim metabolisme utama CYP450 seperti CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, dan CYP3A4, kemampuan senyawa menembus sawar darah otak (*BBB permeant*), serta nilai Log Kp yang menunjukkan permeabilitas kulit. Senyawa dengan profil baik pada parameter-parameter ini umumnya berpotensi menjadi obat yang efektif dengan bioavailabilitas optimal dan profil keamanan yang baik (Novianty, 2023). Berdasarkan analisis SwissADME, penilaian sifat fisikokimia dan farmakokinetik senyawa memberikan gambaran awal mengenai kelayakan senyawa sebagai kandidat obat oral. Evaluasi ini membantu memprediksi kemampuan absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi senyawa serta kesesuaiannya dengan kriteria *drug-likeness* sebelum dikembangkan lebih lanjut.

2.1.7.2 pkCSM

pkCSM adalah sebuah web server yang menyediakan data farmakokinetik untuk senyawa yang akan diuji dengan memprediksi sifat farmakokinetik suatu senyawa menggunakan tanda berbasis grafik. Parameter yang diuji meliputi absorpsi, distribusi, metabolisme, eliminasi. Tujuan penggunaan pkCSM adalah untuk mengevaluasi kelayakan farmakokinetik suatu senyawa sejak tahap awal penemuan obat, sehingga dapat mengidentifikasi senyawa yang memiliki profil ADME baik (Nursanti *et al.*, 2022). pkCSM mengelompokkan 20 prediktor utama ke dalam empat kategori utama farmakokinetik, yaitu absorpsi (7 parameter), distribusi (4 parameter), metabolisme (7 parameter), dan ekskresi (2 parameter). Pada kategori absorpsi terdapat tujuh parameter yang meliputi kelarutan air, permeabilitas Caco-2, absorpsi usus, permeabilitas kulit, serta interaksi dengan *P-glycoprotein* baik sebagai substrat maupun inhibitor. Kategori distribusi terdiri atas empat parameter, yaitu volume distribusi (VDss), fraksi obat yang tidak terikat

protein, permeabilitas *blood-brain barrier* (BBB), dan permeabilitas sistem saraf pusat (CNS). Selanjutnya, kategori metabolisme mencakup tujuh parameter yang berfungsi untuk mengidentifikasi apakah suatu senyawa merupakan substrat atau inhibitor dari enzim sitokrom P450, termasuk CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, dan CYP3A4. Adapun pada kategori ekskresi terdapat dua parameter, yaitu total *clearance* dan status senyawa sebagai substrat renal OCT2 (Yeni & Rachmania, 2022). Dengan demikian, penggunaan pkCSM memungkinkan evaluasi awal profil farmakokinetik senyawa uji melalui prediksi parameter absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi secara sistematis. Informasi yang dihasilkan dari berbagai prediktor ADME tersebut memberikan dasar ilmiah untuk menilai kecenderungan senyawa dalam proses penyerapan, distribusi di dalam tubuh, interaksi dengan enzim metabolisme, serta proses eliminasi, sehingga dapat digunakan untuk mempertimbangkan kelayakan farmakokinetik senyawa pada tahap awal penemuan obat.

2.1.7.3 ProTox 3.0

ProTox 3.0 adalah sebuah web server prediksi toksisitas kimia berbasis komputasi yang mengkombinasikan metode kemiripan molekuler dan model pembelajaran mesin (*machine learning*). ProTox 3.0 dapat memprediksi hingga 61 *endpoint* toksisitas yang meliputi toksisitas akut, toksisitas organ spesifik (seperti hepatotoksitas, neurotoksisitas), toksisitas klinis, kejadian molekuler awal (*Molecular-Initiating Events*/MIEs), jalur toksikologi (Tox21), serta target toksisitas *off-target*. Semua model dalam ProTox 3.0 telah divalidasi dengan data eksternal dan menunjukkan kinerja yang kuat dan seimbang antara sensitivitas dan spesifisitas. Pengguna dapat memasukkan struktur kimia senyawa dalam bentuk 2D atau kode SMILES pada tampilan *web* ProTox 3.0, dan memperoleh profil toksisitas lengkap dengan skor kepercayaan serta visualisasi radar toksisitas. Webserver ini mendukung prediksi model tunggal maupun keseluruhan model secara paralel dengan *output* yang dapat diunduh dalam berbagai format. Keunggulan ProTox 3.0 dibanding model lain adalah cakupan toksisitas yang luas serta mekanisme molekuler di balik respon toksik yang diprediksi, menjadikannya alat yang bermanfaat untuk toksikolog, badan regulasi, dan peneliti kimia obat (Banerjee *et*

al., 2024). Melalui pemanfaatan webserver ini, dilakukan analisis yang berfokus pada nilai toksisitas akut peroral (LD_{50}) dalam satuan mg/kgBB, dengan mengacu pada klasifikasi toksisitas *Global Hazard Communication* (Nasyanka *et al.*, 2023).

LD_{50} (*Lethal Dose 50%*) adalah ukuran yang digunakan untuk menilai toksisitas akut suatu zat, yaitu jumlah dosis yang menyebabkan kematian pada 50% hewan uji. Nilai ini berfungsi sebagai indikator tingkat bahaya suatu senyawa dan digunakan untuk mengklasifikasikan tingkat toksisitas bahan kimia atau obat secara sistematis. Penentuan LD_{50} umumnya dilakukan pada tahap awal pengembangan obat sebagai dasar penetapan kisaran dosis yang aman sebelum uji lanjut (Karaduman & Kelleci Çelik, 2024). Prediksi toksistas pada suatu senyawa terbagi menjadi beberapa kelas seperti berikut:

- 1) Kelas I: fatal jika tertelan ($LD_{50} \leq 5$)
- 2) Kelas II: fatal jika tertelan ($5 < LD_{50} \leq 50$)
- 3) Kelas III: beracun jika tertelan ($20 < LD_{50} \leq 300$)
- 4) Kelas IV: berbahaya jika tertelan ($300 < LD_{50} \leq 2000$)
- 5) Kelas V: mungkin berbahaya jika tertelan ($2000 < LD_{50} \leq 5000$)
- 6) Kelas VI: tidak beracun ($LD_{50} > 5000$)

Prediksi kelas toksistas yang digunakan adalah kelas 5 dan kelas 6 dan kesamaan rata-rata toksisitas, prediksi akurasi toksisitas harus bernilai 100% untuk keamanan uji. Jika nilai prediksi toksisitas di bawah 100% maka senyawa tersebut diragukan untuk tahap uji selanjutnya (Nursanti *et al.*, 2023). Dengan mempertimbangkan kemampuan ProTox 3.0 dalam memprediksi nilai LD_{50} serta mengklasifikasikan tingkat toksisitas senyawa, analisis ini digunakan sebagai dasar untuk menilai keamanan awal kandidat senyawa. Selain toksisitas akut peroral, informasi tambahan mengenai potensi toksisitas organ spesifik turut memberikan gambaran risiko efek toksik terhadap organ tertentu. Oleh karena itu, hasil prediksi ProTox 3.0 dimanfaatkan untuk mendukung proses seleksi senyawa dengan tingkat bahaya yang lebih rendah sebelum dilanjutkan ke tahap pengujian eksperimental.

2.1.8 Kanker Ovarium

Kanker ovarium merupakan kanker genetalia wanita yang dapat menyebabkan kematian terbanyak pada wanita (Marindawati *et al.*, 2023). Kanker

ovarium merupakan jenis kanker yang menyerang organ reproduksi wanita, yaitu ovarium, yang berfungsi menghasilkan sel telur serta hormon estrogen dan progesteron. Kanker ini sering disebut sebagai “*Silent Killer*” atau pembunuh diam-diam karena gejala pada stadium awal biasanya tidak spesifik dan sulit dikenali, sehingga banyak pasien baru terdiagnosis pada stadium lanjut. Hal ini menyebabkan tingkat kematian akibat kanker ovarium relatif tinggi dibandingkan dengan kanker lain pada wanita. Kanker ovarium terdiri dari beberapa jenis berdasarkan asal selnya, terutama tumor epitel yang paling umum, serta tumor sel germinal, dan tumor stroma. Faktor risiko utama kanker ovarium meliputi usia, dengan insiden tertinggi sekitar usia 60 tahun, serta riwayat keluarga yang terkait dengan mutasi gen BRCA1 dan BRCA2, yang meningkatkan risiko secara signifikan. Faktor hormonal, lingkungan, dan gaya hidup juga turut berperan dalam terjadinya kanker ovarium. Gejala awal penyakit ini ditandai dengan kembung, nyeri panggul, perasaan cepat kenyang, dan sering buang air kecil, namun hal ini sering disalah artikan sebagai gangguan pencernaan biasa sehingga diagnosis sering terlambat (Harsono, 2020). Karakteristik kanker ovarium yang memiliki gejala tidak spesifik dan sulit terdeteksi dini, menjadikannya salah satu keganasan pada sistem reproduksi wanita dengan tingkat mortalitas yang tinggi. Kondisi ini menegaskan bahwa kanker ovarium masih menjadi permasalahan kesehatan serius yang memerlukan perhatian khusus dalam pengembangan strategi pencegahan dan terapi yang lebih efektif.

2.1.9 Purwoceng (*Pimpinella pruatjan* Molk.)

Purwoceng atau Purwaceng adalah tanaman obat tahunan yang termasuk ke dalam famili Apiaceae (Kashuri, 2025). Purwoceng dengan nama latin *Pimpinella pruatjan* Molk., memiliki sinonim yang pernah digunakan oleh para ahli botani sebelumnya, diantaranya seperti *Anisometron alpina* (Zoll. & Moritzi), *Carum panatjan* (Mirb. ex Rosenthal), *Heterachaena alpina* (Zoll. & Moritzi), *Pimpinella alpina* (Zoll. & Moritzi) Koord, dan *Pimpinella leeuwenii* (H. Wolff), *Pimpinella panatjan* (Hassk.) Mirb. Ada juga variasi seperti *Pimpinella pruatjan* var. *depressa* (Miq.) dan var. *prolifera* (Steenis). Semua nama ini merujuk pada spesies yang sama, yaitu *Pimpinella pruatjan* Molk (GBIF Secretariat, 2023).

Berdasarkan *The Global Biodiversity Information Facility* (GBIF), klasifikasi dari Purwoceng (*Pimpinella pruatjan* Molk.) sebagai berikut:

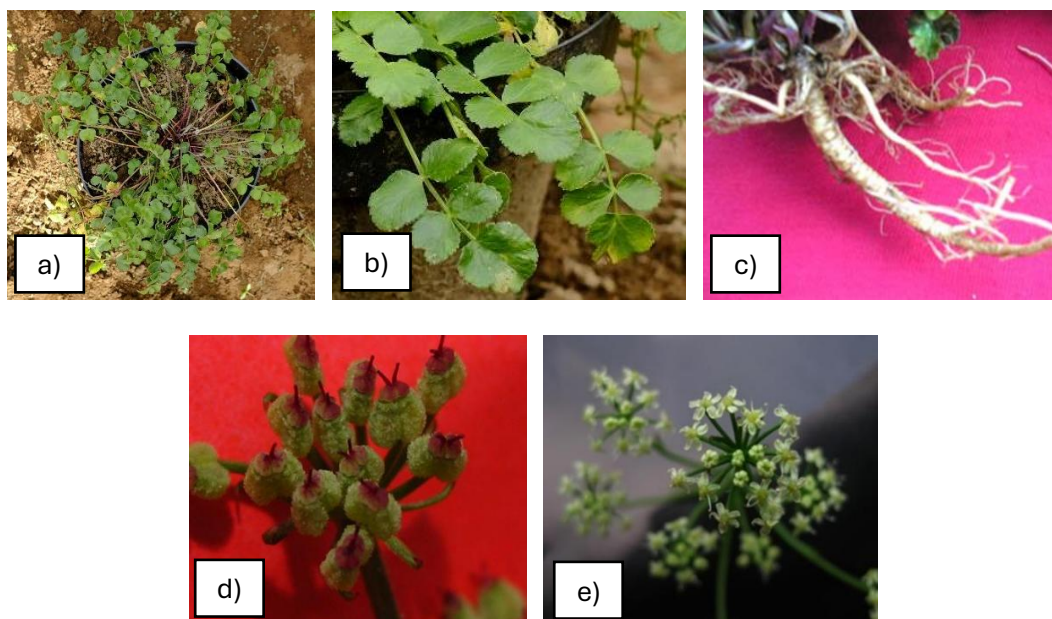
<i>Kingdom</i>	: Plantae
<i>Division</i>	: Magnoliophyta
<i>Class</i>	: Magnoliopsida
<i>Order</i>	: Apiales
<i>Family</i>	: Apiaceae
<i>Genus</i>	: <i>Pimpinella</i> L.
<i>Species</i>	: <i>Pimpinella pruatjan</i> Molk.

Purwoceng adalah tanaman yang tumbuh di daerah pegunungan dengan ketinggian antara 1800 hingga 3000 meter di atas permukaan laut (Indirasari *et al.*, 2024). Purwoceng dapat ditemukan di beberapa wilayah dataran tinggi, antara lain dataran tinggi Dieng dan Gunung Lawu di Jawa Tengah, Gunung Pangrango, dan Gunung Galunggung di Jawa Barat, serta pegunungan Tengger dan Iyang di Jawa Timur (Aminin *et al.*, 2020).

2.1.9.1 Karakteristik Morfologi Purwoceng

Purwoceng termasuk ke dalam tanaman *Dicotyledoneae* karena memiliki akar tunggang yang ukurannya semakin membesar seiring bertambahnya usia tanaman, sehingga bentuknya mirip dengan Gingseng. Akar-akar halus keluar dari ujung akar tersebut, dan bagian tanaman yang biasanya dimanfaatkan meliputi umbi atau akar, daun, serta bunganya (Ahmad *et al.*, 2024). Purwoceng memiliki ciri morfologi meliputi batang yang sangat pendek dengan diameter sekitar 3-5 mm, serta berwarna hijau hingga ungu tua kemerahan. Daunnya bersifat majemuk beranak daun ganjil dengan ibu tangkai daun berpelelepah pada pangkalnya, berlekuk pada bagian atas dan membulat bagian pangkalnya. Ibu tangkai daun berukuran panjang antara 5 – 20 cm dengan warna hijau sampai merah tua keunguan. Bentuk anak bervariasi, mulai dari bulat, menjantung, hingga menjorong, dengan ukurn kecil sekitar 1-3,5 cm baik panjang maupun lebarnya. Permukaan daun bagian atas berwarna hijau mengkilap, sedangkan bagian bawahnya berwarna pucat dan tidak mengkilap. Perbungaan Purwoceng berbentuk payung majemuk (*Umbrella*) yang terletak di ujung batang dengan panjang mencapai 5 cm. Bunga sangat kecil dengan

jumlah banyak, serta buahnya sangat kecil, dengan biji yang hampir tidak tampak secara kasat mata (Gambar 2.1). Semua ciri ini membantu Purwoceng (*Pimpinella pruatjan* Molk.) beradaptasi dan tumbuh optimal di lingkungan pegunungan (Widodo *et al.*, 2021).



Gambar 2.1 Morfologi Tanaman Purwoceng

a) Habitus; b) Daun; c) Akar; d) Benih e) Bunga

Sumber: a) dan b) Dokumentasi Peneliti, 2025; c) (Nuryadin & Nabiila, 2018) d) dan e) (Rusmin, 2017)

2.1.9.2 Senyawa Aktif Purwoceng

Purwoceng mengandung berbagai golongan senyawa aktif yang berperan penting dalam manfaat farmakologisnya. Golongan senyawa tersebut meliputi flavonoid, fenolik, steroid, glikosida, saponin, dan tanin. Fenolik dan flavonoid terutama berkontribusi pada aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh Purwoceng. Selain itu, terdapat juga senyawa seperti vanillin, *hymecromone* (sejenis kumarin), betaine, dan choline yang ditemukan dalam kadar cukup tinggi pada akar Purwoceng. Senyawa *betaine* dan *bergapten* dalam Purwoceng memiliki peranan penting sebagai antioksidan. *Betaine* membantu melindungi sel dari stress oksidatif dan bertindak sebagai donor metil dalam proses metabolisme tubuh. *Bergapten* dapat menekan pertumbuhan radikal bebas dan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang berpotensi merusak sel (Batubara *et al.*, 2023). Selain itu, Purwoceng juga, mengandung beberapa zat kimia seperti steroid, minyak atsiri, furanocoumarin,

vitamin dan flavonoid pada bagian daun dan akarnya. Golongan steroid terdiri dari *stigmasta-7, 25 dien-3-ol*, *stigmasterol* (*stigmasta-7, 16 dien-3-ol*) dan *sitosterol*. Kandungan lain Purwoceng adalah minyak atsiri dan turunannya, yaitu *P-bisabolene*, *p caryophyllene*, *a-humulene*, *germacrene*, dan *carvacrol* yang dapat ditemukan di tanaman herba, di bagian akar hanya mengandung *germacrene*, *xanthotoxin*, dan *P-bisabolene* yang hanya didapatkan di herba tanaman yang tumbuh di Dieng. Purwoceng juga mengandung flavonoid yang berfungsi melindungi sel-sel tubuh dari radikal bebas dan vitamin E yang terdapat pada tajuk tanaman (Ahmad *et al.*, 2024). Melalui keragaman kandungan senyawa aktif tersebut, Purwoceng menunjukkan potensi farmakologis yang luas. Keberadaan senyawa fenolik, flavonoid, steroid, serta minyak atsiri dan turunannya memperlihatkan bahwa Purwoceng tidak hanya berperan sebagai tanaman herbal tradisional, tetapi juga memiliki dasar kimia yang kuat untuk dikaji lebih lanjut dalam konteks aktivitas biologis dan pengembangan penelitian di bidang kesehatan.

2.1.10 *Poly (ADP-ribose) polymerase 2 (PARP2)*

Poly (ADP-ribose) adalah molekul yang berfungsi dalam modifikasi *post* translasi pada bagian jalur sinyal seluler. Pembentukan molekul ini dikatalisis oleh enzim *Poly (ADP-ribose) polymerase* (PARP). PARP2 adalah anggota penting dari keluarga enzim PARP yang berperan dalam proses perbaikan DNA, terutama dalam *Base Excision Repair* (BER), dan *Single-Strand Break Repair* (SSBR). PARP2 adalah enzim yang berperan penting dalam memperbaiki kerusakan DNA sel kanker, terutama dalam sel kanker ovarium yang memiliki masalah dalam jalur perbaikan DNA utama seperti BRCA. PARP2 membantu sel kanker untuk memperbaiki kerusakan tersebut sehingga sel kanker dapat terus bertahan dan berkembang. Selain itu, PARP2 juga berperan dalam menjaga stabilitas ujung kromosom (telomer), dan mendukung aktivitas reseptor hormon yang mendorong pertumbuhan sel kanker ovarium. Dengan menghambat fungsi PARP2, proses perbaikan DNA terganggu, stabilitas telomer menurun, dan aktivitas hormon yang mendukung pertumbuhan kanker juga berkurang, sehingga dapat mencegah pertumbuhan dan penyebaran kanker ovarium (Demény & Virág, 2021). Berdasarkan mekanisme tersebut, PARP2 memiliki peran penting dalam

mempertahankan kelangsungan hidup sel kanker ovarium melalui perbaikan kerusakan DNA, pemeliharaan stabilitas telomer, serta dukungan terhadap aktivitas hormonal yang mendorong proliferasi sel kanker. Ketergantungan sel kanker ovarium terhadap jalur perbaikan DNA yang dimediasi PARP2 menjadikan enzim ini sebagai target molekuler yang relevan dalam strategi pengembangan terapi antikanker, khususnya untuk menghambat pertumbuhan dan penyebaran kanker ovarium.

2.1.11 Bioinformatika dalam Pendidikan

Bioinformatika merupakan cabang ilmu interdisipliner yang lahir dari perpaduan antara biologi, ilmu komputer, matematika, dan disiplin ilmu terkait lainnya, sehingga berkembang menjadi bidang kajian tersendiri. Bidang ini berfokus pada penggunaan teknologi komputer untuk penyimpanan, pengambilan, pengolahan, serta distribusi informasi yang berkaitan dengan makromolekul biologis seperti DNA, RNA, dan protein. Melalui analisis data biologis secara komputasional, bioinformatika menghasilkan berbagai informasi yang tersimpan dalam *biological databases*, yaitu himpunan data terorganisir yang berisi informasi biologis yang saling berkaitan, baik dalam skala kecil maupun besar (Herman *et al.*, 2023). Dalam konteks pendidikan biologi modern, bioinformatika memiliki peran penting sebagai sarana pembelajaran yang mengintegrasikan konsep biologi dengan teknologi digital. Namun demikian, penyampaian materi bioinformatika sering kali menghadapi berbagai kendala karena sifatnya yang abstrak dan kompleks. Konsep-konsep seperti struktur tiga dimensi protein, interaksi ligan dengan reseptor, serta proses *molecular docking* menuntut kemampuan visualisasi spasial dan abstraksi tingkat tinggi. Tanpa dukungan media pembelajaran yang tepat, topik-topik tersebut sulit dipahami oleh mahasiswa, khususnya mereka yang berasal dari latar belakang biologi murni atau kependidikan. Kondisi ini dapat menyebabkan rendahnya pemahaman serta minat belajar mahasiswa terhadap bioinformatika (Khalil, 2025).

Secara konseptual, bioinformatika tidak hanya menggabungkan prinsip biologi, komputer, matematika, dan statistika untuk menganalisis serta menafsirkan data biologis, tetapi juga memiliki nilai praktis yang luas, terutama dalam bidang biologi, farmasi, dan kedokteran. Bioinformatika menyediakan berbagai metode

untuk menganalisis *big data* biologis secara komprehensif sehingga dapat dimanfaatkan, misalnya, dalam penemuan obat, diagnosis medis, maupun riset genetik. Meskipun fokus utamanya berada pada penelitian dan pengembangan di bidang sains, penerapan bioinformatika dalam dunia pendidikan kini semakin mendapat perhatian. Hasil survei menunjukkan meningkatnya kebutuhan untuk mengintegrasikan bioinformatika pada berbagai jenjang pendidikan, termasuk tingkat sekolah menengah atas. Integrasi tersebut dinilai penting untuk menjembatani kesenjangan antara teori dan praktik, serta memperkuat kolaborasi antara guru, siswa, dan lingkungan belajar biologi digital (Mursyidin *et al.*, 2025). Oleh karena itu, bioinformatika dapat dipahami sebagai bidang yang tidak hanya berperan penting dalam pengolahan dan analisis data biologis secara komputasional, tetapi juga memiliki kontribusi strategis dalam pengembangan pembelajaran biologi modern. Tantangan kompleksitas konsep dan abstraksi yang tinggi menegaskan perlunya pemanfaatan pendekatan, metode, dan media yang tepat agar bioinformatika dapat dipahami secara efektif, sekaligus mampu menjembatani teori dan praktik dalam pendidikan biologi.

2.1.12 Sumber Belajar Biologi

Sumber belajar memegang peran penting dalam proses pembelajaran karena memberikan kemudahan akses informasi, pengetahuan, dan keterampilan bagi pembaca. Sumber belajar bisa berupa media pembelajaran maupun alat peraga yang diciptakan untuk menciptakan kondisi yang mendukung keberhasilan proses pembelajaran (Nursela *et al.*, 2023). Media pembelajaran merupakan sarana penting untuk menyampaikan pesan atau informasi dari sumber kepada penerima, yaitu pembaca, guna mendukung proses belajar. Penggunaan media pembelajaran terbukti dapat membantu meningkatkan keberhasilan belajar dengan mempermudah penyampaian materi secara efektif (Mardatillah *et al.*, 2023). Salah satu bentuk media cetak visual yang sering digunakan adalah *booklet*. Penelitian menunjukkan bahwa pembelajaran menggunakan *booklet* dapat meningkatkan pengetahuan, hasil belajar, keaktifan peserta didik, serta efektivitas komunikasi antara guru dan peserta didik (Panjaitan* *et al.*, 2021). *Booklet* ini merupakan inovasi media pembelajaran cetak yang berisi materi pelajaran dalam format yang

ringkas dan menarik. Keunikan *booklet* terletak pada ukurannya yang kecil dengan desain *full color*, sehingga mudah menarik minat pembaca untuk menggunakannya. Ukuran yang kecil dan tipis membuat *booklet* fleksibel dan praktis dibawa ke mana saja serta digunakan kapan saja. Selain itu, *booklet* menyajikan informasi secara sistematis dengan tambahan gambar untuk memudahkan pemahaman pembaca terhadap konsep dan fakta pembelajaran. Kelebihan lainnya adalah kemasannya yang ringkas dan sederhana, sehingga memunculkan pengalaman belajar yang menyenangkan sekaligus menumbuhkan minat pembaca dalam mempelajari materi (R. Y. Putri *et al.*, 2022). Maka dari itu, sumber belajar biologi yang dikemas dalam *booklet* mampu menyajikan materi secara ringkas, sistematis, dan menarik, sehingga memudahkan pembaca dalam memahami konsep-konsep pembelajaran.

2.2 Hasil Penelitian yang Relevan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Permana dan Usman (2013), ekstrak methanol akar Purwoceng (*Pimpinella alpina*) menunjukkan efek sitotoksik yang kuat terhadap sel kanker payudara MCF-7. Uji sitotoksik dalam penelitian ini dilakukan secara *in vitro* menggunakan metode MTT *assay* untuk mengukur viabilitas sel setelah perlakuan dengan berbagai konsentrasi ekstrak yaitu 0, 1, 10, dan 100 µg/mL. Hasilnya menunjukkan penurunan viabilitas sel secara signifikan seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak, dengan nilai IC₅₀ sebesar 22,98 µg/ml, yang menandakan potensi ekstrak ini memberikan efek sitotoksik yang kuat terhadap sel MCF-7. Selain itu, uji kandungan kimia mengindikasikan keberadaan flavonoid dalam ekstrak, yang diketahui memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker. Aktivitas sitotoksik ini diduga berkaitan dengan kandungan senyawa aktif dalam Purwoceng yaitu senyawa *phenylpropanoid* seperti *epoxypseudoisoeugenol-2-methyl butyrate* (EPB) yang terdapat pada tumbuhan dari genus *Pimpinella* memiliki kemampuan menghambat proliferasi berbagai sel kanker. Dengan demikian penelitian ini menyatakan bahwa ekstrak methanol dari akar Purwoceng memiliki potensi untuk dikaji lebih lanjut sebagai sumber senyawa bioaktif dalam pengembangan terapi kanker.

Selanjutnya, berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Ihsan *et al.*, 2016), ekstrak air Purwoceng memiliki potensi sebagai agen kemopreventif dan kemoterapi pada kanker paru, khususnya pada sel kanker paru A549. Penelitian eksperimental ini menunjukkan bahwa ekstrak air Purwoceng (*Pimpinella alpina*) mengandung senyawa aktif berupa kumarin dan alkaloid yang berperan penting dalam aktivitas antiproliferasi, sitotoksik, dan induksi apoptosis pada sel kanker. Hasil uji antiproliferasi menunjukkan bahwa ekstrak air Purwoceng (*Pimpinella alpina*) mampu menghambat pertumbuhan sel kanker paru A549 secara signifikan pada berbagai konsentrasi dan waktu pengamatan (24, 48, dan 72 jam). Uji sitotoksik juga memperlihatkan bahwa ekstrak air Purwoceng (*Pimpinella alpina*) mampu menurunkan viabilitas sel kanker dengan nilai IC_{50} sebesar $3.862 \mu\text{g/mL}$, menunjukkan potensi sebagai agen kemoterapi karena nilai IC_{50} tersebut berada di atas $100 \mu\text{g/mL}$. Selain itu, uji antiproliferasi menunjukkan bahwa ekstrak ini terbukti secara signifikan ($p < 0,05$) mampu menghambat pertumbuhan sel kanker. Selain itu, uji apoptosis menunjukkan bahwa ekstrak tersebut dapat meningkatkan proses apoptosis dengan nilai EC_{50} sebesar $5.271 \mu\text{g/mL}$. Mekanisme apoptosis ini melibatkan jalur p53, ditandai dengan peningkatan ekspresi protein p53 dan Caspase-9, serta penurunan ekspresi protein Rb dan Bcl-2. Oleh karena itu, hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa ekstrak air Purwoceng (*Pimpinella alpina*) memiliki aktivitas antiproliferasi dan sitotoksik pada sel kanker A549, yang bekerja melalui mekanisme induksi apoptosis dengan melibatkan aktivasi p53, Bcl-2, Rb, dan Caspase-9.

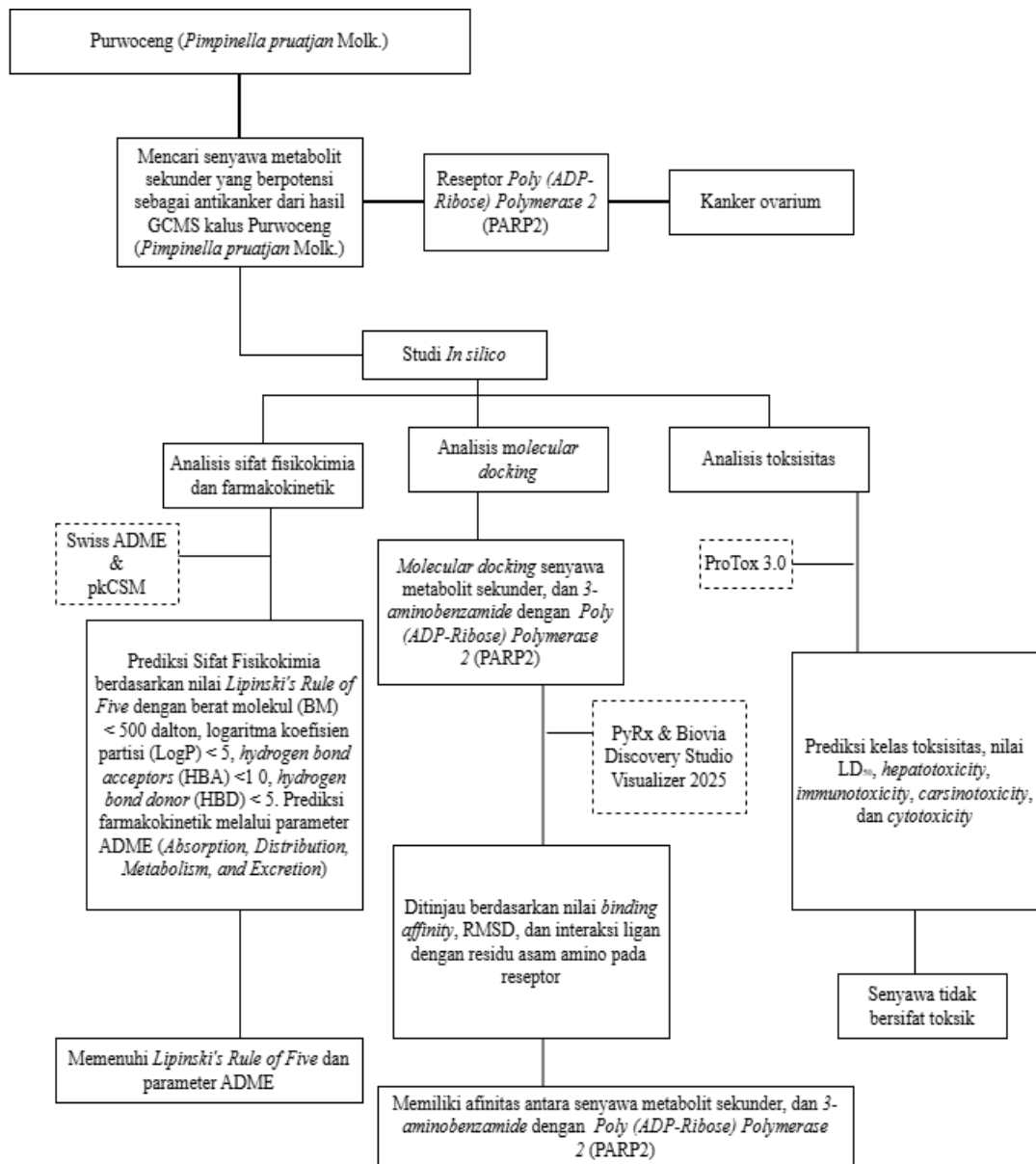
2.3 Kerangka Konseptual

Kanker ovarium merupakan salah satu jenis kanker dengan tingkat kematian yang tinggi pada wanita dan sering kali sulit terdeteksi pada tahap awal karena gejalanya yang kurang spesifik. Terapi konvensional sering menimbulkan efek samping, sehingga diperlukan alternatif terapi yang lebih aman. Salah satu target terapeutik yang dapat dimanfaatkan dalam pengobatan kanker ovarium adalah protein *Poly (ADP-Ribose) Polymerase 2* (PARP2) karena perannya yang penting dalam proses perbaikan kerusakan DNA pada sel kanker. Penghambatan aktivitas

PARP2 bertujuan untuk mencegah perbaikan DNA tersebut sehingga mendorong kematian sel kanker melalui mekanisme apoptosis.

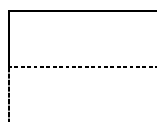
Salah satu pendekatan yang digunakan untuk menghambat aktivitas PARP2 adalah pemanfaatan senyawa aktif dari Purwoceng, sebuah tanaman asli Indonesia yang kaya akan metabolit sekunder dengan potensi aktivitas antikanker. Penelitian ini menggunakan pendekatan *in silico* dengan metode *molecular docking* untuk mengevaluasi interaksi senyawa metabolit sekunder pada tanaman Purwoceng terhadap reseptor PARP2, dengan *3-aminobenzamide* sebagai ligan kontrol. Terdapat tiga analisis yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu analisis *molecular docking*, analisis fisikokimia dan farmakokinetik, serta analisis toksisitasnya. Analisis *molecular docking* merupakan proses pengujian afinitas antara ligan uji dengan reseptor yang berpotensi sebagai antikanker ovarium melalui *molecular docking*.

Proses *molecular docking* dilakukan dengan menggunakan aplikasi PyRx dan Biovia Discovery Studio Visualizer 2025. Hasil *molecular docking* kemudian dianalisis dengan melihat nilai *binding affinity*, RMSD, serta interaksi ligan dengan residu asam amino pada reseptor. Kemudian, dilakukan analisis sifat fisikokimia ligan uji dengan menggunakan web SwissADME dimana analisis tersebut mengacu pada aturan kemiripan obat yaitu *Lipinski's Rule of Five*. Selanjutnya analisis farmakokinetik dengan menggunakan web pkCSM dengan menguji parameter absorpsi, distribusi, metabolisme, eliminasi. Terakhir, analisis tingkat toksisitas ligan uji yang dilakukan dengan menggunakan web ProTox 3.0 *online tools* dengan melihat parameter nilai LD₅₀, kelas toksisitas, prediksi *hepatotoxicity*, *carcinotoxicity*, *immunotoxicity*, *mutagenicity* dan *cytotoxicity*. Hasil penelitian yang dilakukan dijadikan sebagai sumber belajar biologi berupa *booklet*. Adapun bagan dari kerangka penelitian ini dapat dilihat pada gambar 2.2 di bawah ini.



Gambar 2.2 Kerangka Konseptual Penelitian
Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

Keterangan:



2.4 Pertanyaan Penelitian

Berdasarkan latar belakang yang telah disampaikan, maka penelitian ini bertujuan untuk mengkaji beberapa permasalahan, di antaranya:

- 1) Apakah senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam tanaman Purwoceng memiliki afinitas terhadap reseptor PARP2 berdasarkan analisis *in silico*?
- 2) Bagaimana hasil analisis sifat fisikokimia senyawa metabolit sekunder tanaman Purwoceng sebagai kandidat antikanker pada ovarium berdasarkan analisis *in silico*?
- 3) Bagaimana hasil analisis sifat farmakokinetik senyawa metabolit sekunder tanaman Purwoceng sebagai kandidat antikanker pada ovarium berdasarkan analisis *in silico*?
- 4) Bagaimana hasil analisis tingkat toksisitas senyawa metabolit sekunder tanaman Purwoceng sebagai kandidat antikanker pada ovarium berdasarkan analisis *in silico*?
- 5) Bagaimana hasil *in silico* senyawa metabolit sekunder tanaman Purwoceng dapat dikembangkan menjadi sumber belajar biologi murni dalam bentuk *booklet*?