

BAB 3

PROSEDUR PENELITIAN

3.1 Metode Penelitian

Jenis metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *in silico screening* menggunakan teknik *molecular docking* dengan analisis deskriptif kuantitatif. Metode analisis data kuantitatif adalah metode komputasi dan statistik yang berfokus pada analisis statistik, matematis, atau numerik dari kumpulan data. Penggunaan metode ini memungkinkan hasil penelitian dapat diukur atau dinyatakan dalam bentuk angka. Metode analisis data kuantitatif deskriptif sendiri merupakan pendekatan yang membantu menggambarkan, menunjukkan, atau meringkas data secara konstruktif. Metode ini mengacu pada penggambaran statistik yang bertujuan untuk memahami rincian data dengan cara meringkas serta menemukan pola dari sampel data tertentu. (Sofwatillah *et al.*, 2024).

Data senyawa yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari hasil penelitian yang sebelumnya telah melakukan identifikasi senyawa metabolit sekunder dari kalus Purwoceng menggunakan teknik GC-MS. Proses uji *in silico* pada penelitian ini menggunakan aplikasi PyRx, dan Biovia Discovery Studio Visualizer 2025. Reseptor target yang digunakan adalah *Poly (ADP-ribose) Polymerase 2* (PARP2) dengan (PDB ID: 3KCZ). Sedangkan ligan yang akan dikaji adalah *Phen-1,4-diol*, *2,3-dimethyl-5-trifluoromethyl-*; *Phrobol*; dan *9-hexadecenoic acid* dengan ligan kontrol *3-aminobenzamide*.

3.2 Ruang Lingkup Penelitian

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan, fokus penelitian yang akan dilakukan adalah menganalisis secara *in silico* dengan metode *molecular docking* pada senyawa metabolit sekunder tanaman Purwoceng terhadap reseptor PARP2 yang berperan penting dalam memperbaiki kerusakan DNA pada sel, terutama dalam sel kanker ovarium yang memiliki masalah dalam jalur perbaikan DNA utama seperti mutasi BRCA. Hasil yang akan dianalisis mencakup *molecular docking* ligan uji dan ligan kontrol terhadap reseptor, sifat fisikokimia,

farmakokinetik, serta toksisitas ligan uji. Analisis ini dapat memberikan kesimpulan apakah senyawa metabolit sekunder tanaman Purwoceng yang dikaji memiliki potensi sebagai kandidat antikanker pada ovarium dan dapat dikembangkan menjadi kandidat obat oral atau tidak.

3.3 Sumber Data Penelitian

Data dalam penelitian ini diperoleh dari dua jenis sumber data, yaitu sumber primer dan sumber sekunder. Sumber primer berupa data yang diunduh dan diolah langsung oleh peneliti, meliputi senyawa metabolit sekunder tanaman Purwoceng yang dikaji serta ligan kontrol dari web PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>), dan reseptor PARP2 dari web RCSB PDB (<https://www.rcsb.org/>). Analisis sifat fisikokimia pada web SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>), analisis sifat farmakokinetik pada web pkCSM (<https://biosig.lab.uq.edu.au/pkcsm/prediction>), analisis toksisitas pada web ProTox 3.0 (<https://tox.charite.de/>), serta simulasi *molecular docking* menggunakan aplikasi PyRx dan Biovia Discovery Studio Visualizer 2025 dari senyawa metabolit sekunder tanaman Purwoceng yang dikaji terhadap reseptor PARP2. Sementara itu, sumber sekunder diperoleh dari hasil kajian literatur yang relevan, mencakup referensi mengenai senyawa metabolit sekunder tanaman Purwoceng yang berpotensi sebagai kandidat antikanker, reseptor target PARP2, serta ligan kontrol *3-aminobenzamide*.

3.4 Langkah-Langkah Penelitian

3.4.1 Alat dan Bahan

Tahap pelaksanaan penelitian ini melibatkan beberapa alat dan bahan yang dapat dilihat pada tabel 3.1 dan tabel 3.2 di bawah ini.

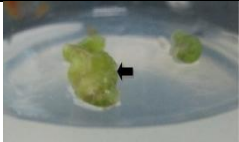
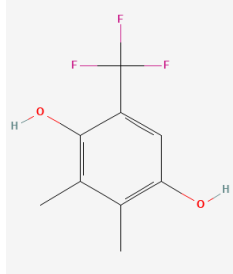
Tabel 3.1 Alat Penelitian

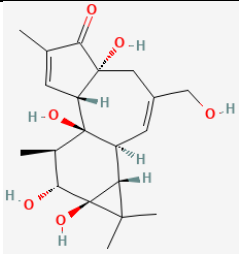
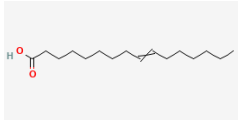
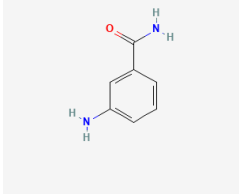
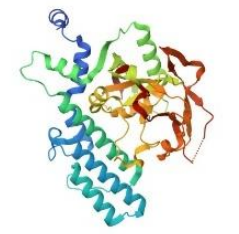
No.	Alat	Spesifikasi dan Kegunaan	Jumlah	Dokumentasi
1.	Alat Tulis	Buku dan pulpen yang digunakan untuk mencatat hal-hal penting selama penelitian.	1 Buah	

2.	Gawai	iPhone XR sebagai alat penunjang untuk pengambilan dokumentasi selama penelitian.	1 Buah	
3.	Laptop	HP AMD Athlon Silver 7120U with Radeon Graphics (2 CPUs) ~2.4 GHz, RAM 8 GB, OS Windows 11 Home SL 64-bit, yang digunakan untuk menjalankan seluruh proses analisis dan simulasi penelitian.	1 Buah	
4.	PyRx	Versi 0.8 sebagai <i>Software</i> yang digunakan untuk preparasi ligan dan <i>molecular docking</i> .	1 Buah	
5.	Biovia Discovery Studio Visualizer 2025	Versi 25.1.0.24284 sebagai <i>Software</i> yang digunakan untuk preparasi reseptor dan memvisualisasikan hasil <i>molecular docking</i> .	1 Buah	

Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

Tabel 3.2 Bahan Penelitian

No.	Bahan	Spesifikasi dan Kegunaan	Jumlah	Dokumentasi
1.	Kalus Purwoceng	Sumber metabolit sekunder untuk ligan uji.	1 Sampel Kalus	
2.	Phen-1,4-diol, 2,3-dimethyl-5-trifluoromethyl-	Molecular Formula: $C_9H_9F_3O_2$ PubChem ID: 590850 SMILES: <chem>CC1=C(C=C(C(=C1C)O)C(F)(F)F)O</chem> Digunakan sebagai ligan yang akan diuji terhadap reseptor PARP2.	1 File (.sdf)	
3.	Phorbol	Molecular Formula: $C_{20}H_{28}O_6$ PubChem ID: 442070 SMILES: <chem>C[C@@H]1[C@H]([C@@H]2[C@@H]1C(C)C)C</chem>	1 File (.sdf)	

		<chem>C@H]3[C@]1([@@H]4C=C(C(=O)[C@]4(CC(=C3)CO)O)C)O)O</chem> Digunakan sebagai ligan yang akan diuji terhadap reseptor PARP2.		
4.	9-Hexadecenoic acid	Molecular Formula: <chem>C16H30O2</chem> PubChem ID: 4668 SMILES: <chem>CCCCCCC=CCCCCCC</chem> <chem>CC(=O)O</chem> Digunakan sebagai ligan yang akan diuji terhadap reseptor PARP2.	1 File (.sdf)	
5.	3- aminobenzamide	Molecular Formula: <chem>C7H8N2O</chem> PubChem ID: 1645 SMILES: <chem>C1=CC(=CC(=C1)N)C(=O)N</chem> Digunakan sebagai ligan kontrol.	1 File (.sdf)	
6.	PARP2	Protein target dengan PDB ID: 3KCZ sebagai reseptor ovarium yang menjadi fokus penelitian, dan akan diujikan dengan <i>Phen-1,4-diol</i> , <i>2,3-dimethyl-5-trifluoromethyl-</i> ; <i>Phrobol</i> ; dan <i>9- hexadecenoic acid</i> .	1 File (.pdb)	

Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

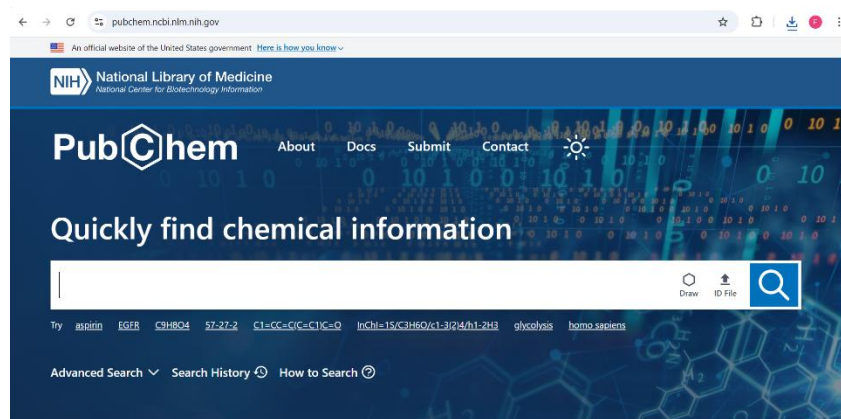
3.4.2 Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Tanaman Purwoceng menggunakan GC-MS

Proses identifikasi senyawa metabolit sekunder tanaman Purwoceng menggunakan GC-MS telah dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada (LPPT UGM). Hasil GC-MS berupa senyawa-senyawa yang disajikan dalam bentuk kromatogram dan spektrum massa dengan masing-masing berat molekul senyawa bioaktif.

3.4.3 Pengunduhan Berkas Ligan Uji dan Ligan Kontrol

Ligan uji yang digunakan dalam penelitian ini berupa senyawa metabolit sekunder hasil identifikasi melalui pengujian GC-MS pada tanaman Purwoceng. Dari hasil tersebut, beberapa senyawa kemudian dipilih berdasarkan kajian literatur yang menunjukkan potensi sebagai kandidat antikanker. Selain itu, digunakan juga senyawa ligan kontrol berupa *3-aminobenzamide* yang diambil berdasarkan acuan dari penelitian sebelumnya. Ligan uji dan kontrol yang sudah ditentukan kemudian diunduh dari web *data base* Biologi PubChem. Adapun langkah-langkah pengunduhan berkas ligan adalah sebagai berikut:

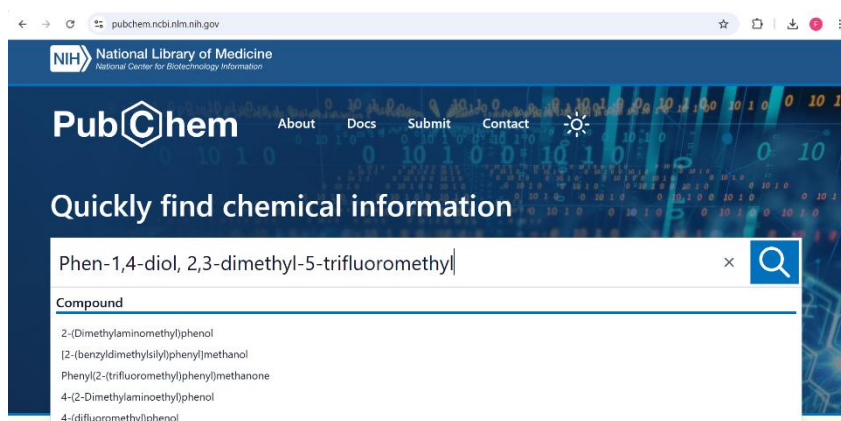
- 1) Akses terhadap basis data PubChem dilakukan melalui laman <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> (Gambar 3.1).



Gambar 3.1 Tampilan Web PubChem

Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

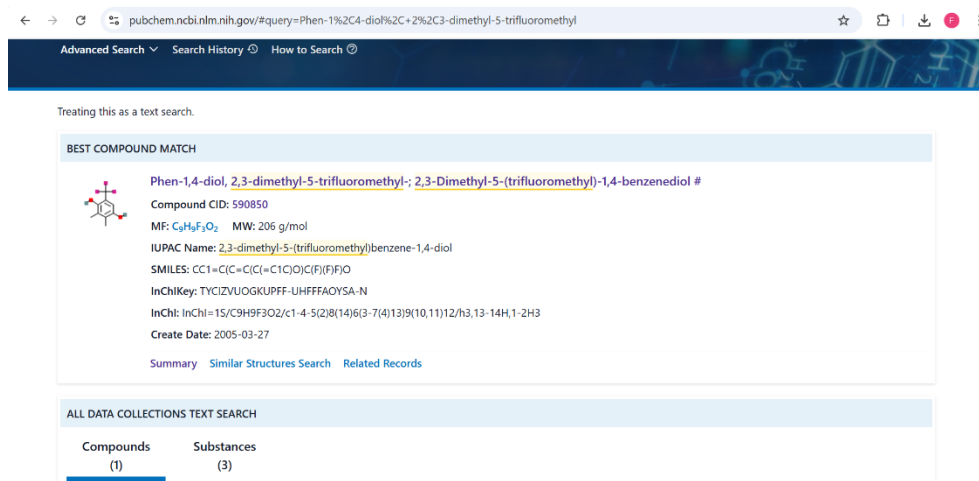
- 2) Nama senyawa yang ingin dicari dimasukkan ke dalam kolom pencarian pada laman PubChem untuk memulai proses pencarian data senyawa (Gambar 3.2).



Gambar 3.2 Kolom Pencarian PubChem

Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

- 3) Hasil pencarian yang paling sesuai dengan nama senyawa dipilih untuk menampilkan informasi detail mengenai senyawa tersebut (Gambar 3.3).



pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/#query=Phen-1%2C4-diol%2C+2%2C3-dimethyl-5-trifluoromethyl

Advanced Search Search History How to Search

Treating this as a text search.

BEST COMPOUND MATCH

Phen-1,4-diol, 2,3-dimethyl-5-trifluoromethyl-; 2,3-Dimethyl-5-(trifluoromethyl)-1,4-benzenediol #

Compound CID: 590850

MF: $C_9H_9F_3O_2$ MW: 206 g/mol

IUPAC Name: 2,3-dimethyl-5-(trifluoromethyl)benzene-1,4-diol

SMILES: CC1=C(C(=C(C(=C1C)O)C(F)(F)F)O

InChIKey: TYCIZVUOGKUPFF-UHFFFAOYSA-N

InChI: InChI=1S/C9H9F3O2/c1-4-5(2)(8(14)(6(3-7(4)(13)9(10,11)12/h3,13-14H,1-2H3

Create Date: 2005-03-27

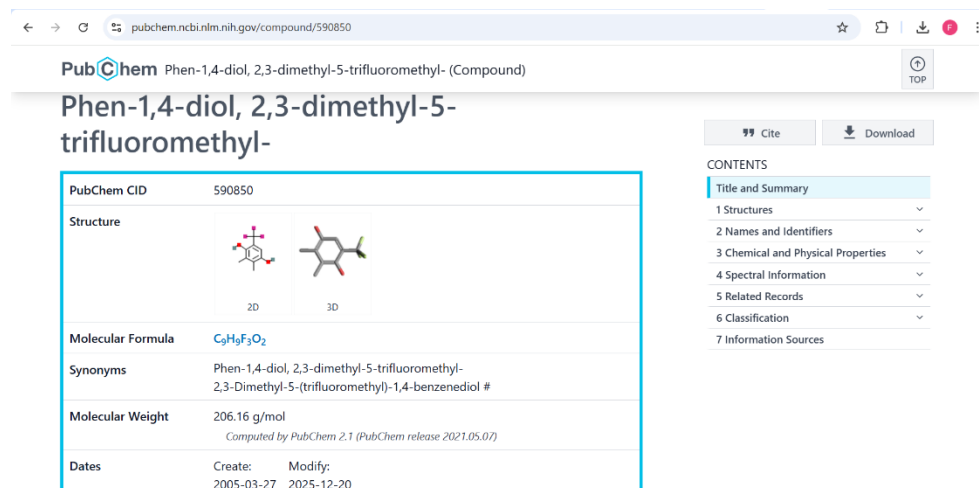
[Summary](#) [Similar Structures Search](#) [Related Records](#)

ALL DATA COLLECTIONS TEXT SEARCH

Compounds	Substances
(1)	(3)

Gambar 3.3 Hasil Pencarian Ligan
Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

- 4) Halaman yang memuat informasi lengkap senyawa, termasuk identitas dan struktur molekul, ditampilkan secara otomatis setelah hasil pencarian dipilih (Gambar 3.4).



pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/590850

PubChem Phen-1,4-diol, 2,3-dimethyl-5-trifluoromethyl- (Compound)

Phen-1,4-diol, 2,3-dimethyl-5-trifluoromethyl-

[Cite](#) [Download](#)

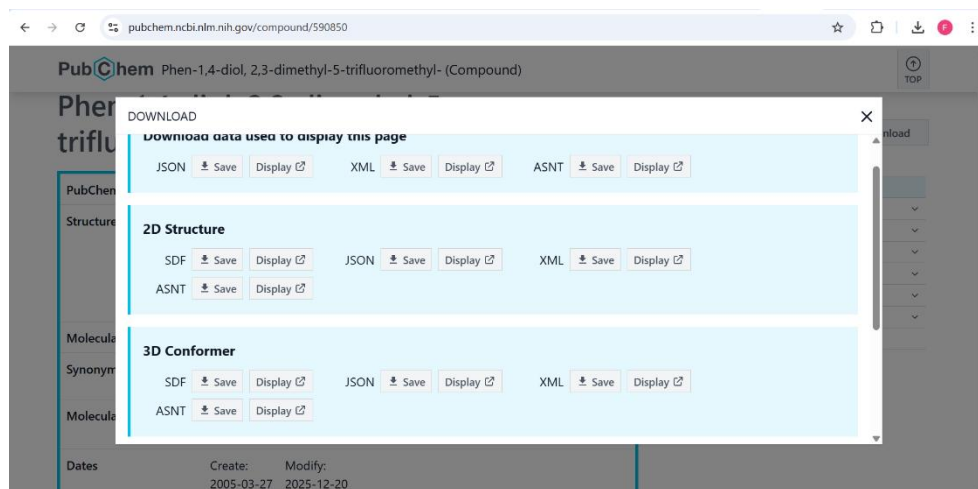
CONTENTS

- Title and Summary
- 1 Structures
- 2 Names and Identifiers
- 3 Chemical and Physical Properties
- 4 Spectral Information
- 5 Related Records
- 6 Classification
- 7 Information Sources

PubChem CID	590850
Structure	  2D 3D
Molecular Formula	$C_9H_9F_3O_2$
Synonyms	Phen-1,4-diol, 2,3-dimethyl-5-trifluoromethyl- 2,3-Dimethyl-5-(trifluoromethyl)-1,4-benzenediol #
Molecular Weight	206.16 g/mol Computed by PubChem 2.1 (PubChem release 2021.05.07)
Dates	Create: 2005-03-27 Modify: 2025-12-20

Gambar 3.4 Informasi Ligan
Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

- 5) Pengunduhan struktur ligan dilakukan melalui menu *Download* dengan memilih opsi *3D Conformer* dalam format SDF untuk memperoleh struktur tiga dimensi senyawa (Gambar 3.5).



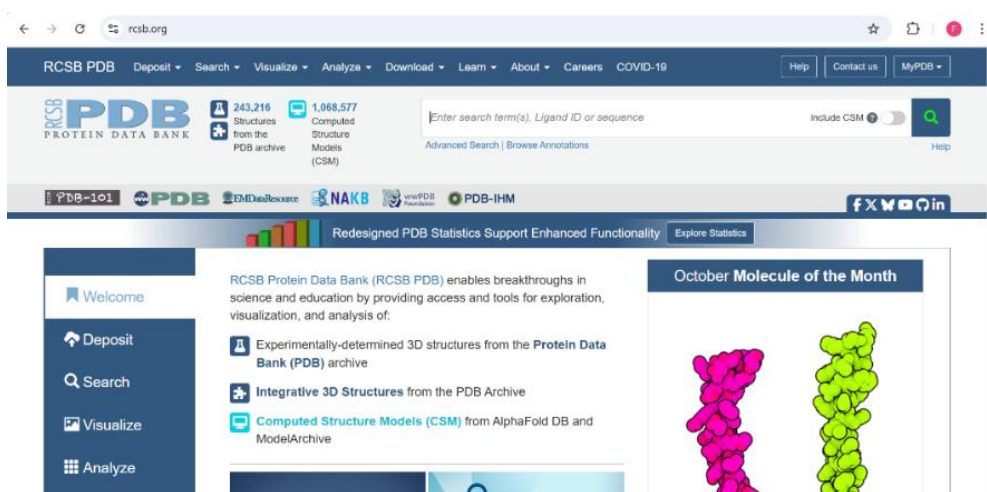
Gambar 3.5 Download Struktur 3D Ligan
Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

- 6) Langkah-langkah ini diulangi untuk setiap senyawa metabolit sekunder tanaman Purwoceng yang ingin diunduh berkasnya.

3.4.4 Pengunduhan Berkas Reseptor

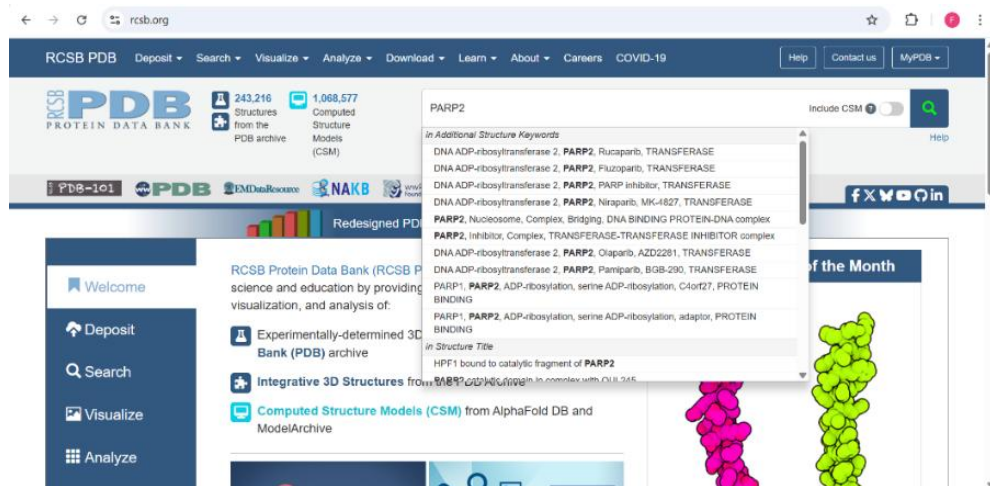
Reseptor PARP2 dicari dengan mengkaji artikel jurnal yang membahas mengenai kanker ovarium atau artikel yang meneliti terkait peran PARP2. Kemudian pengunduhan berkas reseptor PARP2 dilakukan melalui web RCS PDB. dengan PDB ID: 3KCZ. Adapun langkah-langkah pengunduhan berkas reseptor PARP2 adalah sebagai berikut:

- 1) Akses terhadap basis data RCSB PDB dilakukan melalui laman <https://www.rcsb.org/> (Gambar 3.6).



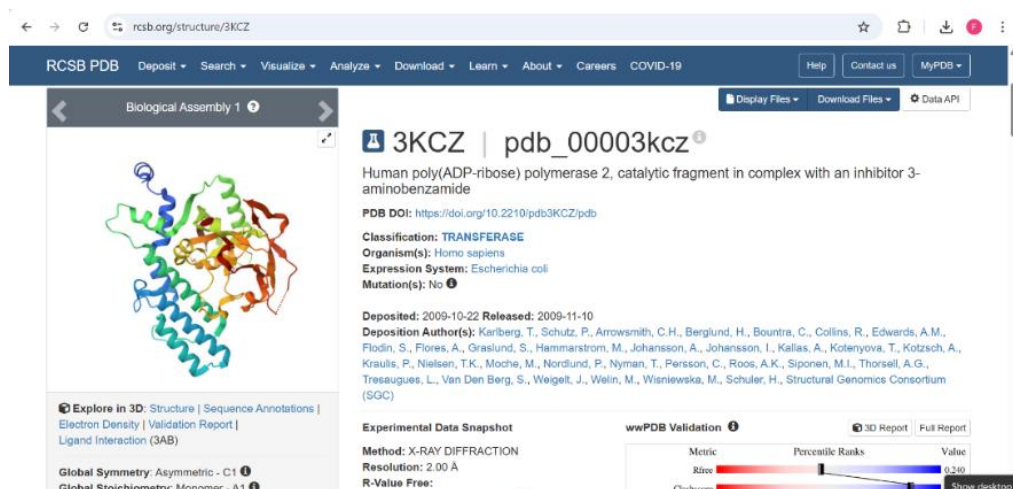
Gambar 3.6 Tampilan Web RCSB PDB
Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

- 2) Nama reseptor PARP2 dimasukkan ke dalam kolom pencarian pada laman RCSB PDB untuk menampilkan hasil pencarian struktur protein (Gambar 3.7).



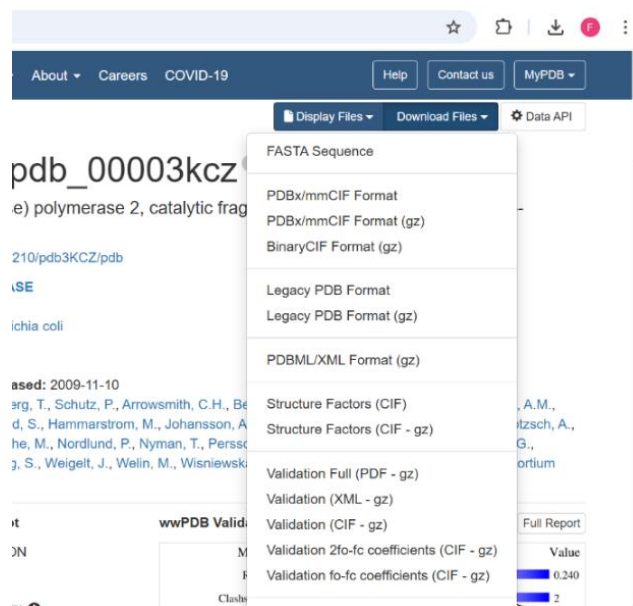
Gambar 3.7 Kolom Pencarian RCSB PDB
Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

- 3) Hasil pencarian berupa struktur PARP2 dengan kode PDB 3KCZ dipilih untuk menampilkan informasi reseptor secara lebih rinci (Gambar 3.8).



Gambar 3.8 Informasi Reseptor
Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

- 4) Pengunduhan struktur reseptor dilakukan melalui menu *Download Files* dengan memilih format PDB (.pdb) untuk memperoleh struktur tiga dimensi, serta format FASTA untuk keperluan pemodelan reseptor (Gambar 3.9).

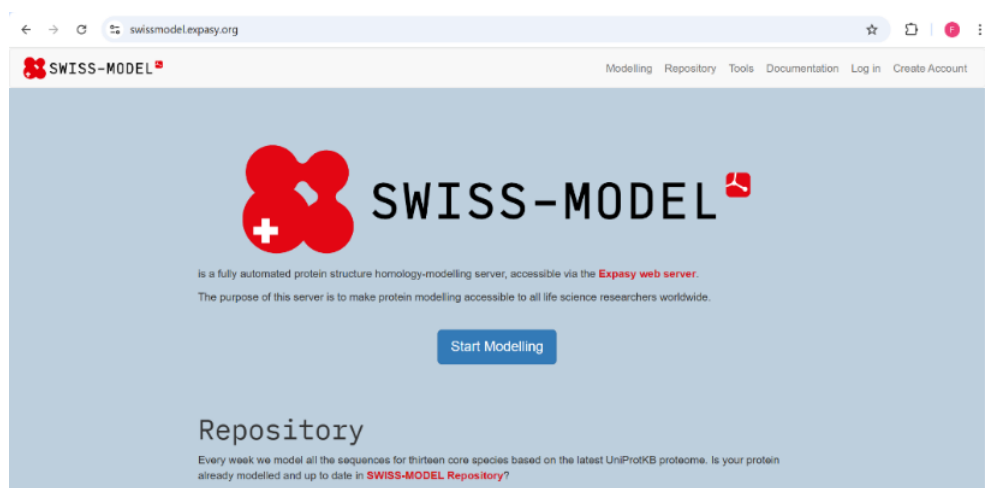


Gambar 3.9 *Download* Berkas Reseptor
Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

3.4.5 Tahap Pemodelan Reseptor

Sebelum dilakukan validasi reseptor, dilakukan pemodelan reseptor terlebih dahulu. Pemodelan reseptor dilakukan dengan memasukan file FASTA yang sebelumnya sudah diunduh ke dalam web SWISS-MODEL. Adapun langkah-langkah pemodelan reseptor adalah sebagai berikut:

- 1) Akses terhadap web SWISS-MODEL dilakukan melalui laman <https://swissmodel.expasy.org/> (Gambar 3.10).



Gambar 3.10 Tampilan Web SWISS-MODEL
Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

- 2) Menu *Start modelling* pada halaman utama dipilih untuk masuk ke halaman pemodelan struktur reseptor (Gambar 3.11).

The screenshot shows the 'Start a New Modelling Project' interface on the SWISS-MODEL website. It includes a text area for 'Target Sequence(s)' with a placeholder 'Paste your target sequence(s) or UniProtKB AC here'. Below this is a green button 'Upload Target Sequence File...' and a 'Validate' button. There are input fields for 'Project Title' (defaulting to 'Untitled Project') and 'Email' (marked as 'Optional'). Two large blue buttons, 'Search For Templates' and 'Build Model', are at the bottom. A sidebar on the right titled 'Supported Inputs' has dropdown menus for 'Sequence(s)', 'Target-Template Alignment', 'User Template', and 'DeepView Project'. A footer note states: 'By using the SWISS-MODEL server, you agree to comply with the following terms of use and to cite the corresponding articles.'

Gambar 3.11 Halaman Pemodelan Reseptor
Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

- 3) Berkas sekuens reseptor dalam format FASTA yang telah diperoleh dari RCSB PDB diunggah ke dalam sistem melalui *Upload Target Sequence File*, kemudian proses pemodelan struktur tiga dimensi dijalankan melalui *Build Model* (Gambar 3.12).

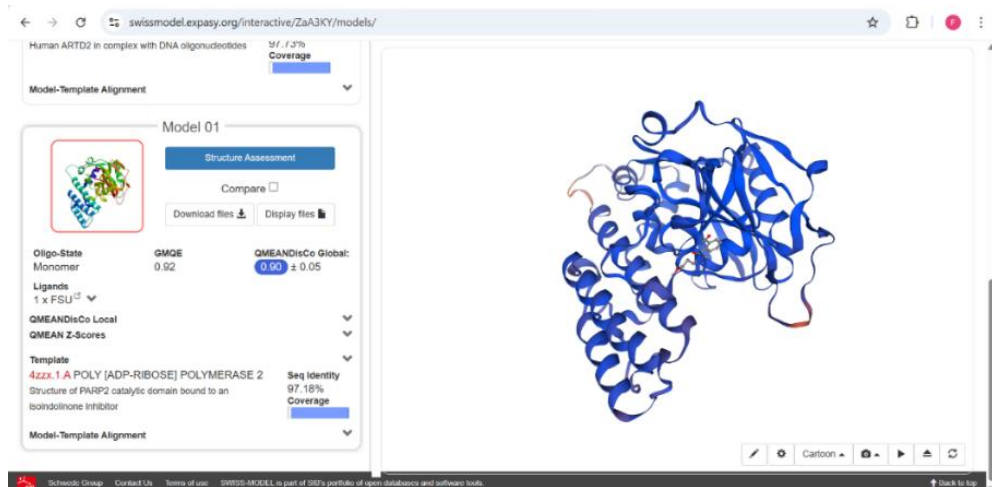
This screenshot shows the same 'Start a New Modelling Project' page, but with multiple target sequences entered. The 'Target Sequence(s)' section lists four sequences:

- Target: `MSHHRSSGDSCTENLYTGPDLKVLKLLKLVQVQHEFWPKYNTKAPLGLTVAQTKAGVSLKKTEDCRAGQGRALREACNEFYKTRHFGLE` (185)
- Target: `TPPLRTQKLSLSKQLLEALGDTETALKVKTQLSPDLPQVYHNLHCLAPLHESYEFKVISQPLQTHPTISQYTHLLDLFEVLDKGEKCAFBDLH` (218)
- Target: `MSPLLWKSQPEANVGLLSGLKTAHAPITGYHFGGTYEALPSSCSARYCASSLKNITGLLLSEVALGQNEELLEAPKAGLITQKPSLGEAGRAPSSG` (315)
- Target: `REVTLMGTVPLGFAVDTGLLPDQDTLNNETVYVNNQVPRVLLKQDEH` (368)

 Below the sequences are buttons for 'Add Hetero Target' and 'Reset'. The 'Supported Inputs' sidebar remains on the right. The footer note is also present.

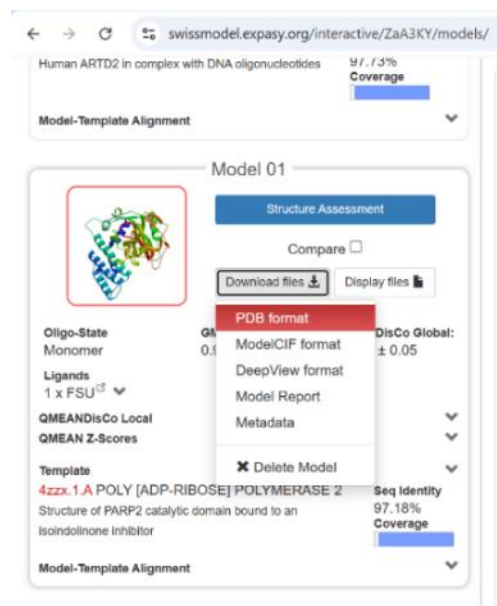
Gambar 3.12 Proses Pemodelan Reseptor
Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

- 4) Proses pemodelan dilakukan hingga selesai, kemudian hasil model struktur reseptor ditampilkan pada halaman hasil pemodelan (Gambar 3.13).



Gambar 3.13 Hasil Pemodelan Reseptor
Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

- 5) Hasil pemodelan struktur reseptor diunduh dalam format PDB (.pdb) untuk digunakan pada tahap selanjutnya, yaitu validasi struktur reseptor (Gambar 3.14).



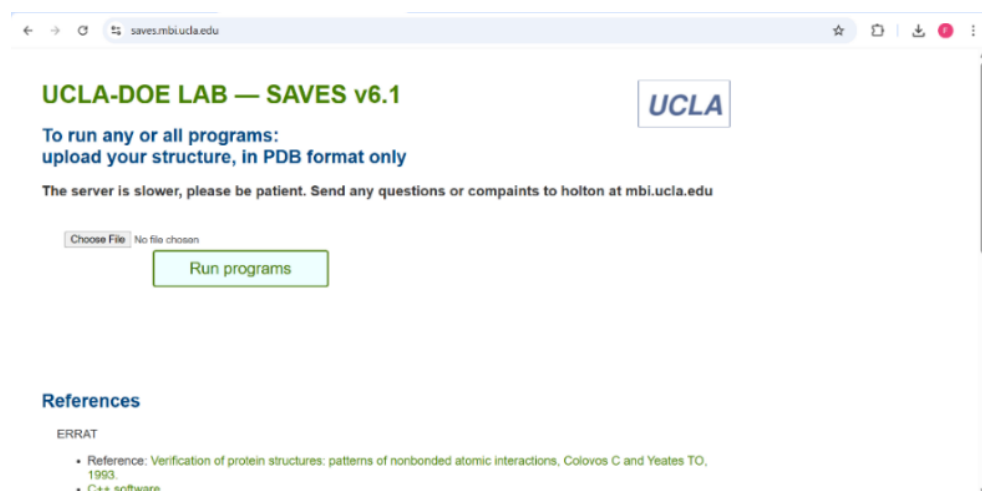
Gambar 3.14 Download Hasil Pemodelan
Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

3.4.6 Tahap Validasi Reseptor

Berkas reseptor PARP2 yang telah diunduh kemudian di validasi protein menggunakan uji ERRAT pada web SAVES untuk memverifikasi struktur protein PARP2 yang akan digunakan dalam penelitian. Uji ini bertujuan untuk memastikan bahwa struktur protein yang diteliti akurat dan valid, serta menentukan apakah

struktur protein yang digunakan telah memenuhi standar kualitas yang ditentukan atau tidak. Adapun langkah-langkah validasi reseptor adalah sebagai berikut:

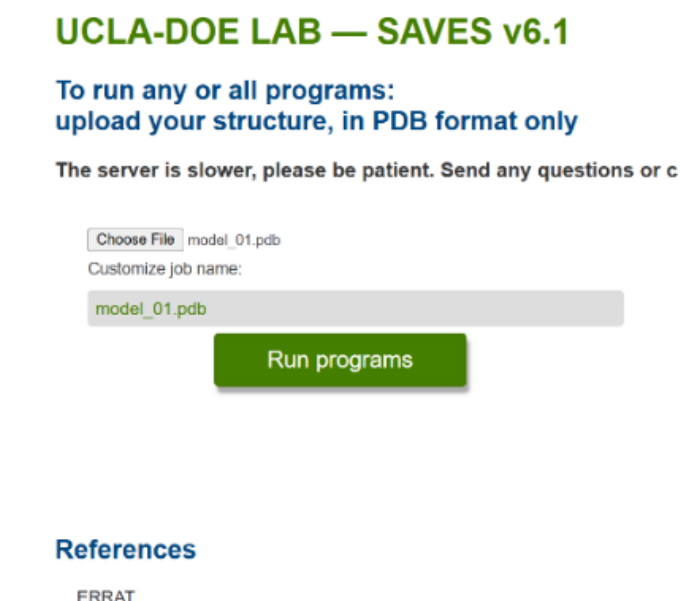
- 1) Akses terhadap web SAVES dilakukan melalui laman <https://saves.mbi.ucla.edu/> (Gambar 3.15).



Gambar 3.15 Tampilan Web SAVES

Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

- 2) Berkas reseptor hasil pemodelan dalam format *.pdb* yang telah disimpan sebelumnya diunggah ke dalam sistem melalui *Choose File*, kemudian proses validasi dijalankan melalui *Run programs* untuk menampilkan daftar program validasi reseptor (Gambar 3.16).



ERRAT

Gambar 3.16 Proses Validasi Reseptor

Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

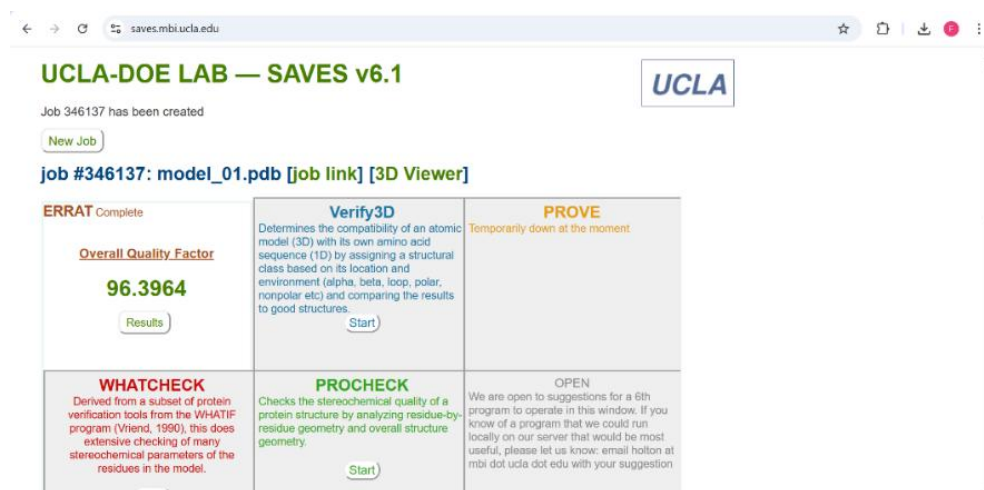
- 3) Program *ERRAT* dipilih sebagai metode analisis, kemudian proses validasi dijalankan untuk menilai kualitas struktur reseptor (Gambar 3.17).



Gambar 3.17 Tampilan Daftar Program Validasi

Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

- 4) Hasil analisis ditampilkan oleh sistem dalam bentuk nilai *ERRAT score* yang digunakan untuk menunjukkan tingkat keakuratan model struktur protein (Gambar 3.18).



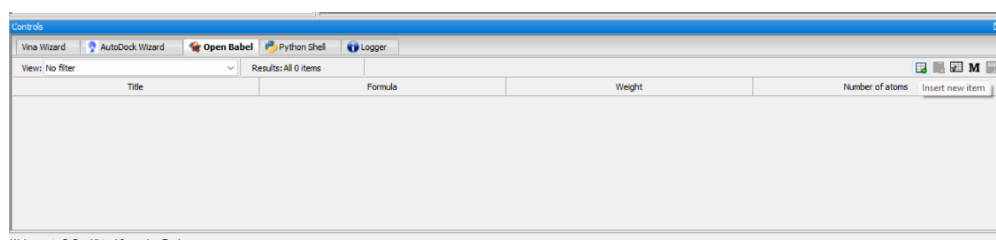
Gambar 3.18 *ERRAT Score*

Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

3.4.7 Preparasi Ligan dan Reseptor

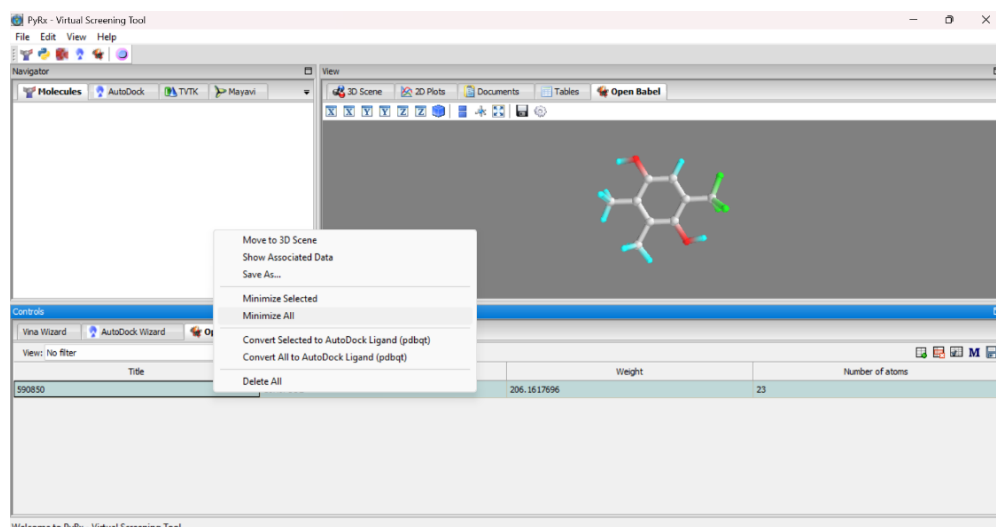
Proses preparasi ligan dan reseptor bertujuan untuk memastikan bahwa kedua komponen siap digunakan dalam simulasi *molecular docking*. Tahapan preparasi ini dilakukan dengan menggunakan aplikasi PyRx dan Biovia Discovery Studio Visualizer 2025, dengan langkah-langkah sebagai berikut:

- 1) Preparasi Ligan
 - a) Preparasi ligan dilakukan menggunakan aplikasi PyRx dengan memanfaatkan *Open Babel* untuk mengunggah berkas ligan hasil unduhan dari basis data PubChem melalui *Insert New Item* (Gambar 3.19).



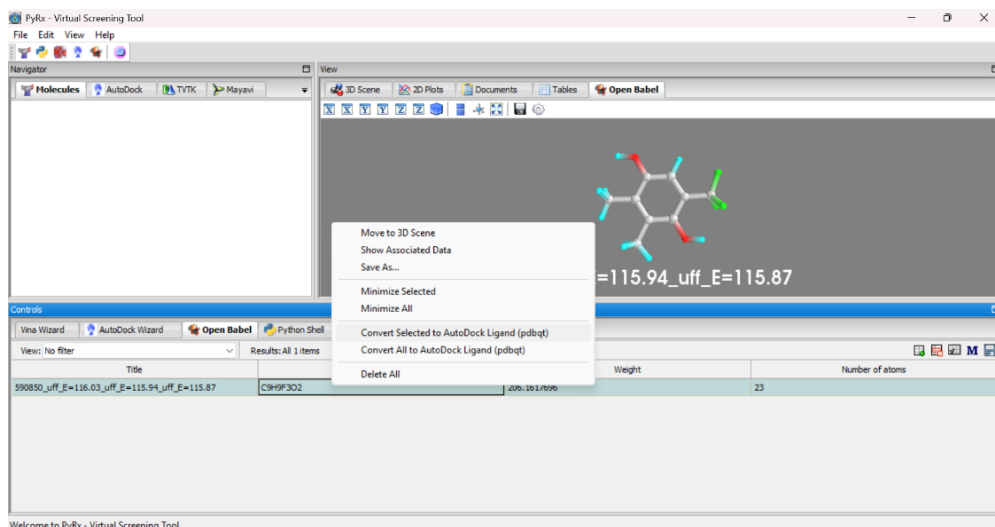
Gambar 3.19 Pengunggahan Ligan
Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

- b) Ligan yang telah berhasil dimasukkan selanjutnya mengalami proses minimisasi energi untuk memperoleh struktur dengan kondisi energi yang lebih stabil. Proses minimisasi energi dilakukan sebanyak tiga kali menggunakan opsi *Minimize All* (Gambar 3.20).



Gambar 3.20 Minimisasi Energi
Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

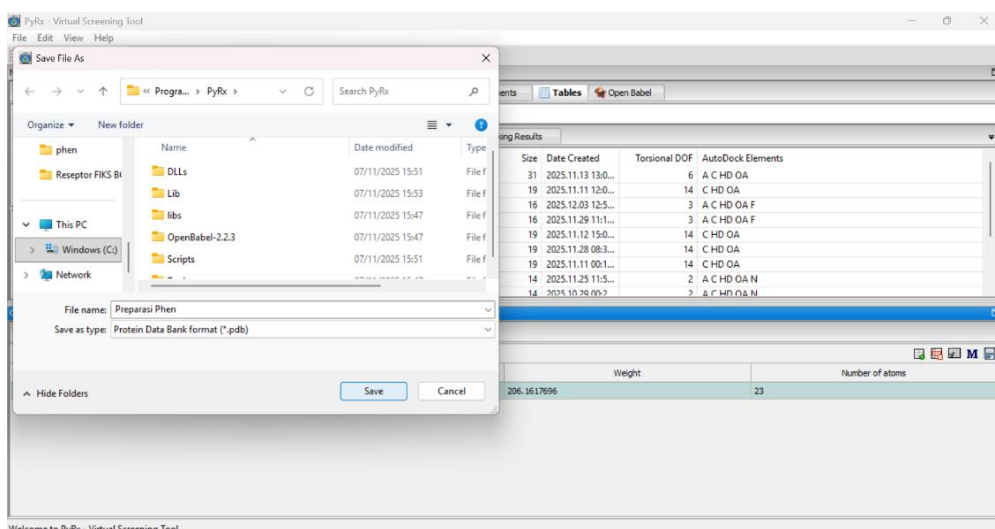
- c) Berkas ligan kemudian dikonversi ke dalam format *.pdbqt* menggunakan opsi *Convert Selected to AutoDock Ligand* (Gambar 3.21).



Gambar 3.21 Konversi File Ligan menjadi Format (.pdbqt)

Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

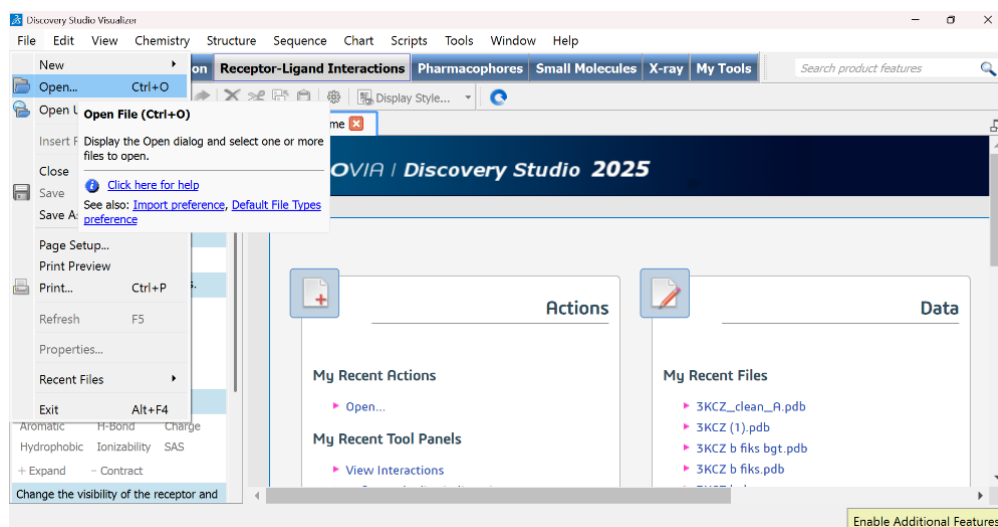
- d) Hasil konversi ligan selanjutnya disimpan sebagai berkas dalam format *.pdb* untuk digunakan pada tahap simulasi *docking* berikutnya (Gambar 3.22).



Gambar 3.22 Penyimpanan Hasil Preparasi Ligan

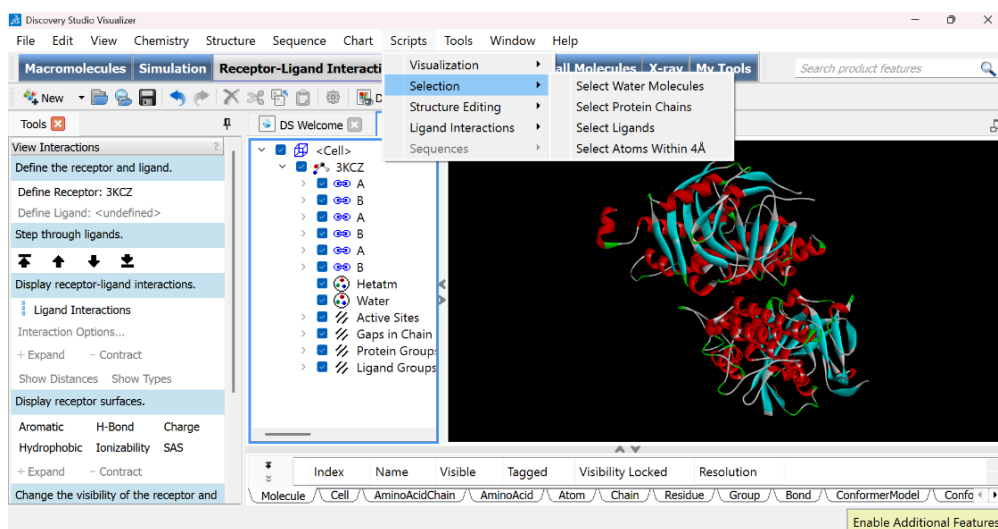
Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

- e) Langkah-langkah ini diulangi untuk setiap senyawa ligan yang akan dipreparasi untuk digunakan dalam simulasi *docking*.
- 2) Preparasi Reseptor
 - a) Preparasi reseptor dilakukan menggunakan aplikasi Biovia Discovery Studio Visualizer 2025 dengan memuat berkas reseptor PARP2 hasil unduhan dari RCSB PDB (Gambar 3.23).



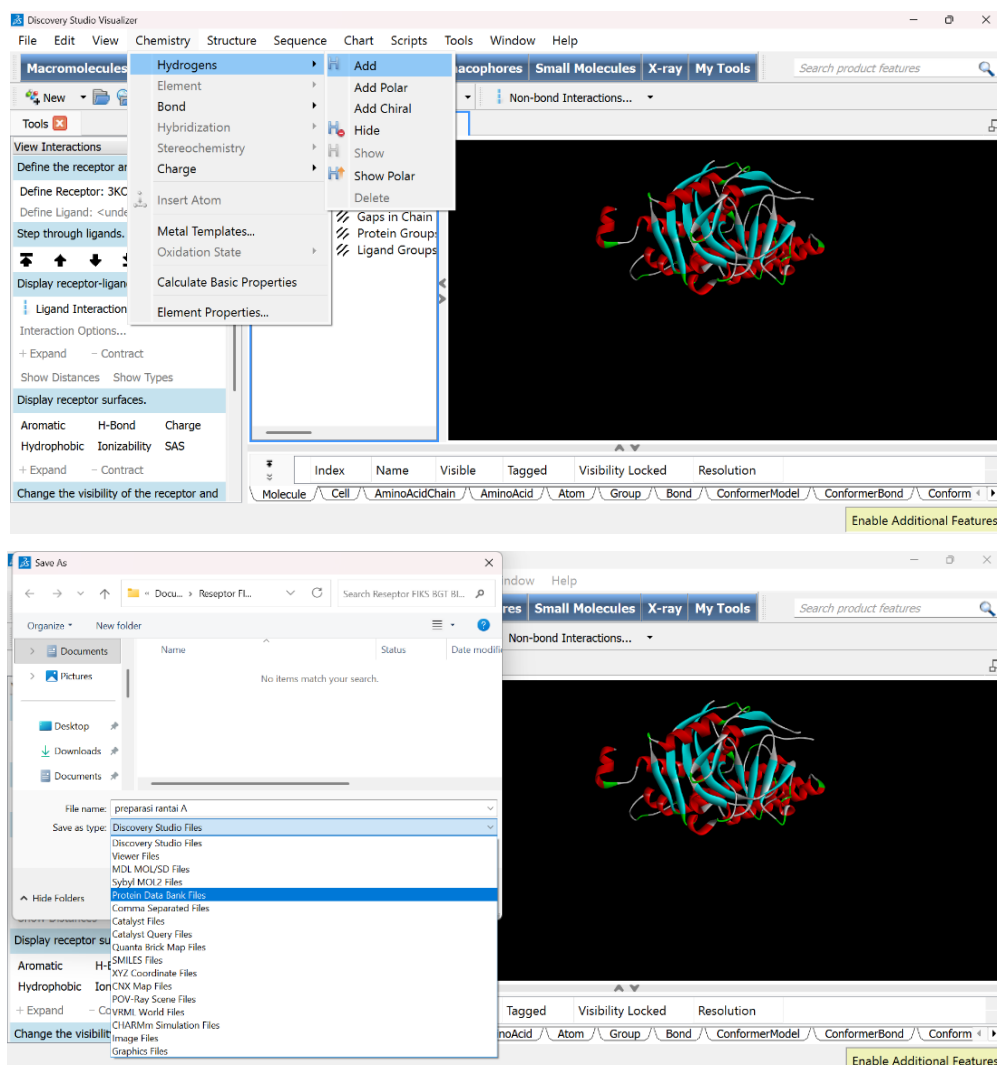
Gambar 3.23 Pengunggahan Reseptor
Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

- b) Struktur reseptor kemudian dibersihkan dengan menghilangkan molekul air serta ligan atau molekul lain yang tidak diperlukan melalui skrip *Select Water Molecules* dan *Select Ligands* (Gambar 3.24).



Gambar 3.24 Pembersihan Struktur Reseptor
Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

- c) Setelah proses pembersihan selesai, dilakukan penambahan atom hidrogen pada struktur reseptor. Selanjutnya, rantai B dihilangkan sehingga hanya rantai A yang digunakan dalam simulasi *docking*. Hasil preparasi reseptor kemudian disimpan dalam format *.pdb* untuk digunakan pada tahap simulasi *docking* selanjutnya (Gambar 3.25).



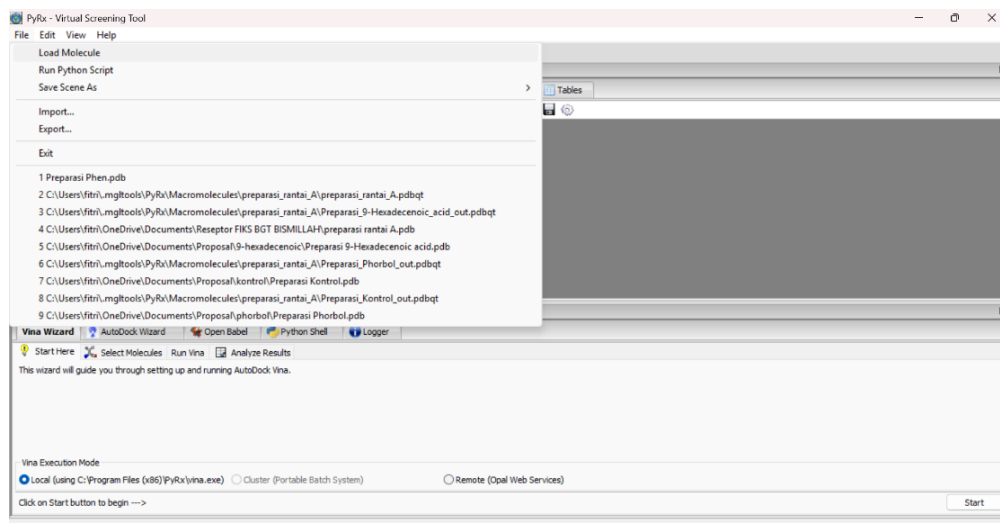
Gambar 3.25 Penyimpanan Hasil Preparasi Reseptor

Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

3.4.8 Tahap Simulasi *Molecular Docking*, Ligan Uji, dan Ligan Kontrol terhadap Reseptor

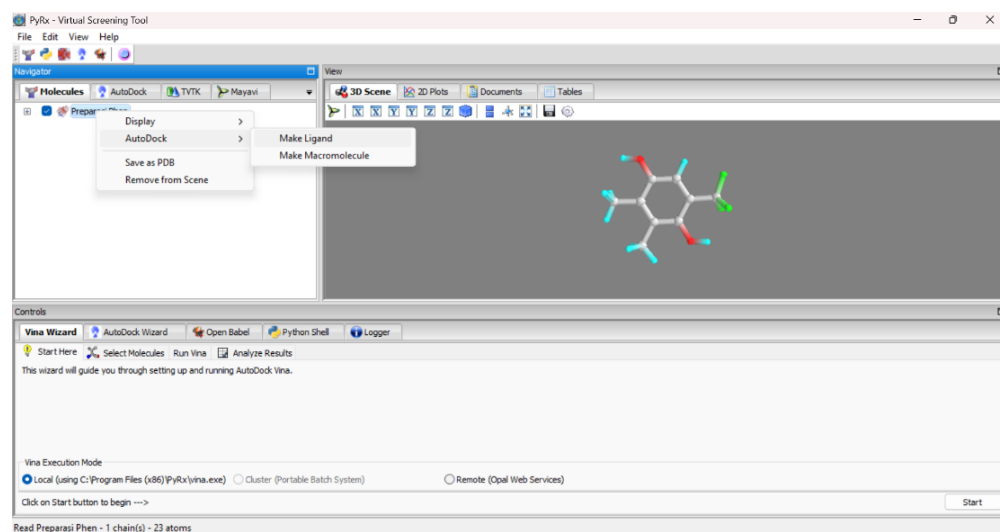
Simulasi *molecular docking* bertujuan untuk memprediksi interaksi antara ligan uji dan reseptor target secara *virtual*. Proses simulasi ini dilakukan menggunakan aplikasi PyRx, dengan tahapan sebagai berikut:

- 1) Simulasi *docking* dilakukan menggunakan aplikasi PyRx dengan memuat berkas reseptor dan ligan yang telah dipreparasi sebelumnya melalui *Load Molecule* (Gambar 3.26).



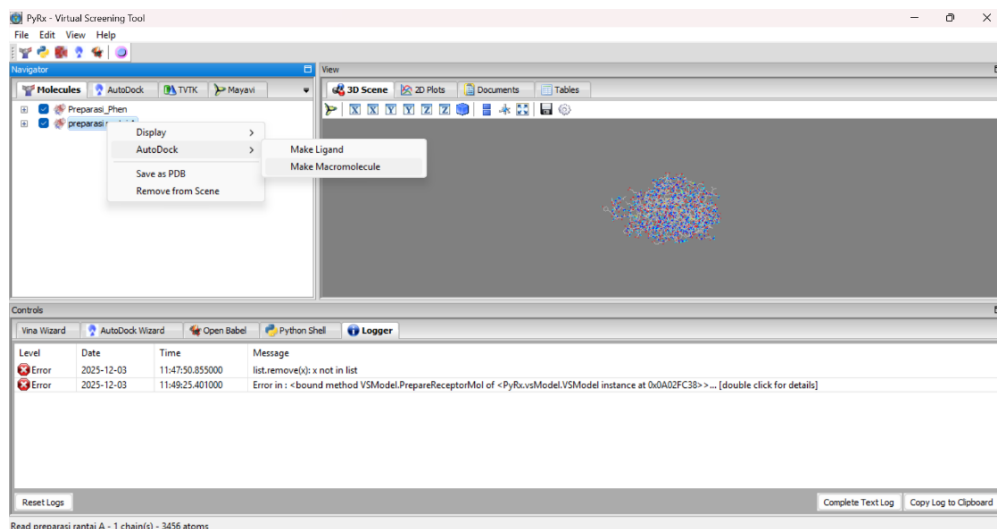
Gambar 3.26 Pengunggahan Berkas Preparasi Ligan dan Reseptor
Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

- 2) Berkas ligan selanjutnya disiapkan sebagai ligan uji dengan menjalankan *AutoDock* → *Make Ligand*. Tahapan ini diulang untuk setiap senyawa ligan yang digunakan dalam simulasi *docking* (Gambar 3.27).



Gambar 3.27 *Make Ligand*
Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

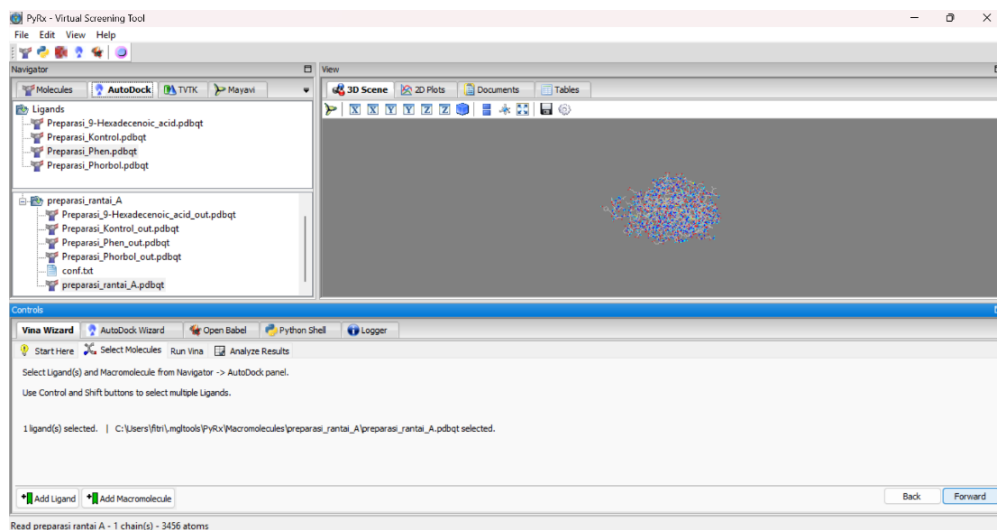
- 3) Berkas reseptor dipersiapkan sebagai makromolekul dengan menjalankan *AutoDock* → *Make Macromolecule* (Gambar 3.28).



Gambar 3.28 *Make Macromolecule*

Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

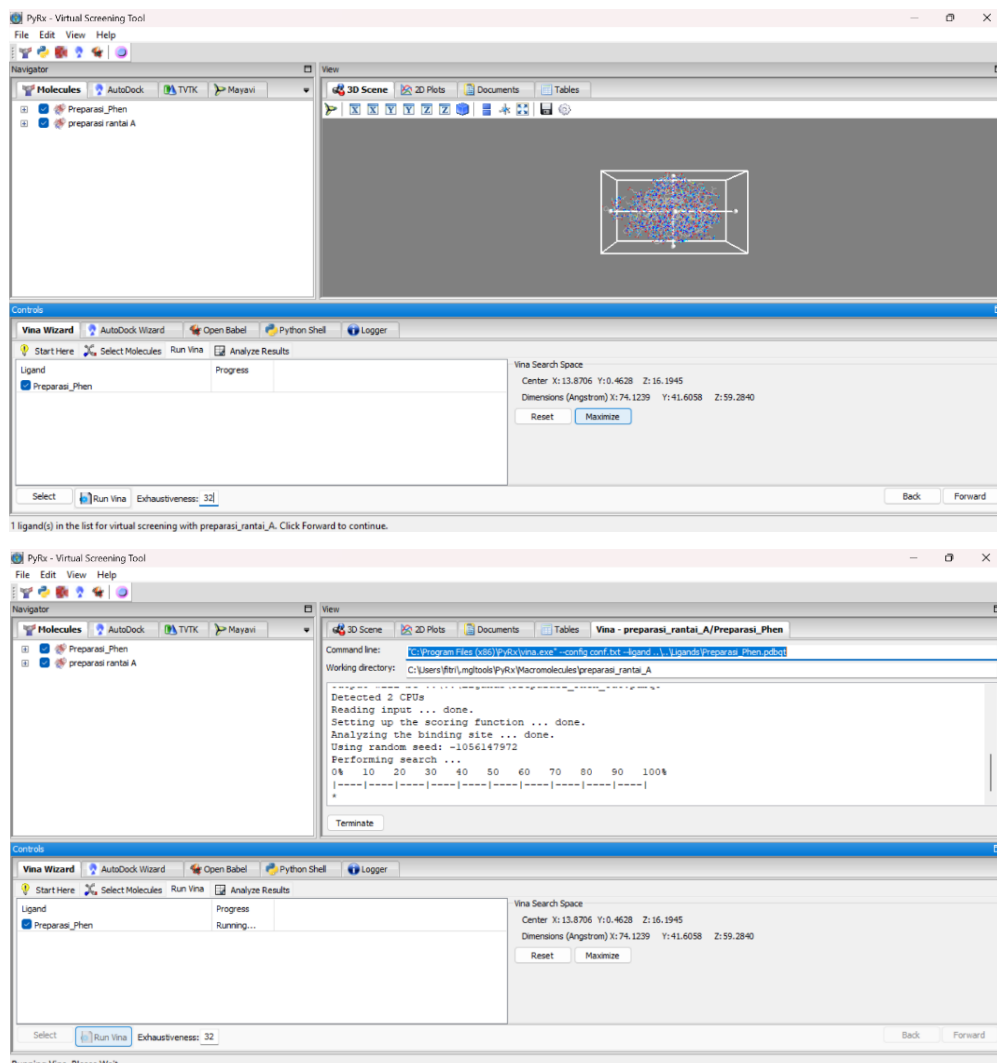
- 4) Seluruh molekul yang akan digunakan dalam simulasi *docking* ditetapkan melalui *Vina Wizard* pada tahap *Select Molecules*, kemudian proses dilanjutkan ke tahap berikutnya dengan memilih *Forward* (Gambar 3.29).



Gambar 3.29 Pemilihan Molekul dalam Fitur *Vina Wizard* sebelum
Proses *Docking*

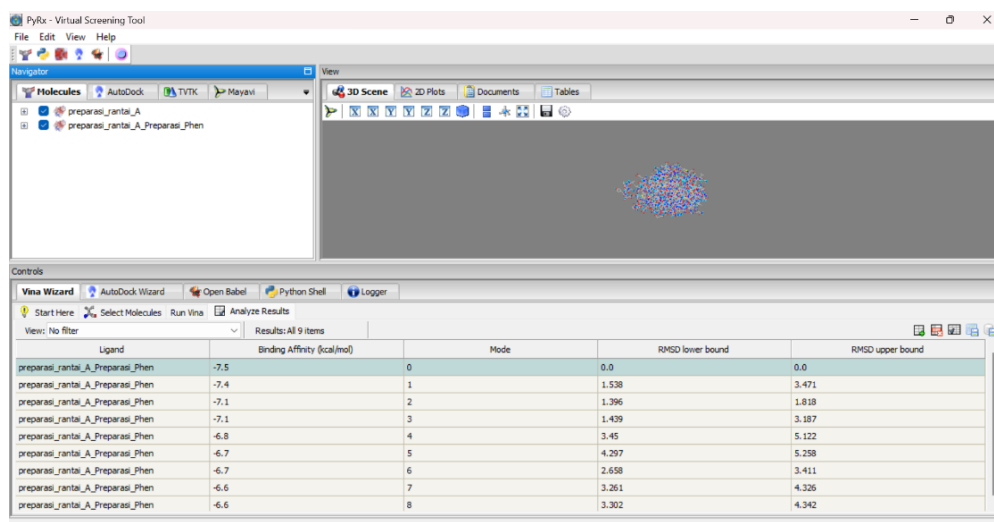
Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

- 5) Pengaturan *grid box* dilakukan dengan menggunakan opsi *Maximize* untuk memastikan ligan uji, ligan kontrol, dan reseptor berada dalam area target analisis. Setelah pengaturan *grid box* selesai, proses simulasi *docking* dijalankan melalui *Run Vina* (Gambar 3.30).



Gambar 3.30 Proses *Docking*
Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

- 6) Hasil simulasi *docking* ditampilkan dalam beberapa mode dengan nilai *binding affinity* yang berbeda. Mode 0 atau mode 1 dipilih sebagai hasil *docking* terbaik berdasarkan nilai afinitas ikatan tertinggi. Selanjutnya, hasil *docking* disimpan dalam format PDB untuk dianalisis dan divisualisasikan lebih lanjut menggunakan Biovia Discovery Studio Visualizer 2025 (Gambar 3.31).



PyRx - Virtual Screening Tool

Navigator

- Molecules
 - preparasi_rantai_A
 - preparasi_rantai_A_Preparasi_Phen

3D Scene

Controls

Vina Wizard

Start Here | Select Molecules | Run Vina | Analyze Results

View: No filter | Results: All 9 items

Ligand	Binding Affinity (kcal/mol)	Mode	RMSD lower bound	RMSD upper bound
preparasi_rantai_A_Preparasi_Phen	-7.5	0	0.0	0.0
preparasi_rantai_A_Preparasi_Phen	-7.4	1	1.538	3.471
preparasi_rantai_A_Preparasi_Phen	-7.1	2	1.396	1.818
preparasi_rantai_A_Preparasi_Phen	-7.1	3	1.439	3.187
preparasi_rantai_A_Preparasi_Phen	-6.8	4	3.45	5.122
preparasi_rantai_A_Preparasi_Phen	-6.7	5	4.297	5.258
preparasi_rantai_A_Preparasi_Phen	-6.7	6	2.658	3.411
preparasi_rantai_A_Preparasi_Phen	-6.6	7	3.261	4.326
preparasi_rantai_A_Preparasi_Phen	-6.6	8	3.302	4.342

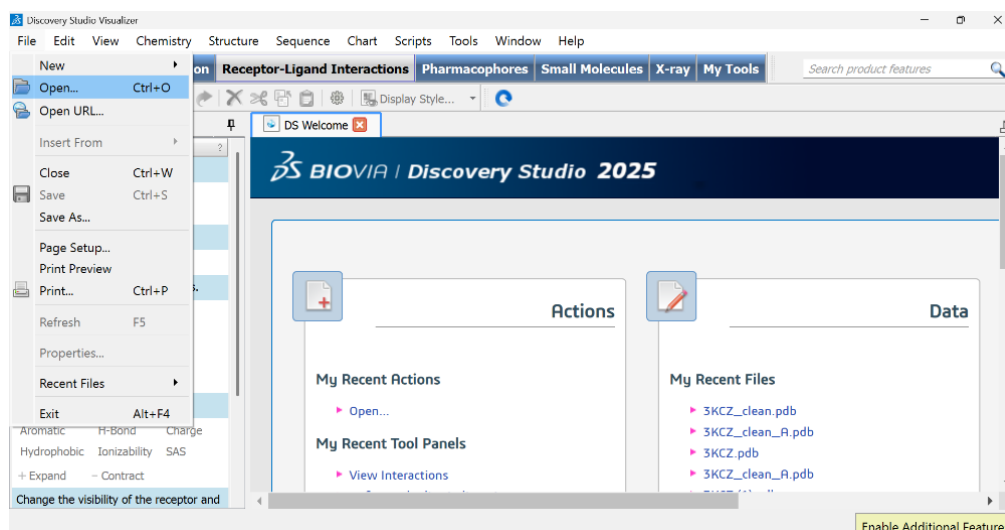
Gambar 3. 31 Hasil dan Penyimpanan *Docking*

Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

3.4.9 Tahap Visualisasi Hasil *Docking*

Setelah proses simulasi *molecular docking* selesai, langkah berikutnya adalah melakukan visualisasi hasil *docking* menggunakan aplikasi Biovia Discovery Studio Visualizer 2025, dengan langkah-langkah sebagai berikut:

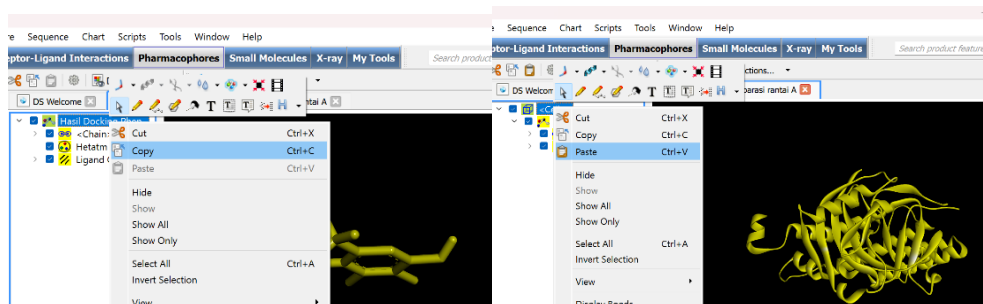
- 1) Berkas ligan hasil *docking* dan berkas reseptor dimuat ke dalam aplikasi Biovia Discovery Studio Visualizer 2025 melalui *Open File* sehingga struktur kompleks ligan dan reseptor dapat ditampilkan (Gambar 3.32).



Gambar 3.32 Pengunggahan File Ligan Hasil *Docking* dan Reseptor

Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

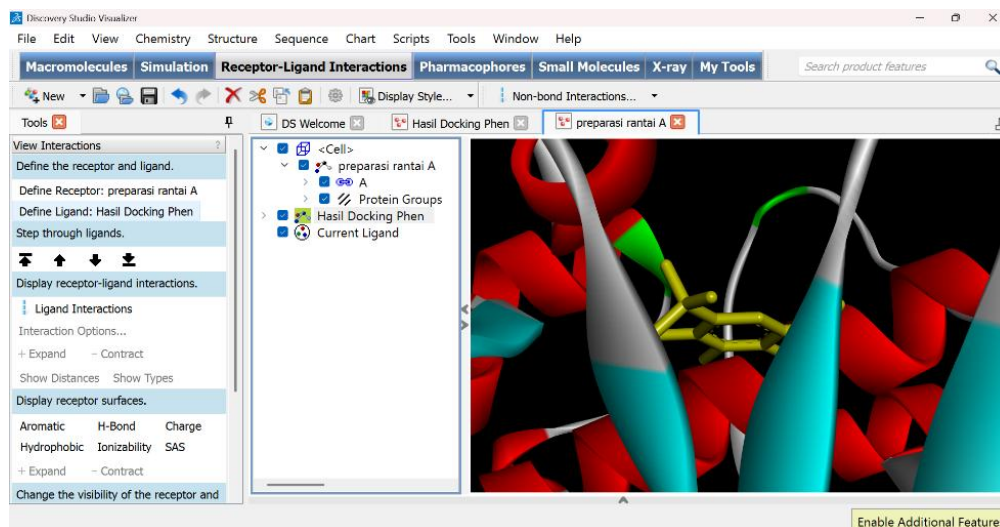
- 2) Ligan hasil *docking* kemudian digabungkan dengan struktur reseptor dalam satu *workspace* dengan menyalin ligan dan menempelkannya ke dalam berkas reseptor (Gambar 3.33).



Gambar 3.33 Penggabungan Ligan Hasil *Docking* dan Reseptor dalam Satu *Workspace*

Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

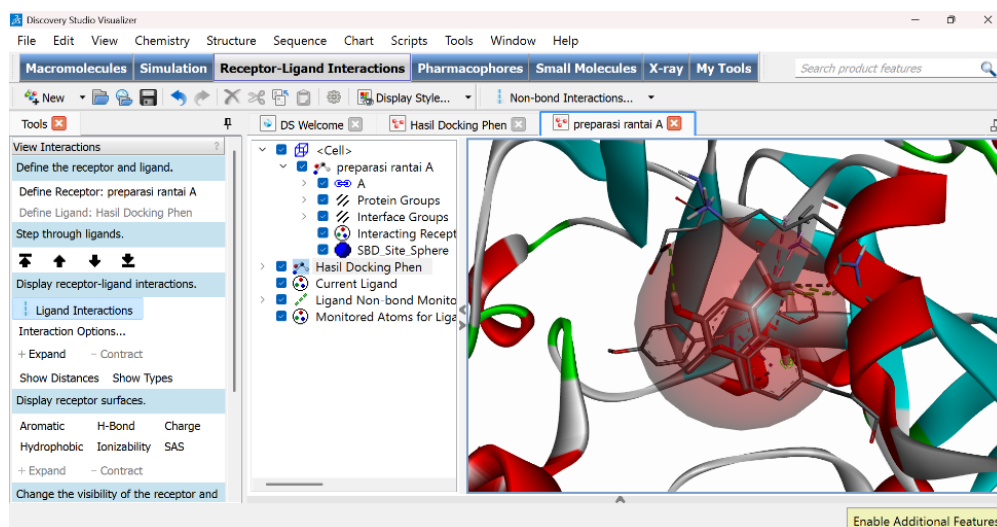
- 3) Setelah ligan berhasil digabungkan, dilakukan proses *Define Ligand* untuk memastikan perangkat lunak mengenali molekul ligan secara tepat sehingga analisis interaksi dapat dilakukan secara optimal (Gambar 3.34).



Gambar 3.34 *Define Ligand*

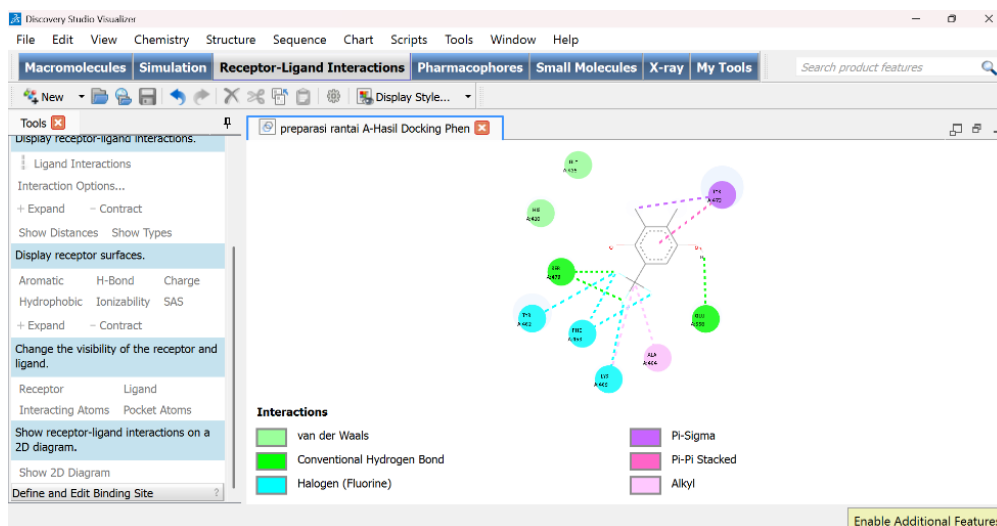
Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

- 4) Visualisasi interaksi antara ligan dan reseptor ditampilkan melalui *Ligand Interaction* dalam bentuk tampilan tiga dimensi (3D), yang menunjukkan berbagai jenis interaksi seperti ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik pada situs aktif reseptor PARP2 (Gambar 3.35).



Gambar 3.35 Visualisasi 3D
Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

- 5) Untuk memperoleh tampilan interaksi yang lebih sederhana dan mudah dipahami, visualisasi dua dimensi ditampilkan melalui *Show 2D Diagram* sehingga interaksi antara ligan dan residu asam amino pada situs aktif dapat dianalisis secara lebih jelas (Gambar 3.36).



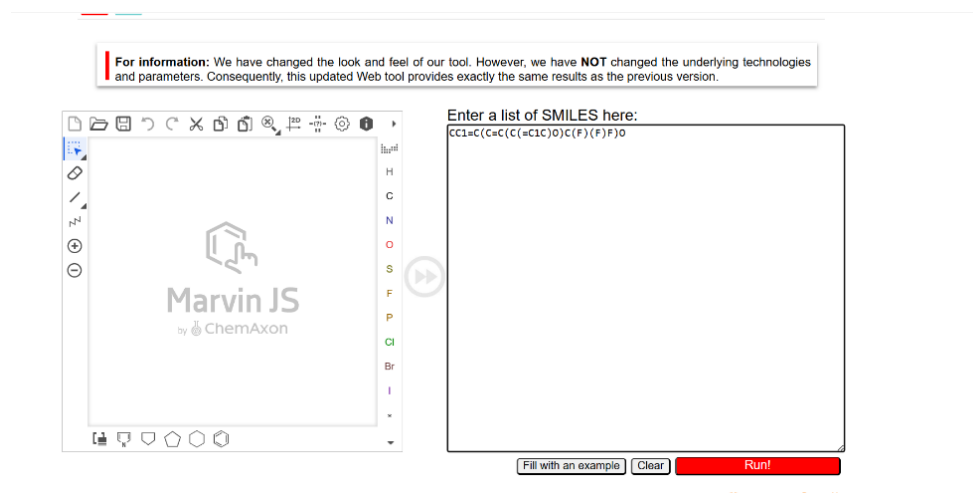
Gambar 3.36 Visualisasi 2D
Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

3.4.10 Tahap Analisis Sifat Fisikokimia

Analisis fisikokimia terhadap senyawa metabolit sekunder dilakukan pada laman SwissADME, dengan langkah-langkah sebagai berikut:

- 1) Data senyawa disiapkan dengan cara menyalin format SMILES dari senyawa yang telah diperoleh melalui basis data PubChem.

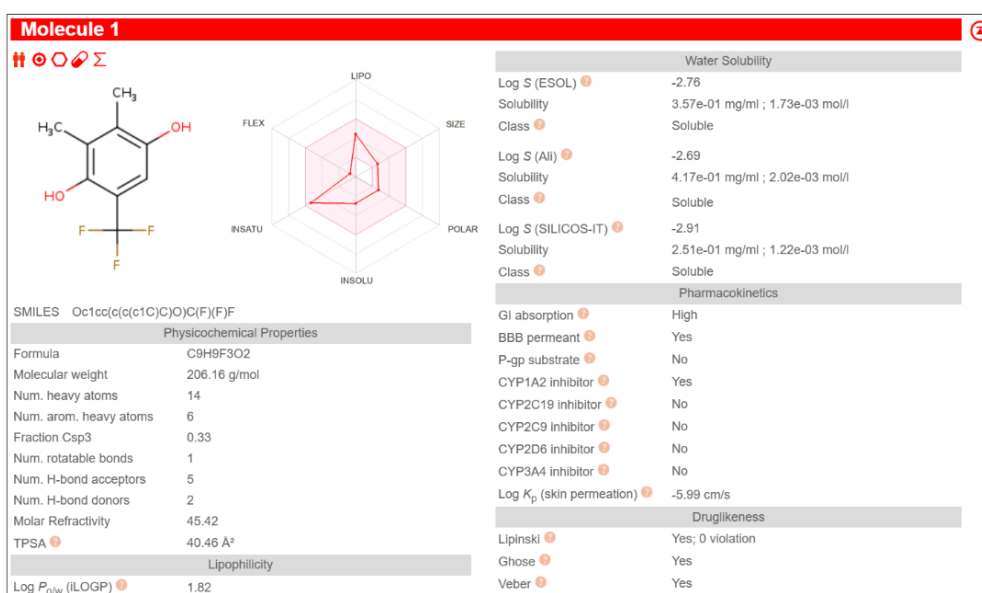
- 2) Analisis sifat fisikokimia dilakukan menggunakan web SwissADME melalui laman <http://www.swissadme.ch/>. Format SMILES senyawa dimasukkan ke dalam kolom *Enter a list of SMILES here*, kemudian proses analisis dijalankan melalui *Run* (Gambar 3.37).



Gambar 3.37 Proses Analisis Sifat Fisikikomia

Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

- 3) Sistem selanjutnya menampilkan hasil analisis yang mencakup berbagai parameter penting, seperti fisikokimia, farmakokinetik, lipofilisitas (*Lipophilicity*), kelayakan sebagai obat (*Druglikeness*), dan kelarutan dalam air (*Water Solubility*) (Gambar 3.38).



Log P_{ow} (XLOGP3)	2.21	Egan	Yes
Log P_{ow} (WLOGP)	3.89	Muegge	Yes
Log P_{ow} (MLOGP)	2.51	Bioavailability Score	0.55
Log P_{ow} (SILICOS-IT)	2.83	Medicinal Chemistry	
Consensus Log P_{ow}	2.65	PAINS	0 alert
		Brenk	1 alert: hydroquinone
		Leadlikeness	No; 1 violation: MW<250
		Synthetic accessibility	1.66

Gambar 3.38 Hasil Analisis Sifat Fisikokimia

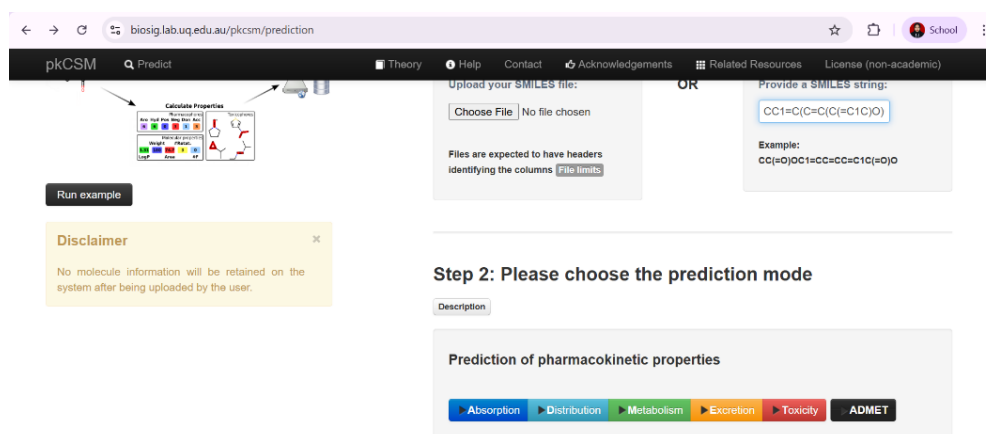
Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

- 4) Hasil analisis dikaji untuk mengevaluasi potensi, keamanan, dan efektivitas senyawa sebelum dipertimbangkan sebagai kandidat obat. Evaluasi ini juga dilakukan dengan mengacu pada Aturan *Lipinski's Rule of Five*, yang merupakan salah satu komponen utama dalam analisis *drug-likeness* untuk menilai kelayakan suatu senyawa agar dapat dikembangkan sebagai obat oral.
- 5) Langkah-langkah ini diulangi untuk setiap senyawa ligan yang akan dianalisis sifat fisikokimianya.

3.4.11 Tahap Analisis Sifat Farmakokinetik

Tahap prediksi sifat farmakokinetik dari senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman Purwoceng dilakukan menggunakan *website* pkCSM sesuai indikator ADME (*Absorption, Distribution, Metabolism, dan Excretion*) dengan langkah-langkah sebagai berikut:

- 1) Analisis farmakokinetik dilakukan melalui web pkCSM yang diakses pada laman <https://biosig.lab.uq.edu.au/pkcsm/prediction>. Kode SMILES senyawa dimasukkan ke dalam sistem, kemudian proses prediksi dijalankan pada mode ADME (Gambar 3.39).



Gambar 3.39 Proses Prediksi Farmakokinetik

Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

- 2) Sistem menampilkan hasil prediksi farmakokinetik berdasarkan parameter ADME (Gambar 3.40).

Molecule Depiction

SMILES: CC1=C(C(=C(C(=C1)O)C(F)(F)F)O

Molecule properties:

Property	Model Name	Predicted Value	Unit
Absorption	Water solubility	-2.672	Numeric (log mol/L)
Absorption	Caco2 permeability	1.734	Numeric (log Papp in 10 ⁻⁶ cm/s)
Absorption	Intestinal absorption (human)	88.67	Numeric (% Absorbed)
Absorption	Skin Permeability	-2.594	Numeric (log Kp)
Absorption	P-glycoprotein substrate	No	Categorical (Yes/No)
Absorption	P-glycoprotein I inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
Absorption	P-glycoprotein II inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
Distribution	VDss (human)	0.009	Numeric (log L/kg)
Distribution	Fraction unbound (human)	0.392	Numeric (Fu)
Distribution	BBB permeability	0.229	Numeric (log BB)
Distribution	CNS permeability	-2.394	Numeric (log PS)

Molecule properties:

Descriptor	Value
Molecular Weight	206.163
LogP	2.73344
#Rotatable Bonds	0
#Acceptors	2
#Donors	2
Surface Area	78.611

ADME Predictions:

Category	Model Name	Predicted Value	Unit
Distribution	CNS permeability	-2.394	Numeric (log PS)
Metabolism	CYP2D6 substrate	No	Categorical (Yes/No)
Metabolism	CYP3A4 substrate	No	Categorical (Yes/No)
Metabolism	CYP1A2 inhibitor	Yes	Categorical (Yes/No)
Metabolism	CYP2C19 inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
Metabolism	CYP2C9 inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
Metabolism	CYP2D6 inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
Metabolism	CYP3A4 inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
Excretion	Total Clearance	0.372	Numeric (log ml/min/kg)
Excretion	Renal OCT2 substrate	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	AMES toxicity	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	Max. tolerated dose (human)	0.853	Numeric (log mg/kg/day)
Toxicity	hERG I inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	hERG II inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	Oral Rat Acute Toxicity (LD50)	2.628	Numeric (mol/kg)
Toxicity	Oral Rat Chronic Toxicity (LOAEL)	1.252	Numeric (log mg/kg_bw/day)
Toxicity	Hepatotoxicity	Yes	Categorical (Yes/No)
Toxicity	Skin Sensitisation	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	T.Pyriformis toxicity	1.366	Numeric (log ug/L)
Toxicity	Minnow toxicity	1.983	Numeric (log mM)

Run another prediction | Back

Logos: Instituto René Rachou FIOCRUZ MINAS, THE UNIVERSITY OF MELBOURNE, UNIVERSITY OF CAMBRIDGE

Best viewed using Chrome on 1280x1024 resolution and above

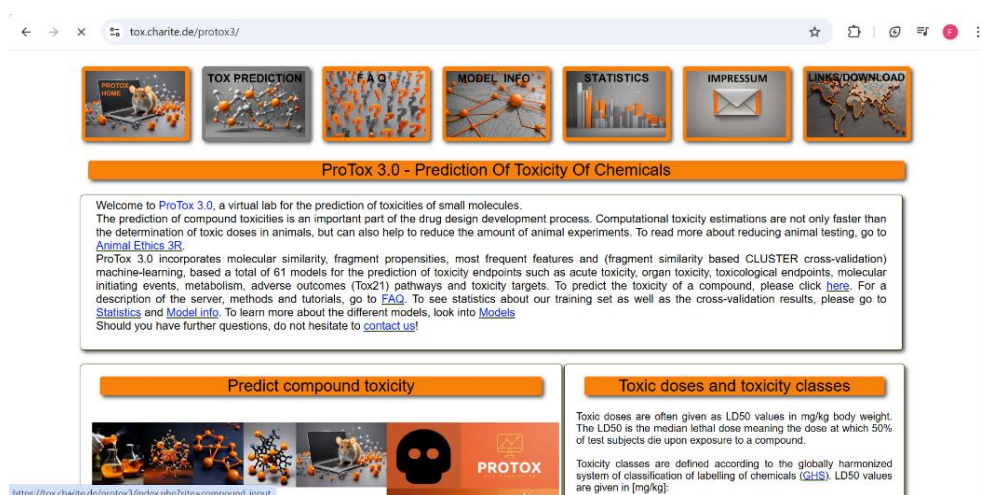
Gambar 3.40 Hasil Prediksi Farmakokinetik
Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

- 3) Langkah-langkah ini diulangi untuk setiap senyawa ligan yang akan diprediksi sifat farmakokinetiknya.

3.4.12 Tahap Analisis Toksisitas

Tahap prediksi toksisitas dilakukan menggunakan web ProTox 3.0, dengan langkah-langkah sebagai berikut:

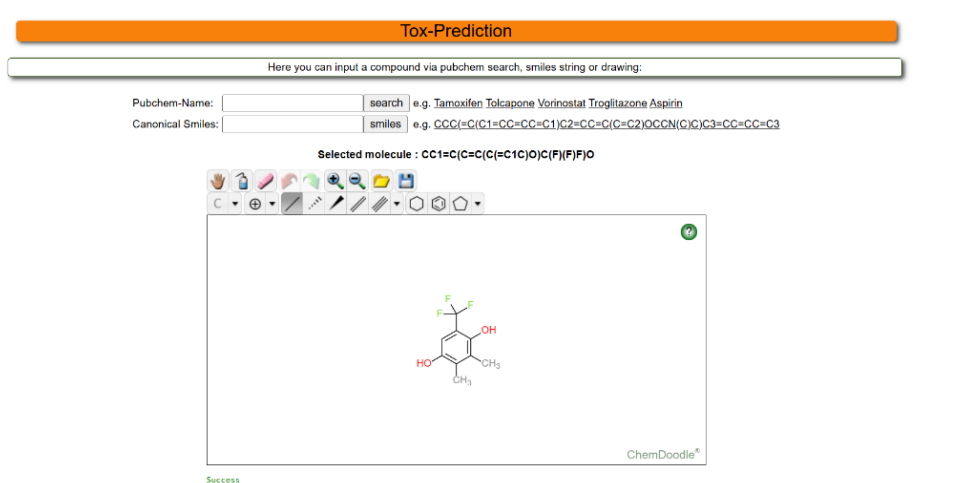
- 1) Analisis toksisitas dilakukan melalui platform ProTox 3.0 yang diakses pada laman <https://tox.charite.de/>. Tahap prediksi toksisitas dijalankan melalui *Tox Prediction* (Gambar 3.41).



Gambar 3.41 Tampilan Web ProTox 3.0

Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

- 2) Data senyawa dimasukkan ke dalam sistem dengan mencantumkan nama senyawa sesuai basis data PubChem serta menyalin format SMILES senyawa ke dalam kolom yang tersedia (Gambar 3.42).



Gambar 3.42 Input Nama Senyawa dan SMILES pada ProTox 3.0

Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

- 3) Jenis prediksi toksisitas ditentukan dengan memilih parameter *Organ Toxicity* dan *Toxicity End Point*, kemudian proses analisis toksisitas dijalankan oleh sistem (Gambar 3.43).

Please select any additional models to predict:

Acute Toxicity and binding to 16 toxicity targets is always computed, further models can take ~10s time each

Organ Toxicity

☒ Hepatotoxicity ☐ Neurotoxicity ☐ Nephrotoxicity ☐ Respiratory toxicity

☐ Cardiotoxicity

Toxicity end points

☒ Carcinogenicity ☒ Immunotoxicity ☒ Mutagenicity ☒ Cytotoxicity ☐ BBB-barrier

Ecotoxicity ☐ Clinical toxicity ☐ Nutritional toxicity

Tox21 Nuclear receptor signalling pathways

☐ Aryl hydrocarbon Receptor (AhR)

☐ Androgen Receptor (AR)

☐ Androgen Receptor Ligand Binding Domain (AR-LBD)

☐ Aromatase

☐ Estrogen Receptor Alpha (ER)

☐ Estrogen Receptor Ligand Binding Domain (ER-LBD)

☐ Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma (PPAR-Gamma)

Tox21 Stress response pathways

☐ Nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2/antioxidant responsive element (nrf2/ARE)

☐ Heat shock factor response element (HSE)

☐ Mitochondrial Membrane Potential (MMP)

☐ Phosphoprotein (Tumor Suppressor) p53

☐ ATPase family AAA domain containing protein 5 (ATAD5)

Molecular Initiating Events

☐ Thyroid hormone receptor alpha (THRa)

☐ Thyroid hormone receptor beta (THRβ)

☐ Transthyretin (TTR)

☐ Ryanodine receptor (RyR)

☐ GABA receptor (GABAR)

☐ Glutamate N-methyl-D-aspartate receptor (NMDAR)

☐ alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionate receptor (AMPA)

☐ Kainate receptor (KAR)

☐ Acetylcholinesterase (AChE)

☐ Constitutive androstane receptor (CAR)

☐ Pregnane X receptor (PXR)

☐ NADH-quinone oxidoreductase (NADHox)

☐ Voltage gated sodium channel (VGSC)

☐ Na⁺/I⁻ symporter (NIS)

Metabolism

☐ Cytochrome CYP1A2 ☐ Cytochrome CYP2C19 ☐ Cytochrome CYP2C9

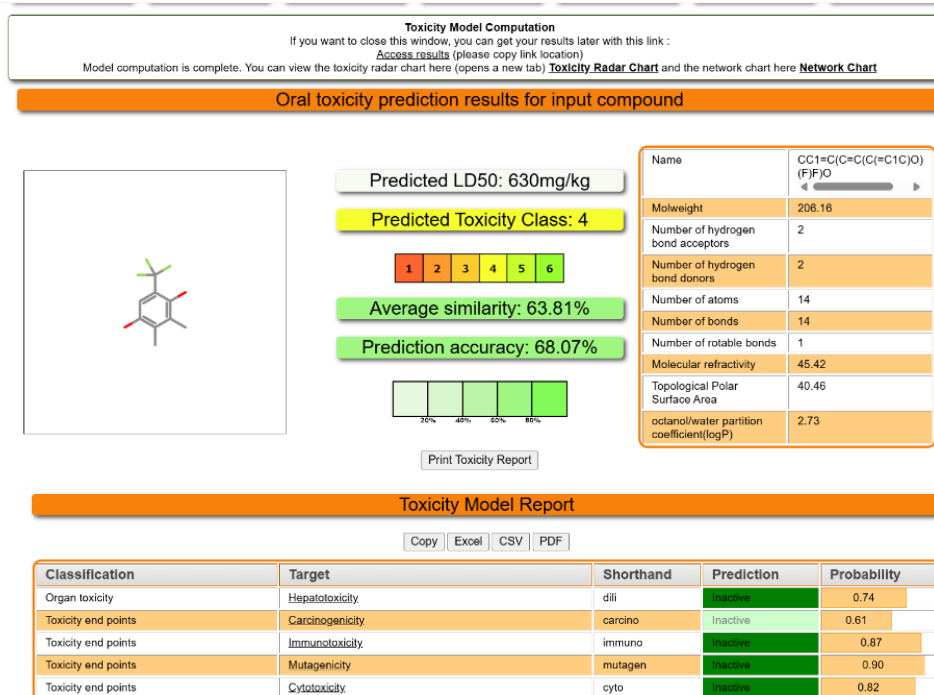
☐ Cytochrome CYP2D6 ☐ Cytochrome CYP3A4 ☐ Cytochrome CYP2E1

All None

Start Tox-Prediction

Gambar 3.43 Jenis Prediksi Toksisitas
Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

- 4) Sistem menampilkan hasil prediksi toksisitas yang mencakup nilai LD₅₀ (Lethal Dose 50), kelas toksisitas senyawa, serta potensi efek toksik terhadap organ tertentu (Gambar 3.44).



Gambar 3.44 Hasil Prediksi Toksisitas
Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

- 5) Langkah-langkah ini diulangi untuk setiap senyawa ligan yang akan diprediksi toksisitasnya.

3.5 Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data yang diterapkan dalam penelitian ini menggunakan studi dokumentasi yang meliputi studi literatur dari jurnal, artikel ilmiah, hasil penelitian, serta *screening database* biologi melalui *website*. Selain itu, teknik pengumpulan data dalam penelitian ini dilakukan secara *in silico* menggunakan metode *molecular docking* untuk memprediksi dan memvisualisasikan interaksi antara ligan dengan reseptor.

3.6 Teknik Analisis Data

Teknik analisis data dalam penelitian ini dilakukan menggunakan statistik deskriptif. Analisis pertama berupa simulasi *molecular docking* antara senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman Purwoceng dengan salah satu protein target ovarium, yaitu PARP2, menggunakan aplikasi Biovia Discovery Studio Visualizer 2025 dan PyRx. Sebagai kontrol, digunakan ligan 3-aminobenzamide. Hasil *molecular docking* dianalisis secara deskriptif melalui penyajian nilai *binding affinity* (kcal/mol), *Root Mean Square Deviation* (RMSD), dan jenis interaksi ikatan yang terbentuk antara ligan dan reseptor. Hasil yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel kemudian diinterpretasikan secara deskriptif. Nilai *binding affinity* dibandingkan secara deskriptif untuk melihat kecenderungan kekuatan afinitas ligan terhadap reseptor, dimana semakin kecil (semakin negatif) nilai energi ikatan menunjukkan ikatan yang semakin stabil (Putri *et al.*, 2024).

Tahap berikutnya adalah analisis sifat fisikokimia ligan menggunakan aturan *Lipinski's Rule of Five* melalui web SwissADME (Hartono *et al.*, 2022). Lima parameter yang dianalisis meliputi berat massa molekul (BM) <500 Da, koefisien partisi oktanol/air (LogP) <5, jumlah *hydrogen bond donor* (HBD) <5, dan jumlah *hydrogen bond acceptor* (HBA) <10 (Shofi, 2021). Data yang disajikan dalam bentuk tabel kemudian dideskripsikan kecenderungannya apakah memenuhi

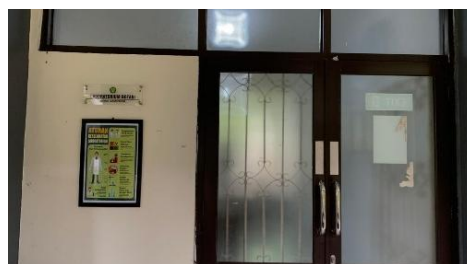
kriteria kelayakan obat secara oral atau tidak. Selanjutnya, prediksi sifat farmakokinetik ligan dianalisis secara deskriptif menggunakan indikator ADME (*Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion*) melalui web pkCSM. Data ADME disajikan dalam bentuk tabel dan dianalisis secara deskriptif untuk memberikan gambaran kemampuan absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi setiap ligan. Evaluasi toksisitas, digunakan alat online ProTox 3.0 dengan parameter seperti nilai LD₅₀, kelas toksisitas, prediksi hepatotoksitas, karsinogenisitas, imunitoksitas, mutagenisitas, dan sitotoksitas. Hasil yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel kemudian diinterpretasikan secara deskriptif untuk menunjukkan tingkat keamanan setiap ligan.

3.7 Waktu dan Tempat Penelitian

Pengujian senyawa ekstrak kalus Purwoceng dengan (GC-MS) dilaksanakan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada yang ditunjukkan pada gambar 3.45 (a). Pengujian secara *in silico* dilaksanakan di Laboratorium Botani, Jurusan Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Siliwangi yang ditunjukkan pada gambar 3.45 (b). Adapun rincian waktu penelitian dapat dilihat pada tabel 3.3 di bawah ini.



A



B

Gambar 3.45 (a) Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada; (b) Laboratorium Botani Universitas Siliwangi

Sumber: (a) *Website* (LPPT UGM), 2025; (b) Dokumentasi Peneliti, 2025

Tabel 3.3 Jadwal Kegiatan Penelitian

No	Kegiatan	2025						2026
		Jul	Agu	Sep	Okt	Nov	Des	Jan
1.	Mendapatkan SK Dosen Pembimbing Skripsi							
2.	Mengkonsultasikan Topik Penelitian							
3.	Pengajuan Judul Penelitian kepada Dosen Pembimbing dan DBS							
4.	Penyusunan dan Bimbingan Proposal							
5.	Seminar Proposal							
6.	Penyempurnaan Proposal							
7.	Melakukan Pengujian <i>In Silico</i>							
8.	Mengolah dan Menyusun Hasil Pengujian <i>In Silico</i>							
9.	Melakukan Bimbingan Skripsi							
10.	Seminar Hasil Penelitian							
11.	Melakukan Revisi Seminar Hasil							
12.	Sidang Skripsi							
13.	Penyempurnaan Skripsi							

Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025