

BAB 3 PROSEDUR PENELITIAN

3.1 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah *in silico screening* dengan analisis deskriptif kuantitatif. Pendekatan ini dilakukan untuk mengetahui potensi senyawa aktif dari air sadapan batang kapulaga Jawa (*W. compacta*) sebagai kandidat antituberkulosis melalui metode *molecular docking*, sifat fisikokimia, farmakokinetik, dan toksisitasnya. Sampel penelitian berupa senyawa aktif yang terkandung dalam air sadapan batang kapulaga Jawa (*W. compacta*) yang diperoleh dari hasil *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS) dan kajian literatur. Sebagai senyawa pembanding, digunakan isoniazid yang diperoleh melalui database kimia. Adapun protein target yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Enoyl-acyl carrier protein reductase* (InhA) (PDB ID: 4TRN) yang berperan penting dalam biosintesis asam mikolat pada *M. tuberculosis* (Masyita *et al.*, 2024).

3.2 Ruang Lingkup Penelitian

Fokus penelitian ini adalah melakukan analisis *in silico* dengan metode *molecular docking* pada senyawa aktif air sadapan batang kapulaga Jawa (*W. compacta*) terhadap enzim InhA. Analisis yang dilakukan meliputi penentuan energi bebas pengikatan (*binding affinity*/ ΔG_{bind}), *Root Mean Square Deviation* (RMSD), dan interaksi ligan dengan residu pada situs aktif protein, sifat farmakokinetik, fisikokimia, serta tingkat toksisitas pada senyawa aktif tersebut. Analisis ini bertujuan untuk memperoleh gambaran potensi senyawa aktif air sadapan batang kapulaga Jawa (*W. compacta*) yang dapat berikatan dengan protein target InhA dan dijadikan sebagai kandidat antituberkulosis oral. Hasil analisis *in silico* ini akan diolah dan disajikan dalam bentuk suplemen bahan ajar biologi berupa *booklet* yang memuat informasi mengenai potensi senyawa aktif air sadapan batang kapulaga Jawa (*W. compacta*) sebagai kandidat antituberkulosis.

3.3 Sumber Data Penelitian

Sumber data penelitian dalam penelitian ini berasal dari dua sumber data, yaitu data primer dan data sekunder. Sumber data primer dalam penelitian ini diperoleh dari hasil identifikasi GC–MS terhadap air sadapan batang kapulaga Jawa

(*W. compacta*) yang telah dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Data ini digunakan untuk menentukan senyawa aktif yang akan dianalisis secara *in silico*. Selain itu, senyawa pembanding isoniazid diunduh dari basis data kimia PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>). Adapun protein target berupa enzim *Enoyl-acyl carrier protein reductase* (InhA) (PDB ID: 4TRN) diunduh dari basis data RCSB Protein Data Bank (PDB) (<https://www.rcsb.org>). Struktur protein tersebut kemudian divalidasi menggunakan web server SAVES v6.0 (<https://saves.mbi.ucla.edu/>) untuk memastikan kualitas model protein sebelum digunakan dalam proses *molecular docking*.

Analisis sifat fisikokimia dan farmakokinetik dilakukan menggunakan web *SwissADME* (<http://www.swissadme.ch/>) dan *pkCSM-pharmacokinetics* (<https://biosig.lab.uq.edu.au/pkcsml/>), sedangkan prediksi toksisitas dianalisis menggunakan web ProTox 3.0 (https://tox.charite.de/protox3/?site=compound_input). Proses simulasi *molecular docking* dilakukan menggunakan aplikasi PyRx dan BIOVIA *Discovery Studio Visualizer* 2024 untuk menilai interaksi antara ligan dan protein target InhA. Sedangkan untuk sumber data sekunder penelitian ini diperoleh berdasarkan hasil studi literatur dari artikel ilmiah yang sudah dipublikasikan pada jurnal nasional maupun internasional dengan kata kunci seperti *Bioactive compounds of Wurfbainia compacta* (Sol. ex Maton), *in silico antituberculosis, antibacterial activity of Wurfbainia compacta* (Sol. ex Maton).

3.4 Langkah – langkah Penelitian

Adapun langkah-langkah yang akan dilakukan dalam penelitian ini terbagi menjadi beberapa tahap, yaitu:

3.4.1 Tahap Persiapan

Dalam tahap persiapan, terdapat beberapa langkah, yaitu:

- 1) Mendapatkan Surat Keputusan Dekan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Siliwangi mengenai penetapan pembimbing skripsi pada 1 Agustus 2025.

- 2) Mengajukan judul penelitian kepada Dosen Pembimbing I, Dosen Pembimbing II, dan Dewan Bimbingan Skripsi pada 8 Agustus 2025.
- 3) Melaksanakan studi pendahuluan di Kampung Adat Kuta, Desa Karangpinal, Kecamatan Tambaksari, Kabupaten Ciamis, Provinsi Jawa Barat terkait pemanfaatan air sadapan batang kapulaga Jawa (*W. compacta*) oleh masyarakat setempat pada 7 Oktober 2025.
- 4) Menyusun proposal penelitian dan melaksanakan bimbingan secara berkala dengan Dosen Pembimbing I dan Dosen Pembimbing II pada Agustus - Oktober 2025.
- 5) Mengajukan permohonan seminar proposal penelitian kepada Dewan Bimbingan Skripsi pada 7 November 2025.
- 6) Melaksanakan seminar proposal pada 11 November 2025.
- 7) Melakukan penyempurnaan proposal penelitian pada November - Desember 2025.
- 8) Melakukan pengujian *in silico* pada Desember 2025 – Januari 2026.
- 9) Melakukan pengolahan data hasil penelitian pada Januari – Februari 2026.
- 10) Menyusun hasil penelitian dan melakukan bimbingan secara berkala dengan Dosen Pembimbing I dan Dosen Pembimbing II pada Januari – Maret 2026.
- 11) Mengajukan permohonan seminar hasil penelitian kepada Dewan Bimbingan Skripsi pada 20 April 2026.
- 12) Melaksanakan seminar hasil penelitian pada 28 April 2026.
- 13) Melakukan penyempurnaan hasil penelitian pada 01 Mei 2026.
- 14) Melaksanakan sidang akhir penelitian pada Mei 2026.

3.4.2 Tahap Pelaksanaan

Dalam tahap pelaksanaan terdapat beberapa kegiatan, yaitu:

- 1) Persiapan Alat dan Bahan

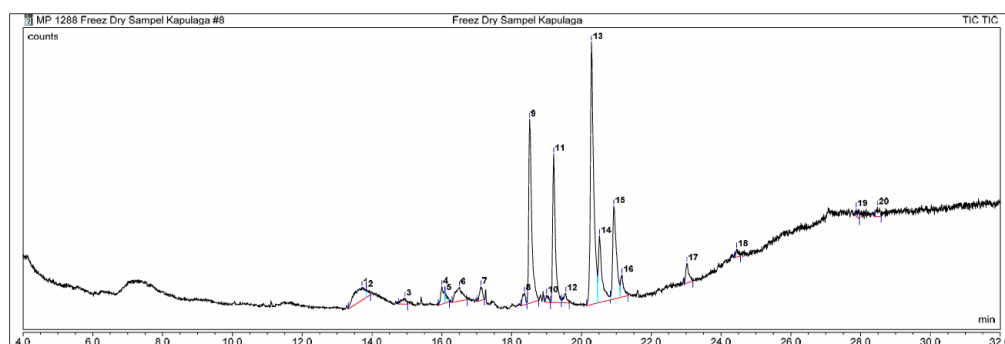
Alat yang digunakan dalam proses analisis *in silico* terdiri dari *hardware*, *software*, dan *webserver*. *Hardware* yang digunakan adalah laptop Lenovo Ideapad 1 14AMN7 dengan prosesor AMD Athlon Silver 7120U @2.40 GHz, RAM 8 GB, SSD 256 GB, menggunakan Windows 11 *Home Single Language* Versi 22H2 64-bit. Untuk *software* yang digunakan antara lain aplikasi ChemOffice Professional

2015 Wizard, USCF Chimera, Pymol, Pyrx Versi 0.8 dan BIOVIA *Discovery Studio* 2024 versi 24.1.0.23298. Sedangkan untuk *webserver* yang digunakan adalah *PubChem* (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>), Uniprot (<https://www.uniprot.org/>), *Protein Data Bank* (<https://www.rcsb.org/>), *SAVES* (<https://saves.mbi.ucla.edu>), *Swiss ADME* (<http://www.swissadme.ch>), *pkCSM-pharmacokinetics* (<https://biosig.lab.uq.edu.au/pkcsml/>) dan *ProTox 3.0* (<https://tox.charite.de/protox3/>).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi data hasil identifikasi GC-MS dari air sadapan batang kapulaga Jawa (*Wurfbainia compacta*) yang telah diperoleh dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Selain itu, ada senyawa pembanding (isoniazid) yang diunduh dari *PubChem*, dan struktur portein target InhA (PDB ID:4TRN) yang diunduh dari RSCB PDB.

2) Analisis Data Hasil GC-MS dan Penentuan Senyawa Kandidat Antituberkulosis

Berdasarkan hasil analisis GC-MS yang dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Universitas Gadjah Mada, terdeteksi sekitar 20 *peak*. Setiap puncak pada kromatogram menggambarkan satu senyawa yang berhasil terpisah berdasarkan waktu retensinya. Besarnya luas area puncak (*curve area*) menunjukkan kelimpahan relatif masing-masing senyawa dalam campuran, sehingga dapat digunakan sebagai indikator dominasi senyawa dalam sampel. Profil kromatogram hasil analisis serta daftar senyawa yang teridentifikasi disajikan pada gambar 3.1.



Gambar 3.1 Kromatogram Hasil Analisis GC-MS air sadapan batang kapulaga Jawa (*W. compacta*)

Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

Data kromatogram dari hasil identifikasi tersebut selanjutnya dianalisis untuk menentukan senyawa kandidat yang berpotensi memiliki aktivitas antituberkulosis. Dari total 20 *peak* yang terdeteksi, setiap senyawa dianalisis berdasarkan *retention time*, luas area puncak (*peak area*), dan persentase *relative area* yang menggambarkan kelimpahan senyawa dalam sampel. Selain itu, frekuensi kemunculan senyawa pada beberapa *peak*, juga dipertimbangkan dalam menentukan dominasi setiap senyawa. Selanjutnya, golongan kimia dan potensi aktivitas biologis masing-masing senyawa diidentifikasi melalui kajian literatur menggunakan basis data ilmiah seperti PubChem, *ScienceDirect*, *Google Scholar*, dan *ResearchGate*, dengan kata kunci meliputi nama senyawa, golongan kimia, serta aktivitas biologis terkait (*antibacterial activity* dan *antituberculosis*). Hasil identifikasi dan analisis tersebut disajikan pada tabel 3.1.

Tabel 3.1 Hasil Analisis Senyawa Aktif Air Sadapan Batang kapulaga Jawa (*W. compacta*) dan Potensi Aktivitas Biologis Senyawa yang Teridentifikasi

<i>Ret. Time</i>	Nama Senyawa	Rumus Kimia	Berat Molekul	<i>Rel. Area (%)</i>	<i>Curve Area</i>	Frekuensi	Golongan Kimia	Aktivitas Biologis	Referensi
13,71	2-Amino-3-(4-hydroxyphenyl)-propanoic acid	C ₉ H ₁₁ O ₃	136	4,82	486489,534	1	Amino Acid	Antioksidan	(Aiyelabola <i>et al.</i> , 2020)
13,84	2,7-Dioxatricyclo[4.4.0.0(3,8)]deca-4,9-diene	C ₈ H ₈ O ₂	154	0,57	57474,232	1	Ester	Antiinflamasi	(Yeni <i>et al.</i> , 2025)
14,95	[1,1'-Bicyclopropyl]-2-octanoic acid, 2'-hexyl-, methyl ester	C ₂₁ H ₃₈ O ₂	444	0,86	86346,777	1	Ester (arachidic acid)	Antimikroba	(Srivastava <i>et al.</i> , 2015)
16,00	1-Hexadecanol, 2-methyl-	C ₁₇ H ₃₆ O	268	1,79	180990,051	1	Ester	Antioksidan	(Elgorban <i>et al.</i> , 2019)
16,09	tert-Hexadecanethiol	C ₁₆ H ₃₄ S	322	0,63	63558,399	1	Ester	Antibakteri	(Wolter <i>et al.</i> , 2025)
16,51	Estra-1,3,5(10)-trien-17 β -ol	C ₁₈ H ₂₄ O	292	3,16	318536,155	2	Steroid	Antibakteri, Antitumor, Antiinflamasi, Antioksidan	(Mohammed <i>et al.</i> , 2016; Mukti & Putri, 2025)
17,12	Estra-1,3,5(10)-trien-17 β -ol	C ₁₈ H ₂₄ O	242	1,41	142381,406				
18,37	Cyclopropanedodecanoic acid, 2-octyl-, methyl ester	C ₂₄ H ₄₆ O ₂	240	1,18	118785,039	1	Ester (ximenic acid)	Antimikroba	(Srivastava <i>et al.</i> , 2015)
18,51	Hexadecanoic acid, methyl ester	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	284	17,67	1783086,063	1	Ester (palmitic acid)	Antibakteri, Antimikroba, Antioksidan	(Karunia <i>et al.</i> , 2017; Pertiwi <i>et al.</i> , 2025; Shaaban, 2021)
19,00	Ethyl iso-allocholate	C ₂₆ H ₄₄ O ₅	280	0,56	56565,354	2	Steroid	Antibakteri, Antioksidan, Antimikroba, Antiinflamasi	(Arsana <i>et al.</i> , 2022; Khattak <i>et al.</i> , 2024;
19,55	Ethyl iso-allocholate	C ₂₆ H ₄₄ O ₅	358	1,04	104467,768				

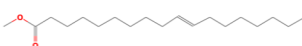
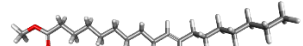
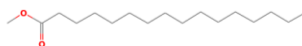
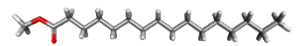
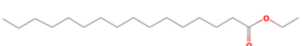
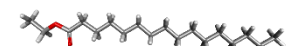
									Mukti & Putri, 2025)
19,20	Hexadecanoic acid, ethyl ester	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	270	12,86	1298197,769	1	Ester (palmitic acid)	Antimikroba, Antikanker	(Nisa <i>et al.</i> , 2022; Pertiwi <i>et al.</i> , 2025)
20,29	10-Octadecenoic acid, methyl ester	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	296	27,71	2796365,429	1	Ester	Antimikroba, Antioksidan	(Almuhayawi <i>et al.</i> , 2024; Youssef <i>et al.</i> , 2023)
20,52	Heptadecanoic acid, 16-methyl-, methyl ester	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	298	7,99	806490,129	1	Ester (stearic acid)	Antioksidan	(Suseem & A, 2013)
20,93	(E)-9-Octadecenoic acid ethyl ester	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	296	11,38	1148183,579	1	Ester (linoelic acid)	Antiinflamasi, Antioksidan	(Radhakrishnan <i>et al.</i> , 2016; Xie <i>et al.</i> , 2022)
21,16	Ethyl E-11-octadecenoate	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	282	2,31	232782,665	1	Ester	Tidak ditemukan aktivitas biologis	-
23,02	9-Octadecenoic acid, (2-phenyl-1,3-dioxolan-4-yl)methyl ester, cis-	C ₂₈ H ₄₄ O ₄	394	1,98	200324,894	1	Fatty acids (oleic acid)	Tidak ditemukan aktivitas biologis	-
24,44	8,14-Seco-3,19-epoxyandrostane-8,14-dione, 17-acetoxy-3β-methoxy-4,4-dimethyl-	C ₂₄ H ₃₆ O ₆	481	0,64	64247,279	1	Steroid	Antibakteri, Antiinflamasi, Anticancer	(Daud <i>et al.</i> , 2025; Mohammed <i>et al.</i> , 2016; Mukti & Putri, 2025)
27,87	Hexasiloxane, 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11-dodecamethyl-	C ₁₂ H ₃₈ O ₅ Si ₆	504	0,52	52968,825	2	Alkaloid	Tidak ditemukan aktivitas biologis	-
28,48	Hexasiloxane, 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11-dodecamethyl-	C ₁₂ H ₃₈ O ₅ Si ₆	504	0,94	94571,683				

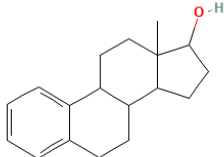
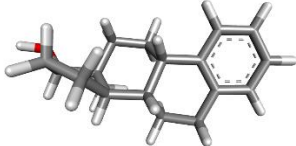
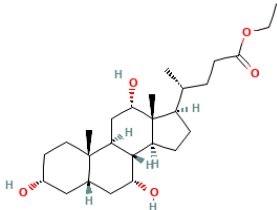
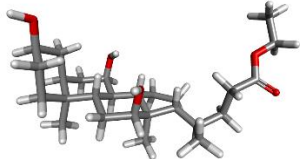
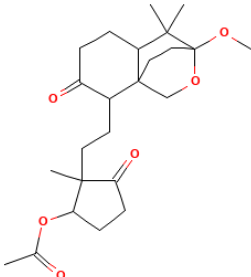
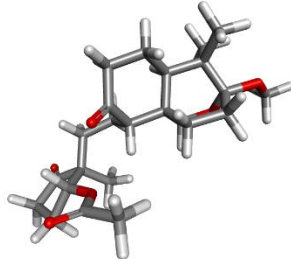
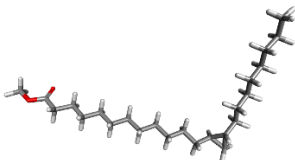
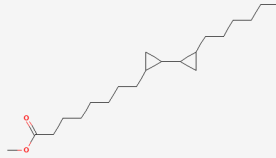
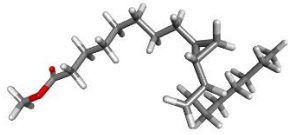
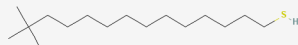
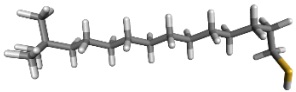
Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

Dari hasil analisis GC–MS, beberapa senyawa seperti 2-Amino-3-(4-hydroxyphenyl)-propanoic acid, 2,7-Dioxa-tricyclo[4.4.0.0(3,8)]deca-4,9-diene, 1-Hexadecanol, 2-methyl-, Heptadecanoic acid, 16-methyl-, methyl ester, dan (E)-9-Octadecenoic acid ethyl ester tidak memiliki aktivitas antibakteri atau antimikroba yang relevan, sehingga dieliminasi. Selain itu, senyawa Ethyl E-11-octadecenoate, 9-Octadecenoic acid, (2-phenyl-1,3-dioxolan-4-yl)methyl ester, cis-, serta Hexasiloxane, 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11-dodecamethyl- juga dieliminasi karena tidak ditemukan aktivitas biologis berdasarkan hasil kajian literatur.

Sembilan senyawa lain, yaitu 10-Octadecenoic acid, methyl ester; Hexadecanoic acid, methyl ester; Hexadecanoic acid, ethyl ester; Estra-1,3,5(10)-trien-17 β -ol; Ethyl iso-allocholate; 8,14-Seco-3,19-epoxyandrostane-8,14-dione, 17-acetoxy-3 β -methoxy-4,4-dimethyl; Cyclopropanedodecanoic acid, 2-octyl-, methyl ester; [1,1'-Bicyclopropyl]-2-octanoic acid, 2'-hexyl-, methyl ester; dan tert-Hexadecanethiol dipilih sebagai kandidat ligan uji berdasarkan kombinasi nilai kelimpahan relatif, frekuensi kemunculan pada kromatogram, serta kesesuaian aktivitas biologis yang dilaporkan dengan mekanisme penghambatan *Mycobacterium tuberculosis*. Oleh karena itu, diperoleh 9 senyawa kandidat utama yang akan digunakan untuk tahap analisis *in silico*, yang disajikan dalam tabel 3.2.

Tabel 3.2 Senyawa Kandidat Potensial untuk Analisis *In Silico*

No	Nama senyawa	Struktur Kimia (2 Dimensi)	Struktur Kimia (3 Dimensi)
1.	10-Octadecenoic acid, methyl ester		
2.	Hexadecanoic acid, methyl ester		
3.	Hexadecanoic acid, ethyl ester		

No	Nama senyawa	Struktur Kimia (2 Dimensi)	Struktur Kimia (3 Dimensi)
4.	Estra-1,3,5(10)-trien-17 β -ol		
5.	Ethyl iso-allocholate		
6.	8,14-Seco-3,19-epoxyandrostane-8,14-dione, 17-acetoxy-3 β -methoxy-4,4-dimethyl		
7.	Cyclopropanedodecanoic acid, 2-octyl-, methyl ester		
8.	[1,1'-Bicyclopropyl]-2-octanoic acid, 2'-hexyl-, methyl ester		
9.	Tert-Hexadecanethiol		

Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025

3) Pencarian dan Pengunduhan Senyawa Aktif dan Isonizid

Pencarian senyawa aktif air sadapan batang kapulaga Jawa (*W. compacta*) didasarkan pada hasil pengujian GC-MS yang berpotensi sebagai antituberkulosis dan pencarian senyawa isoniazid dilakukan dengan studi literatur dari artikel ilmiah yang sudah dipublikasikan pada jurnal nasional maupun internasional. Selanjutnya pengunduhan dilakukan dengan menggunakan *webserver PubChem*. Senyawa yang telah tersedia dalam bentuk struktur tiga dimensi (3D), file diunduh dalam format SDF (*Structure Data File*). Sementara itu, untuk senyawa yang hanya tersedia dalam bentuk struktur dua dimensi (2D), terlebih dahulu diunduh dalam format .sdf, kemudian dilakukan penggambaran ulang menggunakan *ChemDraw* dan konversi ke model tiga dimensi menggunakan *Chem3D* yang merupakan bagian dari *software ChemOffice*. Adapun tahapan rinci prosesnya disajikan pada lampiran 1.

4) Pencarian dan Pengunduhan *Enoyl-acyl carrier protein reductase* (InhA)

Pencarian InhA dilakukan dengan studi literatur terhadap artikel-artikel yang sudah melakukan kajian *in silico* terhadap penyakit tuberkulosis. Berdasarkan hasil penelusuran, enzim InhA (*Enoyl-Acyl Carrier Protein Reductase*) (PDB ID: 4TRN) merupakan salah satu enzim penting dalam biosintesis asam mikolat pada *Mycobacterium tuberculosis* dan banyak digunakan sebagai target dalam penelitian *molecular docking*. InhA kemudian diunduh melalui *webserver RCSB Protein Data Bank* (PDB) (<https://www.rcsb.org/>) dengan format FASTA. Adapun tahapan rinci prosesnya disajikan pada lampiran 2.

5) Validasi Reseptor

Reseptor InhA yang telah diunduh dari *webserver* RCSB PDB selanjutnya dilakukan validasi reseptor dengan menggunakan *webserver* SAVES (<https://saves.mbi.ucla.edu/>) dengan melihat nilai Ramachandran Plot dan ERRAT secara keseluruhan. Adapun tahapan rinci prosesnya disajikan pada lampiran 3.

6) Preparasi Senyawa Aktif, Isoniazid dan Reseptor InhA

Preparasi senyawa aktif dan isoniazid dilakukan dengan membuka file struktur 3D hasil unduhan dari *PubChem* dalam format SDF menggunakan *software* PyRx v0.8. File dibuka pada menu *open babel*, kemudian dilakukan proses *minimize all* untuk menstabilkan konformasi molekul dan disimpan dalam format

PDB. Proses ini juga dilakukan untuk senyawa yang awalnya hanya tersedia dalam bentuk 2D. Senyawa tersebut digambar ulang menggunakan *ChemDraw*, dikonversi ke struktur 3D dengan *Chem3D*, kemudian diekspor ke format SDF sebelum dimasukkan ke *open babel* didalam *PyRx* v0.8 dan diproses dengan cara yang sama. Sedangkan untuk preparasi InhA dilakukan dengan menggunakan *software* USCF Chimera. Proses preparasi dilakukan dengan membuka file PDB InhA yang telah diunduh, kemudian menghapus molekul air, ion, serta *native ligand* yang tidak diperlukan. Setelah itu ditambahkan atom hidrogen polar untuk menstabilkan proses pengikatan senyawa aktif dengan InhA. Adapun tahapan rinci prosesnya disajikan pada lampiran 4.

7) *Molecular docking* Senyawa Aktif dan Isoniazid dengan Reseptor InhA

Proses *molecular docking* dilakukan dengan menggunakan aplikasi *PyRx* v0.8. Enzim InhA, senyawa aktif, dan isoniazid yang telah dipreparasi di buka kemudian masing-masing senyawa aktif, dan isoniazid diklik kanan lalu buat sebagai ligan. Sedangkan InhA dijadikan sebagai makromolekul. Proses penentuan area pengikatan dilakukan dengan mengatur *grid box* yang mencakup situs aktif enzim InhA berdasarkan posisi ligan ko-kristal pada struktur PDB ID: 4TRN.

Proses *docking* dijalankan hingga diperoleh hasil berupa nilai energi bebas pengikatan (*binding affinity*/ ΔG_{bind}) untuk masing-masing ligan. Untuk memastikan keakuratan simulasi, dilakukan validasi *docking* menggunakan metode *re-docking* terhadap ligan ko-kristal (NAD⁺) dari PDB 4TRN. Hasil *docking* dibandingkan dengan posisi ligan asli untuk menghitung nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) dan proses dianggap valid apabila nilai $RMSD \leq 2.0 \text{ \AA}$. Penilaian hasil *docking* didasarkan pada nilai energi bebas pengikatan (*binding affinity*/ ΔG_{bind}), semakin negatif nilai ΔG_{bind} menunjukkan afinitas ikatan yang lebih kuat. Adapun tahapan rinci prosesnya disajikan pada lampiran 5.

8) Visualisasi Hasil *Docking*

Visualisasi hasil *molecular docking* dilakukan menggunakan perangkat lunak BIOVIA *Discovery Studio* 2024 versi 24.1.0.23298. File hasil *docking* dari *PyRx* dibuka bersamaan dengan struktur enzim InhA (PDB ID: 4TRN) untuk mengamati posisi orientasi ligan pada *binding site* reseptor. Visualisasi dua dimensi

(*2D interaction diagram*) digunakan untuk mengidentifikasi jenis interaksi non-kovalen yang terbentuk antara ligan dan residu asam amino pada situs aktif, seperti ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, dan ikatan van der Waals. Analisis ini bertujuan untuk menilai kesesuaian orientasi ligan, kestabilan interaksi, serta kesamaan residu pengikat antara ligan uji dan ligan pembanding (isoniazid). Ligan dengan orientasi dan pola interaksi yang serupa atau lebih kuat terhadap residu aktif InhA memiliki potensi antituberkulosis yang lebih baik. Adapun tahapan rinci proses visualisasi disajikan pada lampiran 6.

9) Prediksi Fisikokimia dan Farmakokinetik (*Swiss ADME*)

Analisis fisikokimia dan farmakokinetik dilakukan dengan menggunakan *webserver Swiss ADME* dan *pkCSM-pharmacokinetics*. Dalam proses ini *smile* senyawa aktif dan isoniazid disalin dan ditempelkan pada kolom yang tersedia. Setelah itu klik *run* dan akan muncul hasil fisikokimia dan farmakokinetiknya. Parameter fisikokimia yang diamati meliputi berat molekul (MW), nilai logP, serta jumlah donor dan akseptor ikatan hidrogen, dengan penilaian mengacu pada *Lipinski's Rule of Five*, yaitu bahwa senyawa dikatakan memiliki permeabilitas dan kelarutan baik jika memenuhi batas: $MW \leq 500$ g/mol, $\log P \leq 5$, donor H ≤ 5 , dan akseptor H ≤ 10 . Selain itu, untuk analisis farmakokinetik parameter yang digunakan berupa nilai absorpsi (*water solubility*, permeabilitas Caco-2, dan *intestinal absorption*), distribusi (*VDss* dan *fraction unbound*), metabolisme melalui interaksi terhadap enzim CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, dan CYP3A4, serta ekskresi melalui parameter *Total Clearance (CLTOT)* dan interaksi terhadap transporter ginjal OCT2. Hasil prediksi digunakan untuk mengevaluasi kelayakan senyawa aktif sebagai kandidat obat oral yang memiliki bioavailabilitas yang baik. Adapun tahapan rinci prosesnya disajikan pada lampiran 7.

10) Prediksi Toksisitas

Prediksi potensi toksisitas senyawa aktif dilakukan menggunakan *webserver ProTox 3.0*. Analisis dilakukan dengan menyalin dan menempelkan *smile* senyawa aktif dan isoniazid pada kolom yang tersedia. Parameter toksisitas yang diamati meliputi hepatotoksitas, nefrotoksitas, kardiotoxsisitas, imunotoksitas, mutagenisitas, dan sitotoksitas, yang masing-masing

menggambarkan potensi efek merugikan terhadap organ hati, sistem imun, materi genetik, serta sel tubuh secara umum. Setelah semua parameter dipilih, proses prediksi dijalankan melalui perintah *Start Tox-Prediction*, dan hasilnya ditampilkan dalam bentuk skor probabilitas toksisitas serta nilai LD_{50} (*Lethal Dose 50*). Terdapat enam kelas toksisitas, yaitu kelas 1: fatal jika tertelan ($LD_{50} \leq 5$ mg/kg), kelas 2: fatal jika tertelan ($5 < LD_{50} \leq 50$ mg/kg), kelas 3: beracun jika tertelan ($50 < LD_{50} \leq 300$ mg/kg), kelas 4: berbahaya jika tertelan ($300 < LD_{50} \leq 2000$ mg/kg), kelas 5: mungkin berbahaya jika tertelan ($2000 < LD_{50} \leq 5000$ mg/kg), dan kelas 6: tidak beracun ($LD_{50} > 5000$ mg/kg). Semakin tinggi kelas toksisitas, maka tingkat toksiknya semakin rendah. Hasil prediksi toksisitas ini digunakan untuk menilai keamanan relatif senyawa aktif dan menentukan kandidat yang paling potensial sebagai obat antituberkulosis yang aman secara oral. Adapun tahapan rinci prosesnya disajikan pada lampiran 8.

3.4.3 Tahap Pengolahan Data

Tahapan pengolahan data dilakukan untuk mendeskripsikan hasil analisis *in silico*. Data yang diolah meliputi nilai energi bebas pengikatan (*binding affinity*/ ΔG_{bind}), *Root Mean Square Deviation* (RMSD), dan interaksi ligan dengan residu pada situs aktif protein, sifat farmakokinetik, fisikokimia, serta tingkat toksisitas dari senyawa aktif air sadapan batang kapulaga Jawa (*W. compacta*).

3.4.4 Tahap Penyusunan Suplemen Bahan Ajar Biologi

Tahap akhir penelitian ini adalah penyusunan suplemen bahan ajar biologi berupa *booklet*. Hasil analisis *in silico* mengenai potensi senyawa aktif air sadapan batang kapulaga Jawa (*W. compacta*) sebagai kandidat antituberkulosis dideskripsikan dan disajikan dalam bentuk suplemen atau materi tambahan dalam pembelajaran. *Booklet* dirancang dengan bahasa yang komunikatif, dilengkapi gambar, tabel, dan ilustrasi untuk mempermudah pemahaman mahasiswa, serta disesuaikan dengan kaidah pengembangan bahan ajar yang baik.

3.5 Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data dalam penelitian ini menggunakan teknik dokumentasi melalui studi literatur untuk menelaah buku, jurnal ilmiah, artikel penelitian, dan laporan resmi terkait kapulaga Jawa (*W. compacta*), tuberkulosis,

serta metode *in silico*. Selain itu, dokumentasi juga dilakukan dengan *screening database* bioinformartika untuk memperoleh data struktur molekul senyawa aktif dan struktur protein target.

Sebagai data pendukung, dilakukan wawancara semi-terstruktur sebagai studi pendahuluan kepada masyarakat dan pengguna lokal yang memanfaatkan air sadapan batang kapulaga Jawa (*W. compacta*). Wawancara ini bertujuan untuk memperoleh informasi kontekstual mengenai pemanfaatan tanaman tersebut dalam kehidupan sehari-hari, serta menentukan kebutuhan dan konteks dalam pengembangan suplemen bahan ajar biologi berbasis hasil penelitian.

3.6 Teknik analisis Data

Teknik analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah analisis deskriptif kuantitatif. Analisis ini dilakukan untuk mendeskripsikan dan menginterpretasikan data numerik yang diperoleh dari hasil simulasi *molecular docking*, analisis sifat fisikokimia, farmakokinetik, serta prediksi toksisitas senyawa aktif air sadapan batang kapulaga Jawa (*W. compacta*). Analisis data dalam penelitian ini diawali dengan hasil studi pendahuluan dan literatur yang digunakan untuk menentukan fokus penelitian. Kemudian analisis utama dilakukan terhadap interaksi senyawa aktif dari air sadapan batang kapulaga Jawa terhadap enzim *InhA* (PDB ID: 4TRN) menggunakan metode *molecular docking*. Parameter yang diukur meliputi energi afinitas (*binding affinity*), *Root Mean Square Deviation* (RMSD), serta jenis ikatan dan residu asam amino yang terlibat dalam interaksi. Energi afinitas merupakan ukuran kestabilan ikatan ligan dan reseptor, dengan nilai yang semakin negatif menunjukkan interaksi semakin kuat (Amrulloh *et al.*, 2023; Terefe & Ghosh, 2022). RMSD digunakan untuk menilai kesesuaian konformasi ligan dalam situs aktif protein, di mana nilai $\text{RMSD} \leq 2 \text{ \AA}$ umumnya menunjukkan konformasi yang valid (Amrulloh *et al.*, 2023; Hasnaa *et al.*, 2022; Ramírez & Caballero, 2018). Ikatan yang terbentuk dari residu asam amino yang dibandingkan adalah residu asam amino antara ligan uji dengan ligan pembanding.

Analisis lanjutan fisikokimia dilakukan untuk menentukan apakah senyawa tersebut dapat digunakan sebagai obat oral aktif dengan menggunakan parameter *Lipinski's Rule Of Five* yang terdiri dari berat molekul (BM) <500 Da, Logaritma

koefisien partisi oktanol (LogP) <5 , *hydrogen bond donor* <5 , *hydrogen bond acceptor* <10 , dan kesalahan/*violation* <2 (Sukmawaty *et al.*, 2021). Untuk data hasil farmakokinetik akan dianalisis menggunakan *SwissADME*, dengan indikator utama ADME (absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi). Sedangkan untuk mengukur tingkat toksisitas digunakan *webserver ProTox 3.0* dengan melihat nilai LD50, kelas toksisitas dan parameter *Hepatotoxicity*, *Nephrotoxicity*, *Cardiotoxicity*, *Carcinogenicity*, *Immunotoxicity*, *Mutagenicity*, dan *Cytotoxicity*.

3.7 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Botani, Jurusan Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Siliwangi, Tasikmalaya yang menjadi lokasi pelaksanaan seluruh tahapan pengujian secara *in silico*. Penelitian ini juga didukung oleh data primer hasil analisis GC-MS yang telah dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada (LPPT UGM) sebagai sumber data senyawa aktif air sadapan batang kapulaga Jawa (*W. compacta*).

Tabel 3.3 Jadwal Kegiatan Penelitian

No	Kegiatan	2025						2026				
		Jul	Ag	Sep	Okt	Nov	Des	Jan	Feb	Mar	Apr	Mei
1.	Mendapatkan SK Dosen Pembimbing skripsi											
2.	Mengkonsultasikan topik penelitian											
3.	Mengajukan judul penelitian kepada Dosen Pembimbing dan DBS											
4.	Penyusunan dan bimbingan proposal											
5.	Seminar proposal penelitian											
6.	Penyempurnaan proposal penelitian											
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 hasil penelitian											
12.	Sidang Skripsi											
13.	Penyempurnaan Skripsi											

Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2025