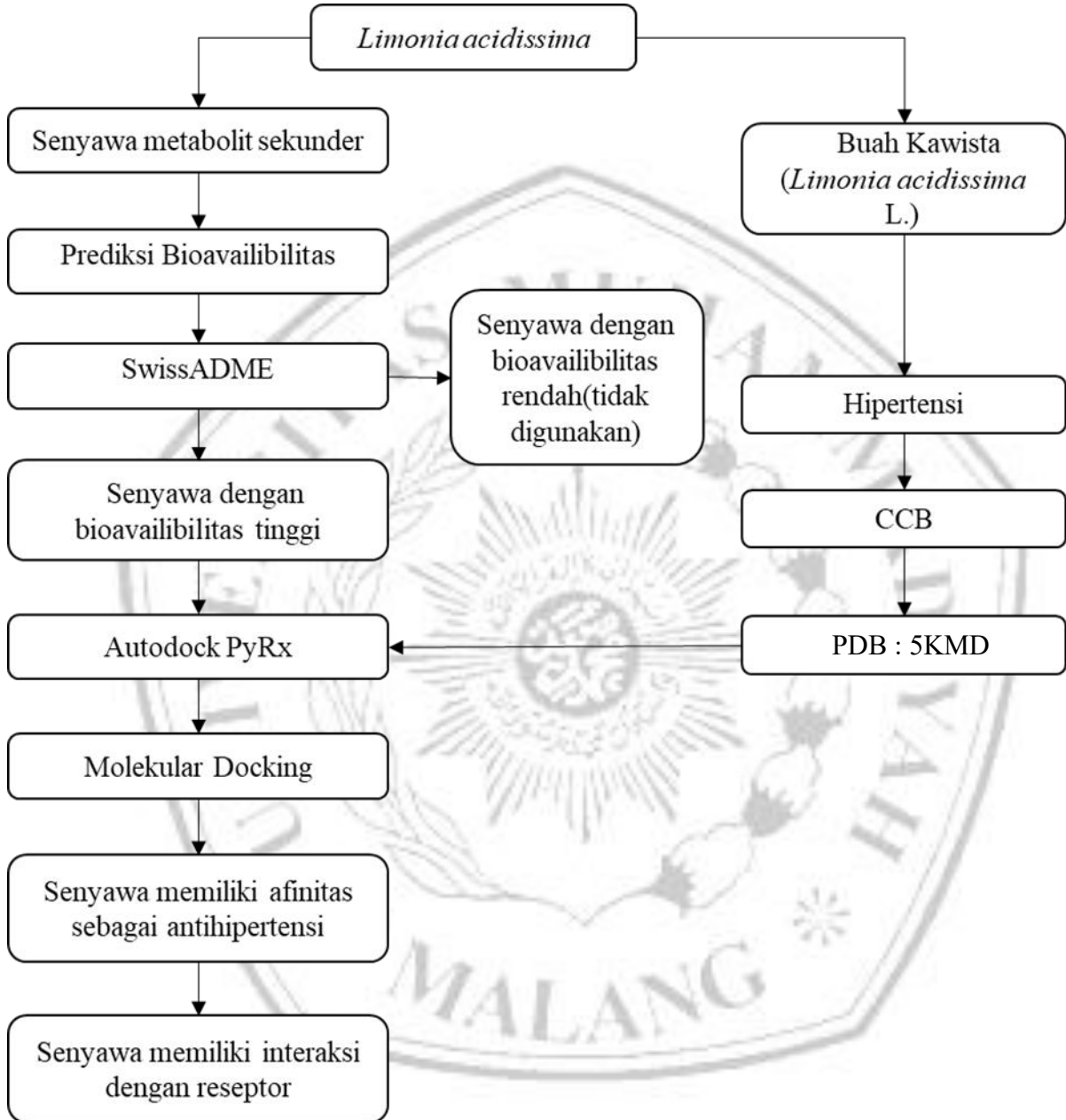


BAB 3
METODE PENELITIAN

3.1 Skema Kerangka Konseptual Penelitian



Tabel 3. 1 Skema Kerangka Konsep

3.2 Deskripsi Bagian

Keterangan gambar :

Studi khasiat dapat dikerjakan melalui tiga cara yakni *in vitro*, *in vivo*, dan *insilico*. Tiga metode tersebut masing-masing memiliki nilai lebih dan kurang serta saling berhubungan. Namun penelitian ini dikerjakan dan lebih difokuskan menggunakan metode *in silico*. Metode *in silico* sendiri merupakan pendekatan yang berupa model prediktif komputasional. Tujuan pendekatan *in silico* meliputi pengujian tahap awal sebelum dilanjutkan menuju pengujian *in vitro* dan *in vivo* dan digunakan untuk menapis sejumlah besar senyawa yang akan diuji sehingga ketika dilanjutkan ke langkah *in vitro* dan *in vivo* (Ekins et al., 2007).

Penggunaan CCB (*Calcium Channel Blocker*) sebagai terapi merupakan salah satu pilihan untuk menurunkan tekanan darah. CCB memiliki mekanisme kerja menghentikan masuknya kalsium ke dalam sel-sel jantung dan arteri dengan cara menghambat saluran membran plasma jenis L (*L-type voltage-gated*). Kalsium merupakan zat yang dapat memicu kontraksi otot, termasuk otot jantung dan pembuluh darah. Dengan pemblokiran saluran kalsium oleh CCB, aliran kalsium menuju sel otot jantung maupun pembuluh darah dapat dikurangi. Sehingga menghasilkan efek relaksasi pada otot jantung dan pembuluh darah.

Berdasarkan data penelitian, buah kawista (*Limonia Acidissima*) mampu menurunkan tekanan darah secara signifikan. Setelah adanya 90 hari intervensi, penurunan yang signifikan terlihat pada tekanan darah diastolik dan sistolik. Hal ini dapat membuktikan bahwa keberadaan senyawa fenolik pada buah *L. aciissima* mempunyai efek terapeutik (Anitha et al., 2015). Metabolit sekunder dari tumbuhan kawista dihasilkan melalui ekstraksi bagian bagian tumbuhan seperti, akar, batang, daun, dan buah yang kemudian digunakan dalam uji fitokimia. Di dalamnya terdapat kandungan senyawa fenolik yang memiliki efek terapeutik dalam menurunkan kadar gula darah, serum kreatinin, dan tekanan darah serta dapat meningkatkan hemoglobin.

Skrining virtual adalah teknik komputasi yang digunakan untuk menganalisis kumpulan database senyawa dalam mengidentifikasi senyawa obat potensial. Hasil dari pendekatan ini adalah untuk memprediksi senyawa metabolit tumbuhan obat manakah yang memiliki potensi sebagai antihipertensi. Pendekatan ini juga dapat

menciptakan prediksi yang mengarah pada penemuan dan terobosan dalam pengobatan dan terapi. Selain itu, penelitian dengan menggunakan metode *in silico* membutuhkan biaya yang lebih rendah dan waktu yang lebih efisien dibandingkan dengan skrining farmakologis (Wolber & Langer, 2005).

Metode *in silico* digunakan dalam penelitian ini untuk mengeksplorasi interaksi senyawa dengan protein target. Penggunaan prediksi bioavailabilitas menjadi penting digunakan dalam mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang memiliki bioavailabilitas tinggi. Karena parameter kunci untuk memahami sejauh mana suatu obat dapat diserap oleh tubuh adalah bioavailabilitas obat (Putri et al., 2023).

Untuk mencari reseptor obat, menggunakan PDB sebagai sumber informasi. Ligan (protein) yang telah terunduh harus berbentuk kompleks agar sesuai dengan kebutuhan penelitian. Dengan metode docking menggunakan software Discovery Studio dan AutoDock akan digunakan untuk menguji kegiatan penelitian. Protein target atau biasa disebut reseptor merupakan suatu syarat pada pengujian karena yang diprediksi berupa afinitas dan interaksi antara metabolit sekunder dengan protein target. (Tan et al., 2013).

Molecular docking dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak Autodock. Untuk mengetahui prediksi afinitas dan interaksi, dilakukan *Molecular Docking* dengan menggunakan aplikasi *Autodock PyRx*. Metode ini dapat memprediksi afinitas dan interaksi antara senyawa dengan protein target yang di dapat dari *Protein Data Bank* (PDB) (Hussan et al., 2019).

Protein target yang digunakan pada penelitian ini adalah protein membran dengan kode pada PDB yaitu 5KMD yang menggunakan ligan standart berupa senyawa amlodipin. Interaksi yang dapat terjadi selama proses penambatan dapat berupa ikatan hidrogen dan hidrofobik. Ikatan hidrogen adalah ikatan yang dapat terbentuk antaraligan dan reseptor yang berjarak cukup jauh sehingga dikatakan lebih kuat dibanding ikatan Van der Waals. Sementara itu, interaksi hidrofobik memiliki pengaruh dalam kestabilan ligan terhadap reseptor karena dapat mengecilkan interksi residu nonpolar dengan air (Nissa et al., 2022).

Dari hasil *docking* didapatkan data prediksi nilai energi ikat atau *binding energy* (ΔG) dan konstanta inhibisisi (K_i). Analisis hasil docking dapat dilihat dari

energi bebas ikatan (AG) dan konstanta inhibisi (Ki) yang menggambarkan kekuatan ikatan yang dihasilkan oleh interaksi antara ligan dan reseptor. Aspek yang diperhatikan adalah nilai afinitas pengikatan yang rendah dimana hal ini membuktikan bahwa semakin rendah nilai G dan Ki maka proses pengikatan membutuhkan energi yang lebih rendah dan menunjukkan suatu senyawa memiliki interaksi yang kuat. (Yanti et al., 2021).

Visualisasi hasil docking dapat dilakukan dengan menggunakan webserver *Proteins Plus* untuk melihat bagaimana interaksi antara metabolit sekunder *Limonia Acidissima* dan Protein target yaitu CavAb berupa struktur 2 dimensi dan 3 dimensi. Diharapkan nantinya akan diperoleh luaran yaitu senyawa metabolit sekunder dari *L. acidissima* memiliki afinitas dan interaksi yang baik terhadap protein target CavAb atau kanal kalsium.

