

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Turunan asam sinamat merupakan salah satu senyawa bioaktif alami yang dapat dijumpai pada tanaman hijau yang mempunyai banyak manfaat dalam bidang pengobatan yang menunjukkan berbagai aktivitas farmakologis. Umumnya asam sinamat dapat diperoleh dari tanaman kayu manis (*Cinnamomum cassia*) sedangkan turunannya seperti asam *p*-hidroksisinamat, asam ferulat, asam kafeat dan asam kumarat banyak ditemukan pada buah-buahan, biji-bijian dan sayur-sayuran (Adisakwattana, 2017). Berdasarkan kelimpahan tersebut, maka turunan asam sinamat dapat diperoleh dengan melakukan isolasi terhadap senyawa ini dari bahan alam, namun memiliki kekurangan yaitu dibutuhkan jumlah sampel yang banyak dan waktu yang lebih lama dalam memperoleh senyawa ini, sehingga para peneliti merasa perlu melakukan pengembangan dengan metode lain untuk memperoleh senyawa turunan asam sinamat yaitu dengan metode sintesis.

Asam sinamat merupakan asam karboksilat yang disintesis melalui jalur shikimat dengan prekursor fenilalanin dan tirosin (Nitish Kumar & Amrita Parle, 2019). Asam sinamat dapat terbentuk dari proses deaminasi fenilalanin oleh enzim yang mengalami modifikasi enzimatik (Chandra et al., 2019). Belakangan ini, minat terhadap modifikasi turunan asam sinamat untuk menghasilkan senyawa turunan asam sinamat lainnya semakin meningkat. Hal ini merupakan bentuk eksplorasi terhadap senyawa ini dikarenakan kerangka strukturnya mengandung beberapa situs aktif yaitu seperti gugus asam karboksilat, olefin terkonjugasi, dan cincin aromatik yang memungkinkan untuk dimodifikasi dengan penambahan substituen pada strukturnya atau hibridisasi dengan senyawa lain sehingga menghasilkan suatu agen bioaktif dengan efikasi yang lebih baik. Sebagaimana diketahui bahwa konjugasi asam sinamat dengan adanya perbedaan struktur dan gugus yang mensubstitusi suatu senyawa dapat memberikan efek farmakologis yang berbeda (Ribeiro et al., 2019).

Modifikasi terhadap asam sinamat dapat dilakukan pada bagian *cis-trans* dalam strukturnya. Asam sinamat ditemukan baik dalam bentuk asam maupun dalam bentuk terkonjugasi dengan gugus ester, aldehyd ataupun amida (Chochkova et al., 2017). Umumnya turunan ester lebih reaktif dan mudah mengalami penguraian daripada amida, namun senyawa tersebut harus berubah menjadi bentuk amida



Agga dapat berpotensi sebagai obat (Firdaus et al., 2019). rui bahwa bentuk amida dari asam sinamat banyak diminati sehingga tidak mudah mengalami hidrolisis.

9) telah berhasil melakukan sintesis terhadap senyawa amida *camic acid* melalui reaksi amidasi yang menggabungkan asam nya dengan asam traneksamat. Sebagaimana diketahui bahwa itu turunan amina siklik merupakan salah satu senyawa turunan

asam amino lisin yang berpotensi untuk dikombinasikan dengan asam sinamat (McCormack, 2012). Asam traneksamat diketahui berperan sebagai obat pengontrol perdarahan (Bouras et al., 2024; T. Chen et al., 2024; Law et al., 2022) dan digunakan dalam kebutuhan transfusi, prosedur gigi, ginekologi, antiinflamasi, trauma akut, hemoptisis, epistaksis, hemostasis, dan perawatan kulit melasma (Cai et al., 2020; Cheriyan et al., 2015; Gaćina & Krstanović Ćosić, 2023). Selain itu, asam traneksamat juga telah diuji terhadap bakteri *Staphylococcus spp.* dan *Cutabaterium acnes* (Benjumea et al., 2022).

Berdasarkan penelitian sebelumnya, senyawa amida yang berasal dari asam sinamat telah banyak dilaporkan aktivitasnya sebagai agen antibakteri. Beberapa penelitian terkait sebelumnya melakukan uji antibakteri terhadap senyawa turunan asam sinamat amida siklik dari piperin yang dapat menunjukkan aktivitas antibakteri yang potensial terhadap bakteri *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, dan *Mycobacterium tuberculosis* (De et al., 2011; Naika et al., 2010; Srinivasa Reddy et al., 2001). *S. aureus*, *E. coli*, dan *P. aeruginosa* (Fregnan et al., 2017) Selain itu, (Avanesyan et al., 2009) juga telah menguji beberapa turunan asam sinamat dengan substituen yang berbeda pada cincin aromatiknya untuk mengetahui tingkat aktivitasnya sebagai antioksidan. Maka dalam penelitian ini dilakukan penggabungan turunan asam sinamat dengan asam traneksamat melalui reaksi amidasi untuk menghasilkan senyawa amida turunan asam sinamat traneksamat (Iizuka et al., 2003). Terbatasnya laporan mengenai turunan amida dari asam sinamat-traneksamat dalam studi bioaktivitas, terutama sebagai agen antibakteri, maka sangat perlu untuk dilakukan eksplorasi dengan melakukan sintesis, uji bioaktivitas secara *in vitro* serta studi secara *in silico* dalam penelitian ini.

## 1.2 Rumusan Masalah

1. bagaimana sintesis dan karakterisasi senyawa amida turunan asam sinamat yang diperoleh dari proses reaksi amidasi dan esterifikasi ?
2. bagaimana hasil uji beberapa aktivitas terhadap senyawa turunan amida dari asam sinamat-traneksamat secara *in vitro* ?
3. bagaimana prediksi profil *drug-likeness*, farmakokinetika dan toksisitasnya berdasarkan uji *In silico* ?

## 1.3 Tujuan Penelitian

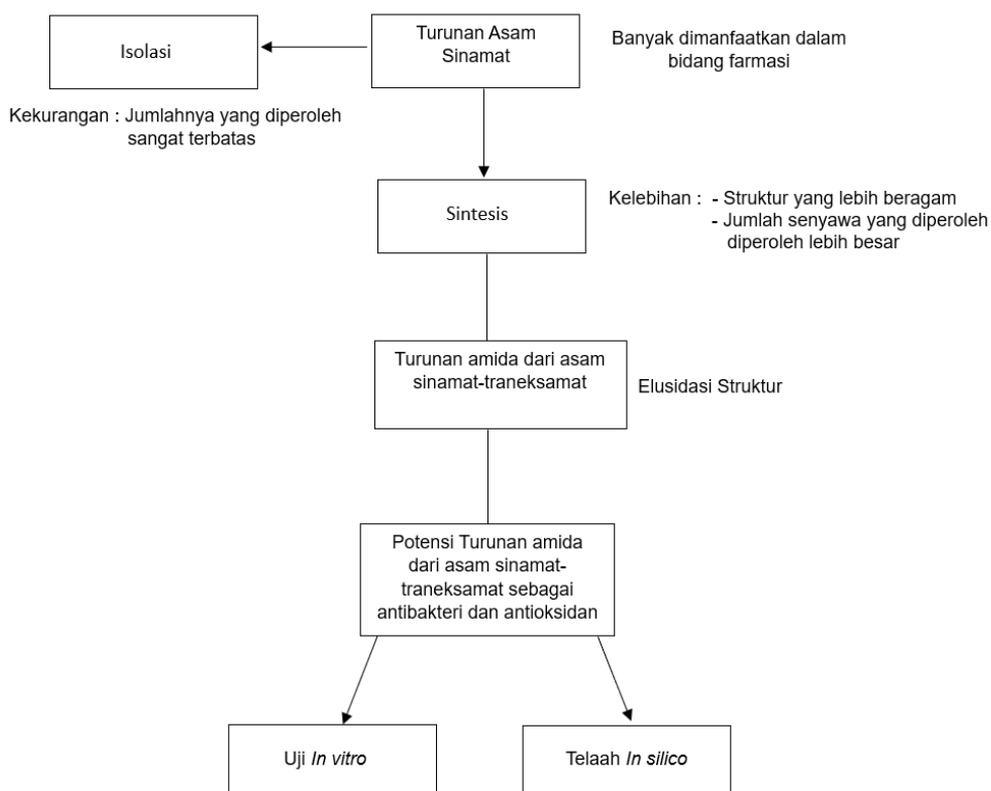


menentukan karakter produk sintesis menggunakan instrumen-  
is seperti ATR-FTIR, LC-HRMS dan NMR.  
potensi senyawa amida turunan sinamat-traneksamat  
bioaktivitas secara *In vitro*  
thway farmakologi, farmakokinetika dan toksisitas senyawa  
di *in silico*

## 1.4 Manfaat Penelitian

1. memberikan informasi mengenai potensi turunan amida dari asam sinamat-traneksamat sebagai antibakteri dan antioksidan
2. memberikan kontribusi untuk pengembangan ilmu pengetahuan
3. dapat menjadi rujukan dalam pengembangan senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri dan antioksidan

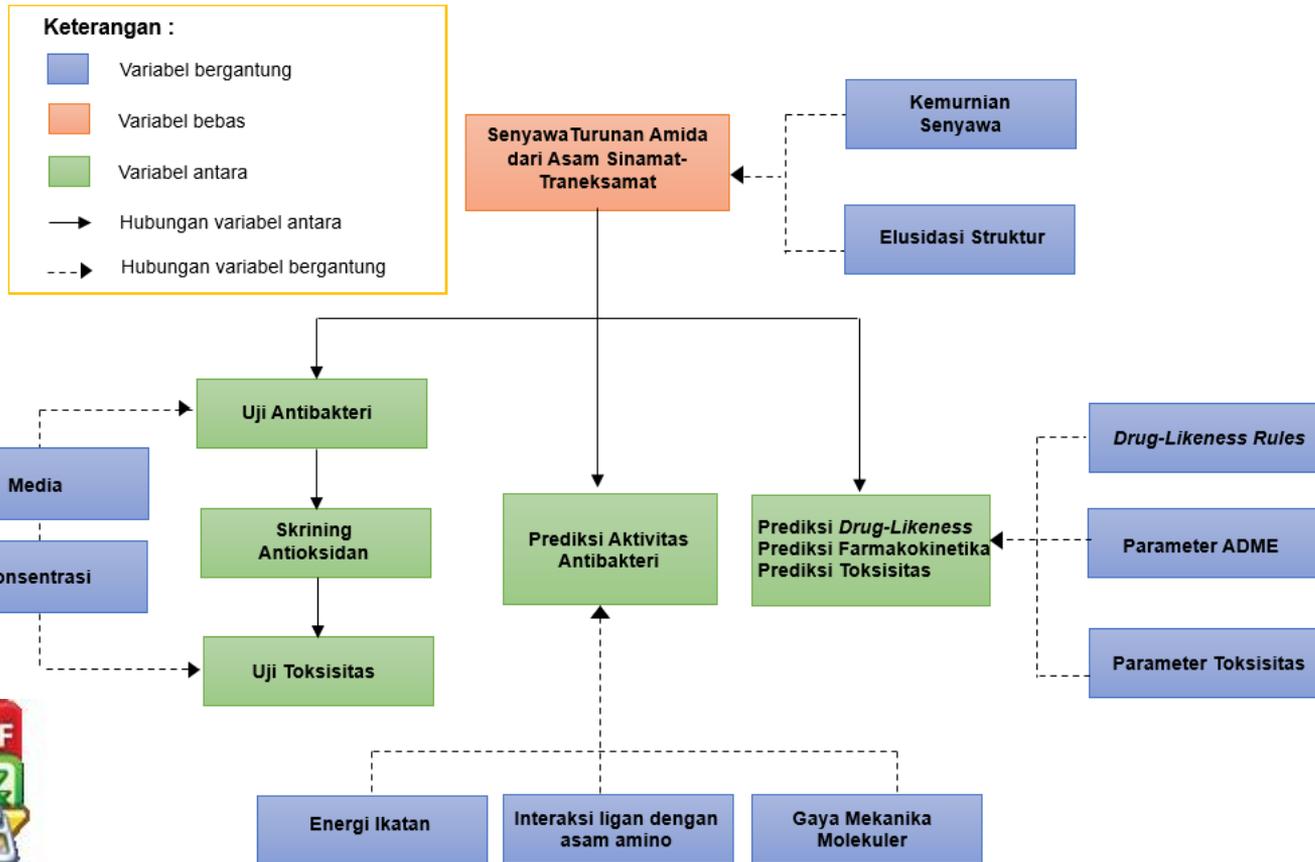
## 1.5 Kerangka Teori



Gambar 1. Kerangka teori



## 1.6 Kerangka Konsep



Gambar 2. Kerangka konsep



## BAB II

### METODE PENELITIAN

#### 2.1 Rancangan dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan september 2023 sampai agustus 2024, bertempat di Laboratorium Kimia Organik, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin; Pusat Riset Bahan Baku Obat dan Obat Tradisional Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Serpong dan Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) Yogyakarta.

#### 2.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah labu silindris, timbangan analitik, *Hotplate Magnetic Stirrer*, *Gravity Column Chromatography*, Oven, Buchi® Rotavapor R-213, Avance® NEO 700MHz NMR, Bruker®-Tensor II ATR, ThermoScientific® Orbitrap Exploris 120, *Autoclave*, Inkubator, *Laminar Air Flow*, *Shaker*, alat-alat gelas yang umum digunakan di laboratorium dan satu set Laptop yang dapat melakukann perhitungan kimia komputasi dengan spesifikasi: Processor Intel® Celeron® N4020 CPU @1,10GHz 1,10 GHz, RAM 4,00 GB (3.65 GB usable) dan harddisk 273 GB dengan perangkat lunak berupa sistem operasi Windows 11 version 22H2, Autodock Vina, Chimera 1.17.1, Discovery Studio 2021, Marvin Sketch, PyMol DLP 3D, ChemDraw 20.0

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah turunan asam sinamat, asam traneksamat (Tokyo Chemical Industry®); *N,N'-dicyclohexylcarbodiimide* (DCC) (Tokyo Chemical Industry®), *N-Hydroxysuccinimide* (Tokyo Chemical Industry®), trietilamin (Merck®), Dioksan *pro analys* (Merck®), magnesium sulfat (Merck®), *n*-heksana, etil asetat, metanol, TLC Silica Gel 60 F 254, Silica Gel 60 0,2-0,5 mm, akuades (Water One®), kapas, pasir kolom, DMSO *pro analysis* (Merck®), *Nutrient Agar* (NA), Natrium klorida (Merck®), Tetrasiklin, *Escherichia coli strain* ATCC 8739, *Staphylococcus aureus strain* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa strain* 9027, *Bacillus subtilis Strain* ATCC 6633, larva udang *Artemia salina*. Data yang digunakan adalah struktur protein target hasil kristalografi yang diperoleh melalui *Protein Data Bank* (PDB : <http://www.rcsb.org/>) yang memiliki kompleks dengan ligan alami. Struktur Protein 3D protein target dan data struktur tiga dimensi dari turunan sinamat-traneksamat.



## 2.3 Prosedur Penelitian

### 2.3.1 Sintesis turunan amida dari asam sinamat-traneksamat

#### a. Sintesis senyawa 6

Pada reaksi tahap 1 senyawa 1 sebanyak (182,03 mg; 1 mmol) ditambahkan dengan *N,N'-dicyclohexylcarbodiimide* sebanyak ( 412,66 mg, 2 mmol) dan NHS (230,18 mg; 2 mmol) yang dilarutkan dalam 10 mL dioksan, lalu diaduk selama 24 jam pada suhu ruang. Hasil reaksi tersebut disaring, kemudian diambil filtratnya. Filtrat hasil reaksi tahap 1 ditambahkan sedikit demi sedikit kedalam campuran asam traneksamat (314,4 mg; 2 mmol) yang dilarutkan dalam 2 ml akuades dan trietilamin (202,3 mg; 2 mmol) yang dilarutkan dalam 1 mL dioksan. Campuran tersebut diaduk selama 24 jam pada suhu ruang. Hasil reaksi kemudian disaring dan diambil filtratnya, lalu diuapkan pelarutnya dengan *Smart evaporator*. Setelah itu dilarutkan dengan metanol, lalu ditambahkan dengan magnesium sulfat, lalu disaring kemudian diuapkan. Ekstrak hasil reaksi kemudian dipurifikasi menggunakan kromatografi kolom gravitasi untuk mendapatkan senyawa murni. Setelah itu, dilakukan uji kemurnian senyawa menggunakan kromatografi lapis tipis dengan kombinasi 3 eluen (Iizuka et al., 2003).

#### b. Sintesis Senyawa 7

Pada reaksi tahap 1 yaitu senyawa 2 sebanyak (162,06 mg; 1 mmol) ditambahkan dengan *N,N'-dicyclohexylcarbodiimide* sebanyak ( 412,66 mg; 2 mmol) dan NHS (230,18 mg; 2 mmol) yang dicampurkan ke dalam 10 mL dioksan, lalu diaduk selama 24 jam pada suhu ruang. Setelah reaksi tersebut selesai maka dilakukan penyaringan, kemudian diambil filtratnya. Filtrat hasil reaksi tahap 1 ditambahkan sedikit demi sedikit kedalam campuran asam traneksamat (314,4 mg; 2 mmol) yang dicampurkan ke dalam 2 ml akuades dan trietilamin (202,3 mg; 2 mmol) yang dilarutkan dalam 1 mL dioksan. Campuran tersebut diaduk selama 24 jam pada suhu ruang. Setelah itu, pelarutnya diuapkan dengan *smart evaporator*, dilarutkan dengan metanol dan ditambahkan dengan magnesium sulfat, lalu disaring kemudian diuapkan. Ekstrak hasil reaksi kemudian dipurifikasi menggunakan kromatografi kolom gravitasi untuk mendapatkan senyawa murni. Setelah itu, dilakukan uji kemurnian senyawa dengan kromatografi lapis tipis menggunakan kombinasi 3 eluen (Iizuka et al., 2003).

#### c. Sintesis Senyawa 8

Pada reaksi tahap 1 senyawa 3 sebanyak (178,06 mg; 1 mmol) ditambahkan dengan *N,N'-dicyclohexylcarbodiimide* sebanyak ( 412,66 mg; 2 mmol) dan NHS yang dilarutkan dalam 10 mL dioksan, lalu diaduk selama 24 jam. Hasil reaksi tersebut disaring, kemudian diambil filtratnya. Filtrat hasil reaksi tahap 1 ditambahkan sedikit demi sedikit kedalam campuran asam traneksamat (314,4 mg; 2 mmol) yang dilarutkan dalam 2 ml akuades dan trietilamin (202,3 mg; 2 mmol) yang dilarutkan dalam 1 mL dioksan. Campuran tersebut diaduk selama 24 jam pada suhu ruang. Hasil reaksi kemudian disaring dan diambil



filtratnya, lalu diuapkan pelarutnya menggunakan *smart evaporator*. Setelah itu dilarutkan dengan metanol, lalu ditambahkan dengan magnesium sulfat, disaring kemudian diuapkan. Ekstrak hasil reaksi kemudian dipurifikasi menggunakan kromatografi kolom gravitasi untuk mendapatkan senyawa murni. Setelah itu, dilakukan uji kemurnian senyawa dengan kromatografi lapis tipis menggunakan kombinasi 3 eluen (Iizuka et al., 2003).

#### d. Sintesis Senyawa 9

Pada reaksi tahap 1 senyawa 4 sebanyak (208,07 mg; 1 mmol) ditambahkan dengan *N,N'-dicyclohexylcarbodiimide* sebanyak (412,66 mg; 2 mmol) dan NHS (230,18 mg; 2 mmol) yang dilarutkan dalam 10 mL dioksan, lalu diaduk selama 24 jam pada suhu ruang. Hasil reaksi tersebut disaring, kemudian diambil filtratnya. Filtrat hasil reaksi tahap 1 ditambahkan sedikit demi sedikit kedalam campuran asam traneksamat (314,4 mg; 2 mmol) yang dilarutkan dalam 2 ml akuades dan trietilamin (202,3 mg; 2 mmol) yang dilarutkan dalam 1 mL dioksan. Campuran tersebut diaduk selama 24 jam pada suhu ruang. Hasil reaksi kemudian disaring dan diambil filtratnya, lalu diuapkan pelarutnya dengan *smart evaporator*. Setelah itu dilarutkan dengan metanol, lalu ditambahkan dengan magnesium sulfat, lalu disaring kemudian diuapkan. Ekstrak hasil reaksi kemudian dipurifikasi menggunakan kromatografi kolom gravitasi untuk mendapatkan senyawa murni. Setelah itu, dilakukan uji kemurnian senyawa dengan kromatografi lapis tipis menggunakan kombinasi 3 eluen (Iizuka et al., 2003).

#### e. Sintesis Senyawa 10

Pada reaksi tahap 1 senyawa 5 sebanyak (148,05 mg; 1 mmol) ditambahkan dengan *N,N'-dicyclohexylcarbodiimide* sebanyak (412,66 mg; 2 mmol) dan NHS (230,18 mg; 2 mmol) yang dilarutkan dalam 10 mL dioksan, lalu diaduk selama 24 jam pada suhu ruang. Hasil reaksi tersebut disaring, kemudian diambil filtratnya. Filtrat hasil reaksi tahap 1 ditambahkan sedikit demi sedikit kedalam campuran asam traneksamat (314,4 mg; 2 mmol) yang dilarutkan dalam 2 ml akuades dan trietilamin (202,3 mg; 2 mmol) yang dilarutkan dalam 1 mL dioksan. Campuran tersebut diaduk selama 24 jam pada suhu ruang. Hasil reaksi kemudian disaring dan diambil filtratnya, lalu diuapkan pelarutnya dengan *smart evaporator*. Setelah itu dilarutkan dengan metanol, lalu ditambahkan dengan magnesium sulfat, disaring, kemudian diuapkan. Ekstrak hasil reaksi kemudian dipurifikasi menggunakan kromatografi kolom gravitasi untuk memperoleh senyawa murni. Setelah itu, dilakukan uji kemurnian senyawa dengan kromatografi lapis tipis menggunakan kombinasi 3 eluen



1

ditimbang sebanyak (25 mg; 0,087 mmol) lalu dilarutkan dalam dioksan pada suhu 0 °C ditambahkan *Oxalyl Chloride* sebanyak 25 mg. Campuran tersebut diaduk dengan *magnetic stirrer* pada suhu ruang selama 24 jam. Setelah itu, dilakukan penetralan pH dengan NaOH 5%, lalu diekstraksi

dengan etil asetat. Fase etil asetat diambil, kemudian pelarut diuapkan dengan oven. Setelah itu, dilakukan pemisahan dengan kromatografi kolom gravitasi untuk mendapatkan senyawa murni. Kemudian dilakukan uji kemurnian senyawa dengan kromatografi lapis tipis menggunakan 3 kombinasi eluen (Upadhyay & Ojha, 2023).

### 2.3.2 Karakterisasi senyawa

Karakterisasi senyawa dilakukan dengan penentuan struktur kimia senyawa hasil sintesis menggunakan Spektrometri *ATR-Fourier-Transform Infra Red* (ATR-FTIR), Spektrofotometri NMR ( $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ , 2D HMBC NMR) dan LC-HRMS.

- Spektrofotometri IR untuk menentukan adanya gugus fungsi pada struktur kimia.
- Spektrofotometri NMR 1D ( $^1\text{H-NMR}$ ) untuk menentukan jumlah hidrogen (proton) pada struktur kimia.
- Spektrofotometri NMR 1D ( $^{13}\text{C-NMR}$ ) untuk menentukan jumlah karbon pada struktur kimia.
- Spektrofotometri NMR 2D HMBC untuk mengetahui korelasi proton dengan karbon tetangga pada struktur kimia.
- LC-HRMS untuk mengetahui berat molekul senyawa

### 2.3.3 Pengujian antibakteri dengan metode *Total Plate Count* (TPC)

#### 2.3.3.1 Sterilisasi alat

Alat-alat yang akan digunakan harus dalam keadaan steril. Khusus untuk senyawa yang tidak tahan terhadap pemanasan, perlakuan dapat dilakukan secara aseptis di dalam *Laminar Air Flow* untuk menghindari adanya kontaminasi. Alat-alat gelas terlebih dahulu dicuci bersih dan dikeringkan, kemudian dibungkus menggunakan plastik dan disterilkan di dalam *autoclave* pada suhu  $121\text{ }^\circ\text{C}$  selama 15 menit.

#### 2.3.3.2 Peremajaan bakteri

Bakteri uji diremajakan pada media cair *nutrient broth* dalam tabung reaksi, kemudian diinkubasi di dalam *shaker* selama 24 jam.

#### 2.3.3.3 Inokulasi bakteri pada sampel

Bakteri dengan konsentrasi  $10^4$  CFU/mL ditambahkan dengan sampel uji di dalam *microtube*. Pada masing-masing senyawa uji diambil sebanyak  $12,5\ \mu\text{L}$  dari larutan stok masukkan kedalam *microtube* dan ditambahkan  $487,5\ \mu\text{L}$  suspensi ada kontrol positif, dipipet  $125\ \mu\text{L}$  dari larutan stok  $8000\ \text{ppm}$  dan suspensi bakteri  $10^4$  CFU/mL. Pada kontrol negatif, dipipet  $10\ \mu\text{L}$  dan ditambahkan  $490\ \mu\text{L}$  suspensi bakteri  $10^4$  CFU/mL. Kemudian,ortex terlebih dahulu dan diinkubasi selama 24 jam di dalam *shaker*.



### 2.3.3.4 Pengenceran serial dan *plating* pada media padat

Disiapkan 3 tabung reaksi berisi NaCl 0,85 % yang masing-masing berisi 4,5 mL NaCl 0,85 % yang mewakili 1 faktor pengenceran. Pengenceran dilakukan dengan cara memipet 500  $\mu$ L campuran bakteri dan sampel yang kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi 1, lalu 500  $\mu$ L dari tabung reaksi 1 dipindahkan ke tabung reaksi 2 dan dipipet 500  $\mu$ L dari tabung reaksi 2 lalu dipindahkan ke tabung reaksi 3. Setelah itu diambil 500  $\mu$ L dari masing-masing tabung untuk dilakukan *plating* ke media agar. Kemudian dilakukan inkubasi menggunakan inkubator dengan suhu 37 °C selama 24 jam. Setelah itu dilakukan pengamatan dengan menghitung jumlah koloni yang terbentuk pada media di cawan petri (Senopati et al., 2024).

### 2.3.4 Pengujian toksisitas dengan metode *brine shrimp lethality test* (BSLT)

Uji toksisitas dilakukan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Air laut masing-masing sebanyak 780  $\mu$ L, 400  $\mu$ L, 640  $\mu$ L dan 720  $\mu$ L dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian dimasukkan 20  $\mu$ L sampel dengan konsentrasi 80.000 ppm ke dalam tabung 1 yang berisi 780  $\mu$ L air laut, lalu dihomogenkan terlebih dahulu. Lalu dipipet 400  $\mu$ L dari tabung 1 ke tabung 2 yang berisi 400  $\mu$ L air laut dan dihomogenkan. Lalu dipipet sebanyak 160  $\mu$ L dari tabung 2 ke tabung 3 yang berisi 640  $\mu$ L air laut dan dihomogenkan. Kemudian dipipet 80  $\mu$ L dari tabung 3 ke tabung 4 berisi 720  $\mu$ L air laut sehingga menjadi larutan dengan konsentrasi 2000, 1000, 200 dan 20 ppm. Larva udang *Artemia salina* yang berumur 48 jam digunakan sebagai bahan uji. sebanyak 100  $\mu$ L air laut dengan larva 10 ekor dimasukkan ke dalam *microplate*. Larutan sampel dengan konsentrasi 2000, 1000, 200 dan 20 ppm masing-masing diambil sebanyak 100  $\mu$ L, lalu dimasukkan ke dalam *microplate* yang telah berisi 10 larva udang yang dilakukan secara triplo. Kemudian disimpan dibawah cahaya dan ditutup serta dijaga agar suhunya tetap pada  $\pm$  20 °C yang didiamkan selama 24 jam, lalu diamati jumlah larva yang mati dan hidup kemudian dihitung % kematian larva setelah diinkubasi selama 24 jam (Kharisma & Nisa, 2023). Nilai % kematian larva diperoleh melalui persamaan berikut :

$$(\%) \text{ Kematian} = \frac{\text{Jumlah larva yang mati}}{\text{Total larva}} \times 100 \%$$

### 2.3.5 Skrining antioksidan

Aktivitas antioksidan secara kualitatif digunakan untuk mengevaluasi potensi senyawa-senyawa amida turunan dari asam sinamat-traneksamat sebagai I ditotolkan pada lempeng KLT. Setelah itu, plat dilihat di bawah ang gelombang 254 nm dan disemprot dengan larutan DPPH ktivitas antioksidan senyawa. (Kalemba et al., 2024)



## 2.3.6 Studi *in silico* senyawa turunan sinamat-traneksamat

### 2.3.6.1 Analisis *molecular docking*

Struktur ligan dibuat menggunakan aplikasi ChemDraw 20.0. Struktur kristal protein diunduh dari Protein data Bank (<https://rcsb.org/>) dengan kode PDB : 1MWT, 3DAA, 6G9S, dan 6M1S. Proses *docking* dilakukan dengan aplikasi UCSF-Chimera yang telah terhubung dengan Autodock Vina. Dalam melakukan *molecular docking*, maka tahap pertama yang dilakukan adalah preparasi protein dan ligan alami dengan menu *dock-prep*. Selanjutnya dipilih menu Autodock-vina untuk dilakukan proses *docking* dengan mengatur ukuran *grid-box*. Setelah diperoleh hasil *docking* antara ligan alami dengan protein, maka dilakukan validasi metode dengan aplikasi Pymol DLP 3D (*Checkerboard*) untuk mengetahui nilai RMSD hasil *docking*. Kemudian dilakukan proses visualisasi hasil *docking* dengan aplikasi Biovia Discovery Studio (Butt et al., 2020).

### 2.3.6.2 Analisis *molecular dynamic*

Kompleks ligan-protein hasil analisis *molecular docking* yang terpilih kemudian dilanjutkan dengan simulasi dinamika molekuler menggunakan perangkat lunak YASARA Structure (YASARA Bioscience GmbH, Wina, Austria) dengan medan Amber14 pada batas periodik. Kemudian kompleks ini disesuaikan pada suhu 310 K dan pH 7,4. Tahap penetralan sistem dilakukan dengan penambahan T13P dan *counter ion* yaitu Na<sup>+</sup> dan Cl<sup>-</sup>. Setelah pengaturan selesai, maka sistem dijalankan pada rentang waktu 0,25 fs dengan pengumpulan data setiap 25 ps untuk memperoleh nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD), *Root Mean Square Fluctuation* (RMSF) dan *Radius of Gyration* (RoG) (Rasyid et al., 2023).

### 2.3.6.3 Prediksi *drug-likeness*, farmakokinetika dan toksisitas

Prediksi *drug-likeness*, farmakokinetika dan toksisitas dianalisis secara *In silico*. Proses prediksi ini dilakukan dengan memasukkan *file* struktur dalam format SMILES pada *website* SwissADME yang dapat diakses melalui (<http://swissadme.ch>) dari Swiss Institute of Bioinformatics untuk prediksi *drug-likeness* dan toksisitas sedangkan farmakokinetika menggunakan pkCSM yang dapat diakses melalui (<http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsml>) dari Biosig Lab University of Melbourne.





Optimized using  
trial version  
[www.balesio.com](http://www.balesio.com)