

## BAB III

### METODE PENELITIAN

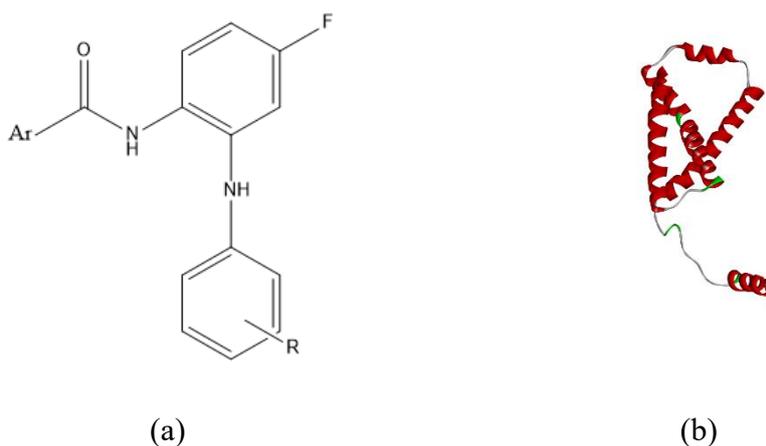
#### 3.1 Alat dan Bahan

##### 3.1.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah komputer dengan spesifikasi AMD Ryzen 3 3250U @2,60 GHz, RAM 12 GB, dan Solid State Drive 256 GB. Perangkat lunak yang digunakan ialah BuildQSAR, PaDEL-Descriptor, ORCA, RStudio Microsoft Exel, ipython, Avogadro, Chemdraw, Autodock4, PyMOL2 dan Biovia Discovery Visualizer.

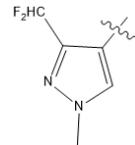
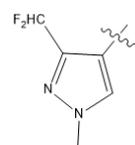
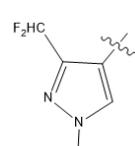
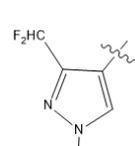
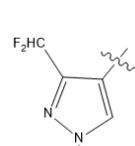
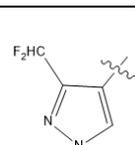
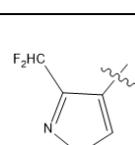
##### 3.1.2 Bahan

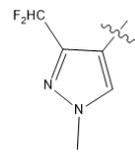
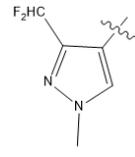
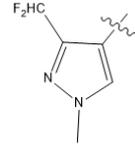
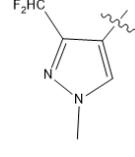
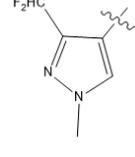
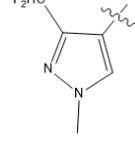
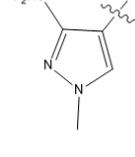
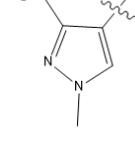
Bahan yang digunakan untuk pemodelan QSAR pada penelitian ini yaitu menggunakan data 29 senyawa turunan pirazol karboksamida dengan nilai aktivitas antijamur *R. solani* (EC<sub>50</sub>) yang didapatkan dari hasil penelitian oleh Zhang *et al.*, (2019). Data kerangka senyawa beserta nilai aktivitasnya ditunjukkan pada Tabel 3.1 sedangkan senyawa target dan struktur kompleks enzim suksinat dehidrogenase (dengan PDB ID: 2FBW) yang digunakan pada penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 3.1.

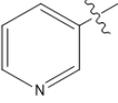
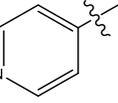
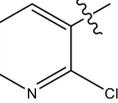
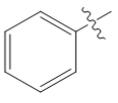
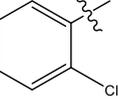
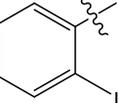
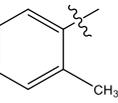
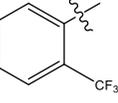
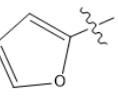
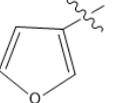


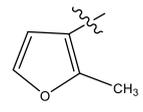
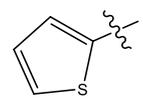
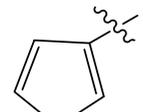
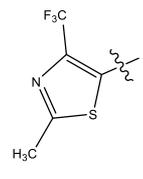
**Gambar 3.1** Struktur (a) senyawa turunan pirazol karboksamida dan (b) suksinat dehidrogenase yang telah dipreparasi (PDB ID: 2FBW)

**Tabel 3.1** Data aktivitas log EC<sub>50</sub> beserta substituen pada struktur senyawa turunan pirazol karboksamida (Zhang *et al.*, 2019)

No	Kode Senyawa	Ar	R	log EC <sub>50</sub>
1	S1		-H	-0,56864
2	S2		2-Cl	-0,74473
3	S3		3,4-Cl <sub>2</sub>	-1,09691
4	S4		2,4-Cl <sub>2</sub>	-0,52288
5	S5		2-Cl,4-Br	-0,3279
6	S6		3-Cl,4-CH <sub>3</sub>	-1,52288
7	S7		3-Br	-1

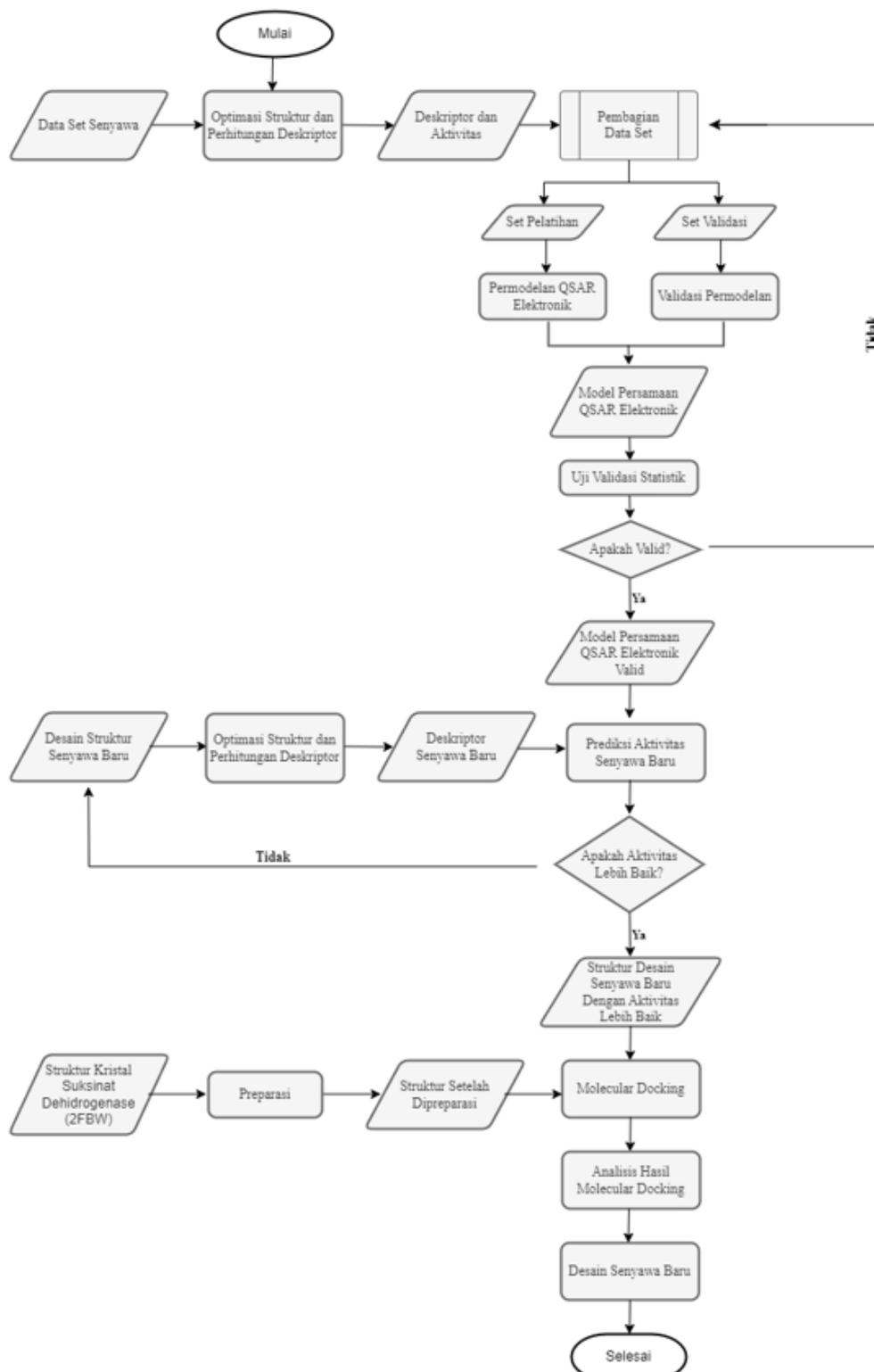
8	S8		2-CH <sub>3</sub> ,5-Br	-0,34679
9	S9		2-CH <sub>3</sub> ,3-Br	-1,39794
10	S10		3-OCH <sub>3</sub>	-0,76955
11	S11		3-I	-0,58503
12	S12		3,5-F <sub>2</sub>	-1,1549
13	S13		3-CN	-0,05552
14	S14		3-OCF <sub>3</sub>	-0,4437
15	S15		3,4,5-F <sub>3</sub>	-1,30103

16	S16		3-Cl,4-CH <sub>3</sub>	0,09691
17	S17		3-Cl,4-CH <sub>3</sub>	-0,4318
18	S18		3-Cl,4-CH <sub>3</sub>	-0,46852
19	S19		3-Cl,4-CH <sub>3</sub>	0,403121
20	S20		3-Cl,4-CH <sub>3</sub>	0,235528
21	S21		3-Cl,4-CH <sub>3</sub>	0,220108
22	S22		3-Cl,4-CH <sub>3</sub>	-0,08619
23	S23		3-Cl,4-CH <sub>3</sub>	-0,07572
24	S24		3-Cl,4-CH <sub>3</sub>	0,326336
25	S25		3-Cl,4-CH <sub>3</sub>	0,045323

26	S26		3-Cl,4-CH <sub>3</sub>	-0,45593
27	S27		3-Cl,4-CH <sub>3</sub>	0,647383
28	S28		3-Cl,4-CH <sub>3</sub>	0,120574
29	S29		3-Cl,4-CH <sub>3</sub>	-0,50864

### 3.2 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian yang dilakukan dalam penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 3.3.



**Gambar 3.2** Diagram Alir Proses Penelitian

Ranggaweny Al-Ghani, 2023

**UJI ANALISIS MLR-PCA PADA DESAIN TURUNAN PIRAZOL KARBOKSAMIDA SEBAGAI INHIBITOR SUKSINAT DEHIDROGENASE (SDH) DENGAN 2D-QSAR DAN MOLECULAR DOCKING**

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

### 3.2.1 Optimasi Struktur Senyawa dan Perhitungan Deskriptor

Sebanyak 29 struktur senyawa turunan pirazol karboksamida beserta aktivitas  $EC_{50}$  yang didapatkan dari hasil penelitian oleh Zhang *et al.*, (2019) kemudian dibuat log  $EC_{50}$  untuk homogenitas data penelitian. Struktur senyawa tersebut digambar menggunakan perangkat lunak Avogadro dan dioptimasi dengan metode DFT/B3LYP/LanL2DZ. Perhitungan dilakukan menggunakan perangkat lunak ORCA dengan program *command prompt* (cmd). Hasil perhitungan yang diperoleh melalui ORCA berupa *file output* kemudian didapatkan data berupa deskriptor elektronik (2D) dari masing-masing senyawa.

#### 3.2.1.1 Deskriptor Elektronik (2D)

Deskriptor molekul 2D didapatkan dari hasil perhitungan ORCA berupa *file output*. *File output* dibuka menggunakan notepad. Deskriptor yang digunakan pada molekul elektronik antara lain muatan parsial atom C, muatan parsial atom N, muatan parsial atom O, muatan parsial atom F, HOMO, LUMO, energi minimum, dan momen dipol. Total deskriptor yang digunakan pada perhitungan molekul 2D sebanyak 22 deskriptor.

### 3.2.2 Pembuatan dan Validasi Model QSAR

Sebanyak 29 struktur senyawa turunan pirazol karboksamida dibagi secara semi random menjadi *training set* dan *test set* dengan rasio 4 : 1 (Kurniawan *et al.*, 2021). Dataset diurutkan dan dibagi menjadi 6 *cluster* dengan setiap *cluster* dipilih 1 senyawa secara acak untuk menjadi bagian dari *test set*. Selanjutnya perhitungan persamaan QSAR dilakukan pada *training set* menggunakan software BuildQSAR dengan pencarian *Genetic Algorithm* (D.B. de Oliveira & A.C. Gaudio., 2000).

Pembagian yang digunakan pada penelitian ini yaitu *training set* sebanyak 23 senyawa dan *test set* sebanyak 6 senyawa. Model persamaan QSAR yang telah divalidasi dilakukan metode analisis statistik dengan metode MLR menggunakan perangkat lunak BuildQSAR dan metode PCA menggunakan RStudio. Persamaan QSAR yang dihasilkan dapat digunakan untuk menghitung nilai log  $EC_{50}$  prediksi dari desain senyawa baru.

Hasil persamaan QSAR terbaik dilakukan validasi dengan cara mensubsitusi nilai deskriptor dari test set sesuai persamaan QSAR dan

membandingkan hasil perhitungannya dengan log EC<sub>50</sub> hasil eksperimen masing-masing struktur senyawa. Parameter-parameter yang digunakan pada pemodelan persamaan QSAR antara lain sebagai berikut:

1. Nilai R<sup>2</sup> pada *training set* lebih dari 0,8 dan pada *test set* lebih dari 0,6.
2. Selisih nilai Q<sup>2</sup> dan R<sup>2</sup> tidak lebih dari 0,3.
3. Nilai RMSE pada *test set* kurang dari 1.
4. Nilai F pada *training set* bernilai tinggi.

(Veerasley *et al.*, 2011)

### 3.2.3 Desain Senyawa

Desain senyawa baru dilakukan berdasarkan struktur dengan nilai aktivitas terbaik sesuai referensi. Struktur senyawa terbaik dimodifikasi dengan mengubah substituenya. Selanjutnya struktur digambar menggunakan Avogadro dan dihitung deskriptor elektronik (2D) menggunakan ORCA. Nilai deskriptor yang diperoleh selanjutnya disubstitusikan ke persamaan QSAR yang telah divalidasi sebelumnya untuk menghitung prediksi nilai aktivitas senyawa hasil desain berupa nilai log EC<sub>50</sub>. Desain senyawa ini dilakukan hingga didapatkan nilai aktivitas yang lebih baik dibandingkan data referensi.

### 3.2.4 Applicability Domain

Nilai aktivitas EC<sub>50</sub> yang diperoleh dari hasil desain senyawa sebelumnya kemudian dihitung nilai *Leverage* (L) dan *Standardized Residual* (SR) menggunakan matriks dengan bantuan Microsoft Excel. Tahapan perhitungan nilai SR dan L ialah sebagai berikut:

1. Perhitungan Hat Matriks

Perhitungan hat matriks dilakukan dengan menggunakan rumus dibawah dimana X merupakan matriks deskriptor.

$$H = X(X^T X)^{-1} X^T$$

2. Penentuan Nilai *Leverage* (L)

Nilai L diperoleh dari elemen diagonal hasil perhitungan matriks.

3. Perhitungan Nilai *Standardized Residual* (SR)

Perhitungan nilai SR diperoleh dari hasil penentuan nilai L sebelumnya.

### 3.2.5 *Molecular Docking*

Hasil desain senyawa prediksi aktivitas log EC<sub>50</sub> terbaik dilakukan proses *molecular docking*. *Molecular docking* dilakukan menggunakan perangkat lunak Autodock4. Langkah pertama yang dilakukan yaitu preparasi molekul protein enzim. Struktur yang digunakan sebagai target enzim suksinat dehidrogenase yaitu *Avian respiratory complex II with carboxin bound* dengan kode PDB ID: 2FBW dan diunduh pada situs web Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>). Enzim tersebut dipreparasi dengan menghilangkan molekul-molekul air dan non-ligan menggunakan perangkat lunak autodock4.

Proses *docking* dilakukan dengan metode *grid* berupa *semigrid* menggunakan perangkat lunak autodock4. Selanjutnya dilakukan perhitungan docking score atau energi afinitas menggunakan perangkat lunak autodock vina. Kemudian dilakukan validasi untuk mendapatkan nilai RMSD menggunakan perangkat lunak pymol. Langkah terakhir melakukan visualisasi interaksi molekul ligan dengan protein dalam bentuk 2D dan 3D menggunakan perangkat lunak Biovia Discovery Studio Visualizer.