

BAB III. METODOLOGI PENELITIAN

Metodologi yang digunakan pada penelitian ini meliputi optimasi geometri, penambatan molekul, dan dinamika molekul. Tahapan yang dilakukan meliputi persiapan ligan, optimasi geometri, persiapan protein target, validasi metode penambatan molekul, simulasi penambatan molekul ligan uji, dan simulasi dinamika molekul.

Langkah pertama yang dilakukan pada penelitian ini yaitu dengan melakukan persiapan ligan menggunakan aplikasi *ChemDraw Ultra* meliputi pemodelan struktur 2D dan 3D, kemudian dilakukan optimasi geometri ligan uji dengan metode *Density Functional Theory* (DFT), basis set 6-31G dan fungsi B3LYP dengan menggunakan aplikasi *Gaussian 09* kemudian dilakukan penentuan sifat fisikokimianya. Persiapan reseptor target dengan mempersiapkan enzim *nadh- dependent enoyl-acp reductase (InhA)* yang diunduh dari www.rcsb.org dengan kode PDB ID 2AQ8.

Langkah selanjutnya dilakukan validasi penambatan molekul antara reseptor dengan ligan alami menggunakan aplikasi *AutoDock* versi 4.2.6. dan interpretasi hasil dari nilai *RMSD* dapat dikatakan valid jika nilai $RMSD \leq 2\text{\AA}$. Kemudian dilakukan simulasi penambatan molekul antara enzim *nadh- dependent enoyl-acp reductase (InhA)* dan senyawa uji menggunakan aplikasi *Autodock 4.2.6* dengan parameter yang sudah tervalidasi dan lakukan interpretasi hasil seperti nilai energi bebas (*Gibbs Energy/ ΔG*), nilai *Ki* (Konstanta Inhibisi) dan interaksi ikatan yang terbentuk antara ligan dan reseptor target.

Senyawa terbaik hasil dari simulasi penambatan molekul digunakan untuk simulasi dinamika molekul menggunakan aplikasi *AMBER (Assisted Model Building with Energy Refinement)* versi 18 untuk melihat kestabilan interaksi reseptor dan ligan. meliputi tahapan minimisasi, pemanasan dengan suhu 310°K dan produksi selama 100 ns yang mensimulasikan pada keadaan yang mendekati fisiologis tubuh manusia, kemudian dilakukan interpretasi hasil antara lain *RMSD*, *RMSF*, dan *MMGBSA*.