

BAB III METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi merupakan semua objek atau bagian yang menjadi sasaran penelitian. Populasi dalam penelitian ini adalah kandungan kimia dalam bawang putih (*Allium sativum* L.) dan protein target antihiperlipidemia.

Sampel merupakan bagian dari populasi yang digunakan dalam penelitian. Sampel dalam penelitian ini adalah kandungan kimia dalam umbi bawang putih (Tabel 1).

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama pada penelitian ini adalah kandungan kimia yang terdapat dalam umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) yang diperoleh dari *database knapsack*. Variabel utama kedua pada penelitian ini adalah protein target yang diperoleh dari *database kegg pathway*. Variabel utama ketiga pada penelitian ini adalah profil *network pharmacology* yang terbentuk. Variabel utama keempat pada penelitian ini adalah perangkat lunak yang digunakan untuk membangun *network pharmacology*, metode pembuatan tabulasi, serta analisis hasil visualisasi *network pharmacology*.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandungan kimia dari umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) dan target molekuler. Variabel tergantung yang digunakan dalam penelitian ini adalah profil *network pharmacology* yang terbentuk.

3. Definisi Variabel Utama

Pertama, kandungan kimia umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) adalah metabolit sekunder yang didapat dari *database knapsack* (Tabel 1).

Kedua, protein target antihiperlipidemia adalah protein target yang berinteraksi dengan obat hiperlipid yang diperoleh dari *kegg pathway*, yaitu *Occludin*; *Leucine-rich PPR motif-containing protein*; *Exportin-5*; *Rho-related GTP-binding protein RhoD*; *M-phase phosphoprotein 6*; *RPS27A protein*; *CD59 glycoprotein*; *polyadenylate-binding protein 4*; *Rho-related GTP-binding protein*

RhoN; Microtubule-actin cross-linking factor 1; Enzim HMG-CoA reduktase; Enzim Hormone Sensitive Lipase; Peroxisom Proliferator-activated receptor alpha (PPAR- α); Proprotein Convertase Subtilisin-kexin Type 9 (PCSK9).

Ketiga, profil *network pharmacology* adalah jaring yang terbentuk yang menunjukkan adanya interaksi antara senyawa kimia dari umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) dengan protein target sehingga menghasilkan terapi.

Keempat, visualisasi *network pharmacology* dilakukan menggunakan *cytoscape* dan dianalisis setelah mengeliminasi pengganggu berupa senyawa kimia maupun protein target yang tidak menghasilkan interaksi.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

1.1. Perangkat keras. Perangkat keras yang digunakan adalah laptop HP ProBook 4430s dengan spesifikasi Processor Intel(R) Core(TM) i3-2330M CPU @ 2.20GHz (4CPUs), ~2.2GHz. 2048MB RAM. DirectX Version DirectX 11.

1.2. Perangkat lunak. Perangkat lunak yang digunakan adalah Cytoscape (versi 3.9.0), Knapsack, Kegg Pathway, PubChem, PASS Online, Uniprot.

2. Bahan

2.1. File tabulasi dalam bentuk CSV. Data senyawa kimia kandungan dari umbi bawang putih, protein targetnya yang terlibat, ditabulasikan dalam format csv.

D. Cara Kerja

1. Identifikasi protein target

Protein target diperoleh menggunakan jurnal ilmiah dan perangkat lunak berbasis web *database* bernama *Kegg Pathway* dengan mengakses URL <https://www.kegg.jp>. Target pengobatan dicari dengan memilih tab *search* dengan kata kunci *dyslipidemia* kemudian tekan Go, laman baru akan menampilkan jaringan antar penyakit.

2. Validasi nama gen

Protein target yang didapat divalidasi menggunakan web *database* Uniprot, dengan cara mengakses URL <https://www.uniprot.org/>. Nama protein target dimasukkan pada *Search*

bar. Laman baru akan menampilkan nama protein target dan nama gen resmi disertai dengan organism, kemudian pada laman baru dicari nama gen resmi dari protein target yang disertai keterangan ”*organism Homo sapiens (Human)*”.

3. Interaksi protein-protein

Nama gen yang telah divalidasi kemudian dicari interaksi protein-protein dari gen tersebut dengan cara mengakses URL <https://string-db.org/>. Nama gen yang telah didapat pada proses sebelumnya dimasukkan pada kolom *protein name* dan pada *organism* pilih *Homo sapiens*. Laman baru akan muncul menunjukkan protein yang berinteraksi dengan protein target disertai *combined score* dari rentang 0 hingga 1. Semakin tinggi *score* maka semakin kuat interaksi antara protein tersebut. Kekuatan ikatan protein paling tinggi adalah 0,9.

4. Prediksi senyawa target

Prediksi senyawa target bawang putih (*Allium Sativum L.*) dapat dilakukan menggunakan perangkat lunak berupa web *database* yaitu *SwissTargetPrediction* dengan mengakses URL : <http://www.swisstargetprediction.ch>. Prediksi senyawa target dapat dilakukan dengan cara membuka laman website *SwissTargetPrediction* yang tersedia kemudian pilih spesies *Homo Sapiens*, selanjutnya masukan SMILES dan klik *predict targets*. Laman baru akan menampilkan target senyawa beserta nilai *Probability* atau kemiripan antara senyawa target protein target dengan protein target yang terdapat pada kandungan kimia dari tanaman obat. Pada penelitian ini *Probability* yang digunakan adalah 0,9 keatas. Adapun pengujian prediksi senyawa target dapat dilakukan menggunakan web *database* PASSonline : <http://www.way2drug.com/passonline/index.php>. Prediksi senyawa target dapat dilakukan dengan cara membuka laman website, kemudian pilih *GO for prediction*, selanjutnya isi *username* dan *password*, selanjutnya pilih *Predict new compound* selanjutnya masukan SMILES dan klik *Get predict*. Laman baru akan menampilkan target senyawa beserta nilai *Probability* atau kemiripan antara senyawa target protein target dengan protein target yang terdapat pada kandungan kimia dari tanaman obat. Adapun *web server* lain yang dapat digunakan untuk prediksi target, yaitu Mapper : <http://www.lilab-ecust.cn/pharmmapper/check.html> , Super-PRED : https://prediction.charite.de/subpages/target_prediction.php , SEA : <https://sea.bkslab.org/>. prediksi senyawa target dapat dilakukan dengan

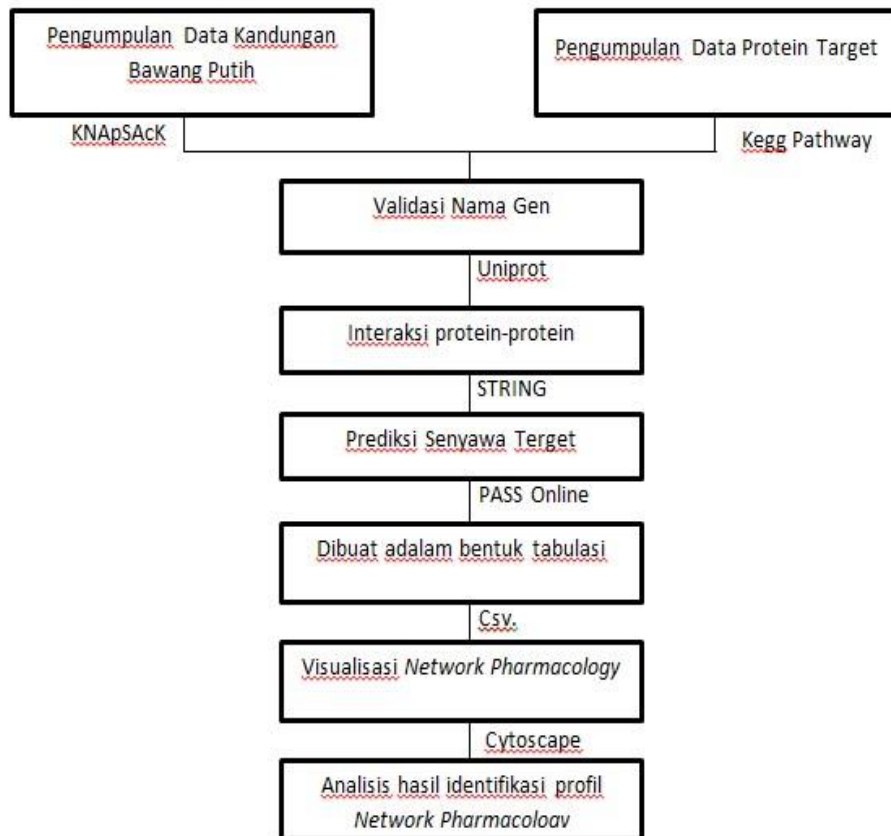
cara memasukan data SIMILES senyawa yang telah dicari pada PubChem. Selanjutnya pilih pada bagian “TRY SEA” dan download data dalam bentuk zip, kemudian file di extract dalam bentuk excel setelah itu dapat dilihat nilai *Max Tc* yang mana semakin tinggi nilai *Max Tc* di atas 0,5 maka suatu prediksi akan menunjukkan kemiripan nilai yang semakin kuat antara ikatan protein senyawa dengan ligannya.

Data prediksi senyawa target juga dapat dilihat dengan web *database* PubChem dengan mengakses URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>. Pencarian dilakukan dengan cara memasukan data senyawa yang telah di dapat dari *KNAPSAcK* pada kolom *search*. Laman baru akan menampilkan terkait sesuai dengan senyawa yang di cari kemudian pada konten *Biological Test Result* data *BioAssai* diunduh dalam bentuk csv kemudian data di tabulasikan kedalam *Microsoft excel*.

5. Visualisasi network pharmacology

Data senyawa kimia dari umbi bawang putih protein targetnya dan *pathophysiology pathway* yang terlibat, ditabulasikan dalam format csv. *Network Pharmacology* dibangun dengan menggunakan Cytoscape (versi 3.9.0) berdasarkan filecsv yang sudah dibuat. Cytoscape dibuka untuk melakukan import file tsv yang telah dibuat. File tsv dibuka dengan cara memilih *import network from file system* pada *toolbar* lalu pilih *open*, kemudian *network* yang telah terbentuk dikustomisasi untuk dibedakan bentuk antara protein target dan senyawa kandungan umbi bawang putih dengan memilih *Edge table tab*.

E. Skema Penelitian



Gambar 4. Skema Penelitian.