

## **BAB III METODE PENELITIAN**

### **A. Populasi dan Sampel**

Populasi adalah keseluruhan unit atau individu dalam ruang lingkup yang akan diteliti. Populasi yang digunakan pada penelitian ini adalah kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam buah mengkudu dan kunyit serta protein-protein target yang telah diidentifikasi melalui KNApSAcK, *PubChem*, *KEGG pathway*, dan literatur jurnal lain sebagai data pendukung.

Sampel adalah bagian dari populasi yang akan diteliti, sampel pada penelitian ini adalah kandungan kimia dari buah mengkudu dan rimpang kunyit yang peroleh dari KNApSAcK, *PuChem*, *KEGG pathway*, dan literatur jurnal lain sebagai data pendukung.

### **B. Variabel Penelitian**

#### **1. Identifikasi Variabel**

Variabel utama penelitian ini adalah kandungan senyawa dari buah mengkudu dan kunyit.

Variabel kedua yaitu protein target yang terlibat pada jalur *pathway* kanker tiroid.

Variabel ketiga adalah profil *network pharmacology* senyawa kimia yang terdapat pada buah mengkudu dan kunyit terhadap protein.

Variabel keempat adalah profil *network pharmacology* antara protein target dan senyawa yang saling berikatan membentuk jaring kompleks dalam mencegah atau menekan perkembangan kanker tiroid.

#### **2. Klasifikasi Variabel**

Pada penelitian ini terdapat tiga variabel yaitu variabel bebas, variabel terikat, dan variabel terkontrol.

Pertama, Variabel bebas. Variabel bebas yaitu kandungan senyawa buah mengkudu dan rimpang kunyit yang diperoleh dari literatur jurnal dan KNApSAcK.

Kedua, Variabel terikat. Variabel terikat berupa protein target yang digunakan untuk mengetahui target kerja pada buah mengkudu dan kunyit.

Ketiga, Variabel terkontrol. Variabel terkontrol yang digunakan berupa pengaturan *software* atau *web server*.

### 3. Definisi Operasional Variabel Utama

Pertama, kandungan senyawa adalah senyawa aktif yang terkandung pada buah mengkudu dan rimpang kunyit yang dapat digunakan sebagai senyawa uji.

Kedua, protein target adalah protein yang terlibat dalam pathway kanker tiroid di KEGG *Pathway* melalui string yang kemudian divalidasi menggunakan *web server* Uniport.

Ketiga, senyawa aktif adalah senyawa yang terkandung pada buah mengkudu dan rimpang kunyit yang aktif sebagai antikanker tiroid berdasarkan PubChem dan hasil prediksi dari *web server* STP, SEA, dan supred

Keempat, profil *network pharmacology* adalah profil visualisasi hubungan interaksi antara protein target dan senyawa yang saling berkaitan satu sama lainnya yang dapat menimbulkan efek antikanker tiroid.

## C. Alat dan Bahan

### 1. Alat

**1.1. Perangkat Keras.** Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah Intel Celeron N4020 Codename – Gemini Lake Refresh Fabrikasi – 14 nm 2-Core/2-Thread TDP – 6 Watt Total Cache – 4 MB dan Intel Atom Dual Core N570 Processor (1.66 GHz, 1MB L2, 667MHz FSB), 1GB DDR3 RAM, 320GB 7200RPM HDD ,10.1 WSVGA LED ,Intel GMA 3150 Graphics (Shared), Wifi,Bluetooth, Webcam, Card Reader, Windows 7 Starter 32 bit.

**1.2. Software dan Web Server.** KNApSACk ([http://www.knapsackfamily.com/knapsack\\_core/top.php000](http://www.knapsackfamily.com/knapsack_core/top.php000)), PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>), DrugCentral (<https://drugcentral.org/>), KEGG Pathway (<https://www.genome.jp/kegg/pathway.html>), Uniprot (<https://www.uniprot.org/>), String (<https://string-db.org/>), Swiss Target Prediction (<http://www.swisstargetprediction.ch/>), SEA (<https://sea.bkslab.org/>), Cytoscape (<http://www.cytoscape.org>), Google scholar (<https://scholar.google.com/>), NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

## 2. Bahan

Kandungan senyawa kimia pada tanaman buah mengkudu dan rimpang kunyit serta protein target yang disajikan dengan format CSV dan TSV.

### D. Jalannya Penelitian

#### 1. Identifikasi Interaksi Protein-Protein Target

Identifikasi interaksi antar protein-protein target dilakukan menggunakan *web server String*. Identifikasi dengan membuka laman String melalui *web server* <https://string-db.org/>. Nama protein target yang telah divalidasi atau kode protein yang diperoleh dari uniprot dimasukkan pada kolom “Protein Name” di String dan filter kolom “Organism” dengan memilih Homo sapiens lalu memilih menu search. Laman baru yang terbuka akan menampilkan protein yang langsung berinteraksi dengan protein target. Data yang diperoleh dapat diunduh melalui menu “Export” dalam bentuk TSV dan ditabulasikan ke dalam bentuk Microsoft excel untuk dipilih data protein yang saling berinteraksi. String akan melakukan pemetaan pengenalan pada data yang dimasukkan dan menampilkan cakupan jaringan protein yang telah terpetakan beserta interkoneksinya. Dalam String juga dilengkapi dengan skor yang menggambarkan tingkat keakuratan dimana semakin besar maka tingkat keakuratan semakin tinggi untuk setiap interaksi protein - protein. Oleh karena itu, memilih nilai pada String yang menunjukkan skor diatas 0.9.

#### 2. Validasi Nama Gen

Memvalidasi nama-nama protein target yang didapat menggunakan webserver Uniprot untuk mendapatkan nama-nama protein target yang telah disetujui secara global. Validasi dengan membuka laman webserver <https://www.uniprot.org/>. Nama protein yang sudah didapat kemudian dimasukkan kedalam bar pencarian kemudian klik *Search*. Lalu akan terbuka laman baru yang menampilkan beberapa informasi mengenai kode entry, nama protein target, nama gen resmi disertai dengan organismenya dan memilih organize untuk homo sapiens (Human).

#### 3. Skrining Zat Aktif terhadap Protein Target

Skrining aktivitas biologi senyawa pada anggur dan jeruk nipis dilakukan dengan membuka *web server* “PubChem” <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>, lalu memasukkan kandungan

senyawa kimia anggur dan jeruk nipis yang diperoleh dari KNApSAcK, dan jurnal-jurnal penelitian ke dalam kolom pencarian. Lalu, akan muncul beberapa pilihan yang berhubungan dengan senyawa yang dicari, setelah itu pada kolom *contents* ada beberapa pilihan, memilih menu “*Biological Test Result*”. Aktivitas senyawa-senyawa akan muncul kemudian memilih menu download dalam bentuk file CSV. Untuk memudahkan dalam menelusuri data-data pada file CSV maka ditabulasikan dalam bentuk Microsoft Excel, lalu menyeleksi data protein target yang aktif dan data yang memiliki aktivitas terhadap protein target.

#### **4. Prediksi Protein Target**

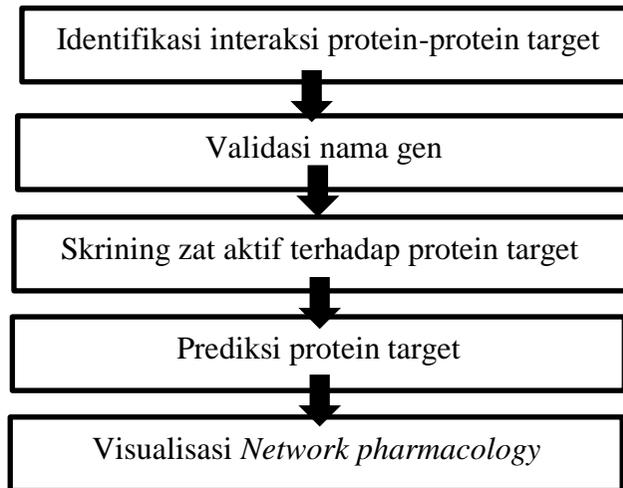
Memprediksi protein target dilakukan untuk memperoleh protein target dan senyawa berdasarkan kemiripannya. Prediksi ini menggunakan *web server Swiss Target Prediction* dengan mengakses URL <http://www.swisstargetprediction.ch/>. Memasukkan canonical SMILE senyawa bioaktif yang ada pada buah mengkudu dan kunyit. Memilih nilai pada *Swiss Target* pada skor di atas 0,7. Hal ini berkaitan dengan tingginya nilai kemiripan protein target dengan senyawa. Pada *Swiss Target Prediction* protein target terdapat keterangan berwarna hijau berupa bar probability yang menunjukkan semakin tinggi nilai *probability* maka semakin akurat prediksi protein target (Saharani *et al.*, 2021). Prediksi protein target juga dapat diidentifikasi menggunakan SEA (Similarity Ensemble Approach) dengan mengakses URL <https://sea.bkslab.org/>. Data canonical SMILE yang didapat dari PubChem dimasukkan kedalam kolom pencarian. Menyeleksi protein berdasarkan angka MaxTc di atas 0,7 dengan organisme homo sapiens, hal ini berkaitan dengan tingginya kemiripan antara protein dengan senyawa.

#### **5. Visualisasi Network Pharmacology**

Data interaksi antar protein diperoleh dari data protein yang telah diunduh dalam bentuk TSV dari string yang kemudian ditabulasikan dalam bentuk excel. Hasil tabulasi pada excel divisualisasi untuk melihat bagaimana interaksi antara protein dengan menggunakan perangkat lunak *cytoscape* dengan mengakses URL <http://www.cytoscape.org>. Mengumpulkan data bioaktivitas dilakukan dengan mencocokkan hasil tabulasi CSV dari aktivitas kandungan senyawa pada PubChem dengan protein target hasil tabulasi dari TSV. Hasil tabulasi data CSV dan TSV ini dianalisis menggunakan *cytoscape*

untuk melihat interaksi antara senyawa dengan protein target dalam membentuk *network pharmacology*. *Cytoscape* menyediakan cara untuk menginteraksikan, memvisualisasikan, dan menganalisis jaringan String termasuk mengintegrasikan data.

### E. Skema Jalannya Penelitian



Gambar 9. Skema Jalannya Penelitian