

## BAB III METODE PENELITIAN

### 3.1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian deskriptif. Pada penelitian deskriptif berusaha mendeskripsikan dan menginterpretasikan suatu obyek sesuai dengan yang diamati dan tidak memberikan perlakuan khusus terhadap obyek tersebut (Nazir, 2005). Penelitian ini mendeskripsikan tentang hasil prediksi mekanisme aksi molekuler senyawa antikanker Physalin dari ekstrak Ciplukan berdasarkan analisis bioinformatik.

### 3.2. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian akan dilakukan di Laboratorium Riset Bioteknologi FPMIPA UPI. Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari 2017 hingga Maret 2018.

### 3.3. Alat dan Bahan

Tabel 3. 1.

*Bahan yang Digunakan Dalam Penelitian*

No	Bahan	Sumber	Jumlah
1.	Data struktur Physalin D	PubChem	1 unit
2.	Data struktur Physalin F	PubChem	1 unit
3.	Data struktur Physalin G	PubChem	1 unit
4.	Data struktur PI3KGC	RCSB	1 unit
5.	Data struktur PDK1	RCSB	1 unit
6.	Data struktur AKT1	RCSB	1 unit
7.	Data struktur IKKB	RCSB	1 unit
8.	Data struktur PSMB5	RCSB	1 unit
9.	Data struktur KRAS	RCSB	1 unit
10.	Data struktur RAF1	RCSB	1 unit
11.	Data struktur MAP2K1	RCSB	1 unit
12.	Data struktur MAPK1	RCSB	1 unit
13.	Data struktur CDK6	RCSB	1 unit

Tabel 3. 2.

*Alat yang Digunakan Dalam Penelitian*

No	Alat	Spesifikasi	Jumlah
1.	Komputer Asus A455L	CPU Intel Core i3-5005U 2.0GHz; RAM 4GB; VGA GEFORCE 930M	1 unit
2.	Sistem operasi Ubuntu	Versi 16	1 unit
3.	Perangkat lunak ADT	Versi 1.5.6	1 unit
4.	Perangkat lunak Vina	Versi 1.1	1 unit
5.	Perangkat lunak PLIP	Versi 4	1 unit
6.	Perangkat lunak PyMol	Versi 2.1	1 unit
7.	Perangkat lunak OpenBabel	Versi 2.4	1 unit
8.	Basis data PubChem	Versi 2018	1 unit
9.	Basis data RSCB PDB	Versi 2018	1 unit

**3.4. Prosedur Penelitian****3.4.1. Koleksi Data Reseptor**

Data struktur 3D protein (untuk selanjutnya disebut sebagai data reseptor) berasal dari basis data Research Collaboratory for Structural Bioinformatics (RSCB) Protein Data Bank (Berman *et al.*, 2000), yang dapat diakses pada laman rcsb.org. Kata kunci yang digunakan dalam penelusuran adalah simbol protein yang dirincikan pada tabel (Tabel 3.). Data reseptor yang digunakan merupakan kompleks protein-inhibitor (inhibitor tipe 1) hasil *Nuclear magnetic resonance* (NMR) atau difraksi sinar-X dengan resolusi minimal 4Å. Data reseptor diunduh dalam format PDB (protein data bank).

**3.4.2. Koleksi Data Ligan**

Data struktur 3D Physalin D, F, dan G (untuk selanjutnya disebut sebagai data physalin) berasal dari basis data PubChem (Kim *et al.*, 2016), yang dapat diakses pada laman pubchem.ncbi.nlm.nih.gov. Kata kunci yang digunakan dalam penelusuran adalah Physalin D, Physalin F, dan Physalin G. Data physalin diunduh dalam format SDF. Data struktur 3D inhibitor

**Satrio Haryo Benowo, 2018**

*ANALISIS BIOINFORMATIK SENYAWA ANTIKANKER PHYSALIN DARI EKSTRAK CIPLUKAN (Physalis angulata)*

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

(untuk selanjutnya disebut sebagai data inhibitor) diekstrak dari data reseptor.

### 3.4.3. Preparasi Data Reseptor

Data reseptor dimuat pada PyMol (Schrodinger LLC, 2015). Data reseptor disederhanakan menjadi monomer dengan menghapus salinan *biological assembly* atau sub unit lain. Data struktur 3D inhibitor (untuk selanjutnya disebut data inhibitor) diekstrak. Data Air dan molekul lain dihapus. Data atom hidrogen polar ditambahkan pada data. Proses penyuntingan dilakukan dengan menjalankan perintah berikut pada konsol PyMol:

```
delete resn 0  
add hydrogen_polar
```

Data reseptor dan data inhibitor disimpan dalam format PDB. Data reseptor dimuat pada AutoDockTools (ADT) (Morris *et al.*, 2009). Data dipilih sebagai makromolekul dengan mengklik Grid>Macromolecule>Choose. Data disimpan dalam format .PDBQT.

### 3.4.4. Preparasi Data Ligan

Data inhibitor dan ligan dimuat pada AutoDock Tools. Data kemudian dipilih sebagai ligan dengan mengklik Ligan>Input>Choose. Kemudian torsi molekul akan ditambahkan secara otomatis. Data disimpan dalam format .PDBQT.

### 3.4.5. Preparasi Konfigurasi Penambatan

Kubus kisi (*grid box*) diposisikan pada situs aktif masing-masing protein berdasarkan koordinat inhibitor. Data inhibitor digunakan sebagai acuan posisi kubus kisi dengan mengklik Grid>Set Map Types>Choose Ligand. Kubus kisi kemudian diposisikan pada koordinat ligan dengan mengklik

Grid Box>Center>Center on ligand. Ruang pencarian dibuat sekecil mungkin tetapi tidak kurang dari 22,5Å dan lebih besar 15Å dari ukuran ligan. Konfigurasi penambatan molekuler dibuat dan disimpan dalam format .txt dengan mengklik Docking>Output>Vina configuration. File konfigurasi dibuat untuk masing-masing senyawa dan tiap-tiap protein

### 3.4.6. Penambatan Molekuler

Penambatan molekuler dilakukan dengan AutoDock Vina (untuk selanjutnya disebut Vina) (Trott & Olson, 2009). Data reseptor, data inhibitor, data physalin dan file konfigurasi yang sebelumnya dibuat digunakan sebagai input. Penambatan molekuler dilakukan sebanyak 3 kali untuk masing-masing senyawa. Penambatan molekuler dilakukan dengan menjalankan perintah berikut pada terminal ubuntu:

```
Vina -config config.txt. -log log.txt
```

Nilai afinitas pengikatan (*binding affinity*) yang ditampilkan pada terminal dan model konformasi data (untuk selanjutnya disebut model) dalam format PDBQT disimpan. Nilai afinitas pengikatan tertinggi hasil 3 kali run dibandingkan. Parameter yang diamati adalah nilai energi bebas gibbs. Semakin negatif nilai energi bebas gibbs yang dimiliki maka semakin besar afinitas yang dimilikinya.

### 3.4.7. Validasi Penambatan

Model inhibitor dan data inhibitor dimuat dan dievaluasi menggunakan PyMol. Model dibandingkan secara visual. Bila model inhibitor memiliki konformasi yang sangat berbeda, dilakukan penambatan ulang dengan modifikasi file konfigurasi. *Root mean square deviation* (RMSD) model inhibitor terhadap data inhibitor dihitung menggunakan PyMoL. Kalkulasi RMSD dilakukan dengan menjalankan perintah berikut:

```
Rms obj1,obj2
```

**Satrio Haryo Benowo, 2018**

*ANALISIS BIOINFORMATIK SENYAWA ANTIKANKER PHYSALIN DARI EKSTRAK CIPLUKAN (Physalis angulata)*

Universitas Pendidikan Indonesia | [repository.upi.edu](http://repository.upi.edu) | [perpustakaan.upi.edu](http://perpustakaan.upi.edu)

### 3.4.8. Visualisasi

Model inhibitor dan model ligan dikonversikan secara kolektif kedalam format PDB menggunakan OpenBabel (O'Boyle *et al.*, 2011). Konversi dilakukan dengan menjalankan perintah berikut pada terminal ubuntu:

```
Babel *.pdbqt -o *.pdb
```

Model ligan, model inhibitor, dan data reseptor dimuat dan divisualisasi menggunakan PyMol. Visualisasi pertama menggunakan mode *surface*. Visualisasi kedua menggunakan mode *cartoon* dan *stick* (untuk residu asam amino penting). Semua visualisasi dilakukan pada arah yang sama dan perbesaran yang berbeda pada mode visualisasi. Hasil visualisasi disimpan dalam format .png menggunakan perintah berikut:

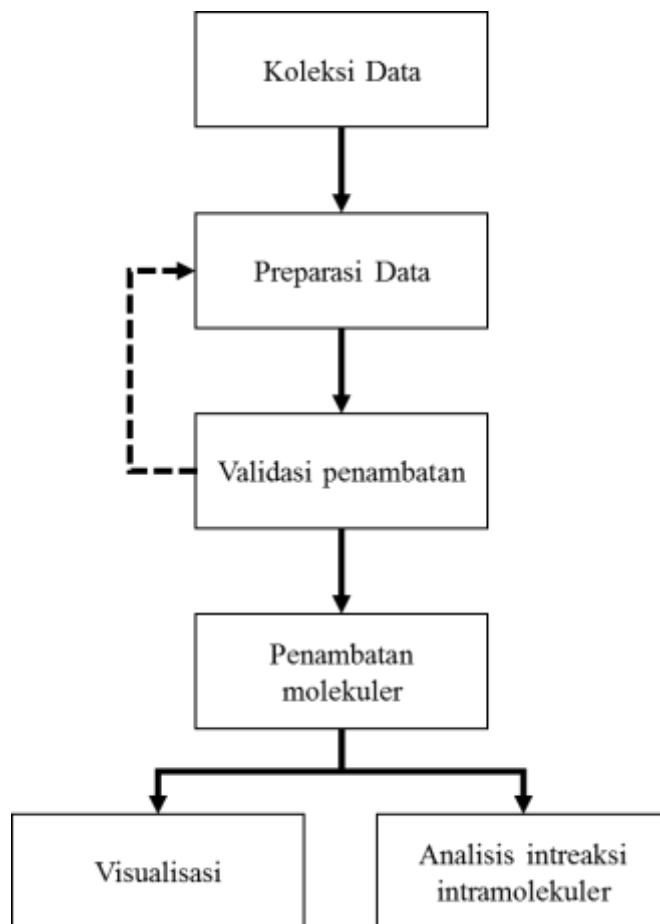
```
png NAME, width=1000,height=1000, dpi=300,ray=1
```

Parameter yang diamati adalah posisi ligan terhadap protein.

### 3.4.9. Analisis Interaksi intramolekuler

Model ligan, model inhibitor, dan data reseptor digabungkan menjadi 1 file dengan format PDB menggunakan PyMol. Interaksi intramolekuler kompleks inhibitor maupun ligan dianalisis dengan Protein-Ligand Interaction Profiler (PLIP) (Salentin *et al.*, 2015). Analisis terfokus pada 3 interaksi intramolekuler penting yaitu ikatan hidrogen, kontak, hidrofobik, dan jembatan garam. Data interaksi intramolekuler disimpan. Parameter yang diamati adalah jenis ikatan yang terbentuk, jumlah, dan asam-amino yang membentuknya

### 3.5. Alur Penelitian



Gambar 3. 1. Alur penelitian (Dokumentasi Pribadi, 2018)

**Satrio Haryo Benowo, 2018**

*ANALISIS BIOINFORMATIK SENYAWA ANTIKANKER PHYSALIN DARI EKSTRAK CIPLUKAN (Physalis angulata)*

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