

BAB IV

METODOLOGI PENELITIAN

4.1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksploratif. Penelitian dilakukan secara *in silico* dengan menggunakan beberapa *software* dan *online database*.

4.2. Waktu dan Tempat Penelitian

Waktu pelaksanaan penelitian ini adalah dalam kurun waktu 3 bulan (November-Januari 2023) bertempat di Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Malang.

4.3. Kriteria Inklusi

- a. Senyawa metabolit sekunder *Crocus sativus* yang memiliki kode SMILE.
- b. Senyawa metabolit yang memiliki aktivitas kemopreventif yang ditunjukkan pada *database PASS Online*.
- c. Senyawa metabolit yang memiliki nilai $P_a > 0.7$ yang ditunjukkan oleh *database PASS Online*.
- d. Protein Target Penyakit Kanker Lambung yang pada bagian 'disorder' terdapat kata '*gastric cancer*' di *database GeneCard*.
- e. Protein target *Crocus sativus* dengan *probability* >0 .

4.4. Bahan Penelitian

1. Data terkait senyawa metabolit sekunder *Crocus sativus*
2. Protein Target *Crocus sativus* yang diperoleh dari hasil prediksi aktivitas dengan *SwissTarget Prediction* (<http://swisstargetprediction.ch/>).
3. Protein target penyakit kanker lambung yang diperoleh dari pencarian dengan kata kunci '*gastric cancer*' pada situs *GeneCard* (<https://www.genecards.org/>)

4.5. Alat Penelitian

1. Perangkat Keras

Perangkat keras untuk penelitian ini menggunakan laptop Lenovo S20-30 dengan *Processor*, Intel® Celeron® N2840 RAM 2 GB DDR3

dengan sistem operasi Microsoft Windows 10 dengan peramban Google Chrome.

2. Perangkat Lunak

Perangkat lunak penelitian ini digunakan *Cytoscape* 3.8.2

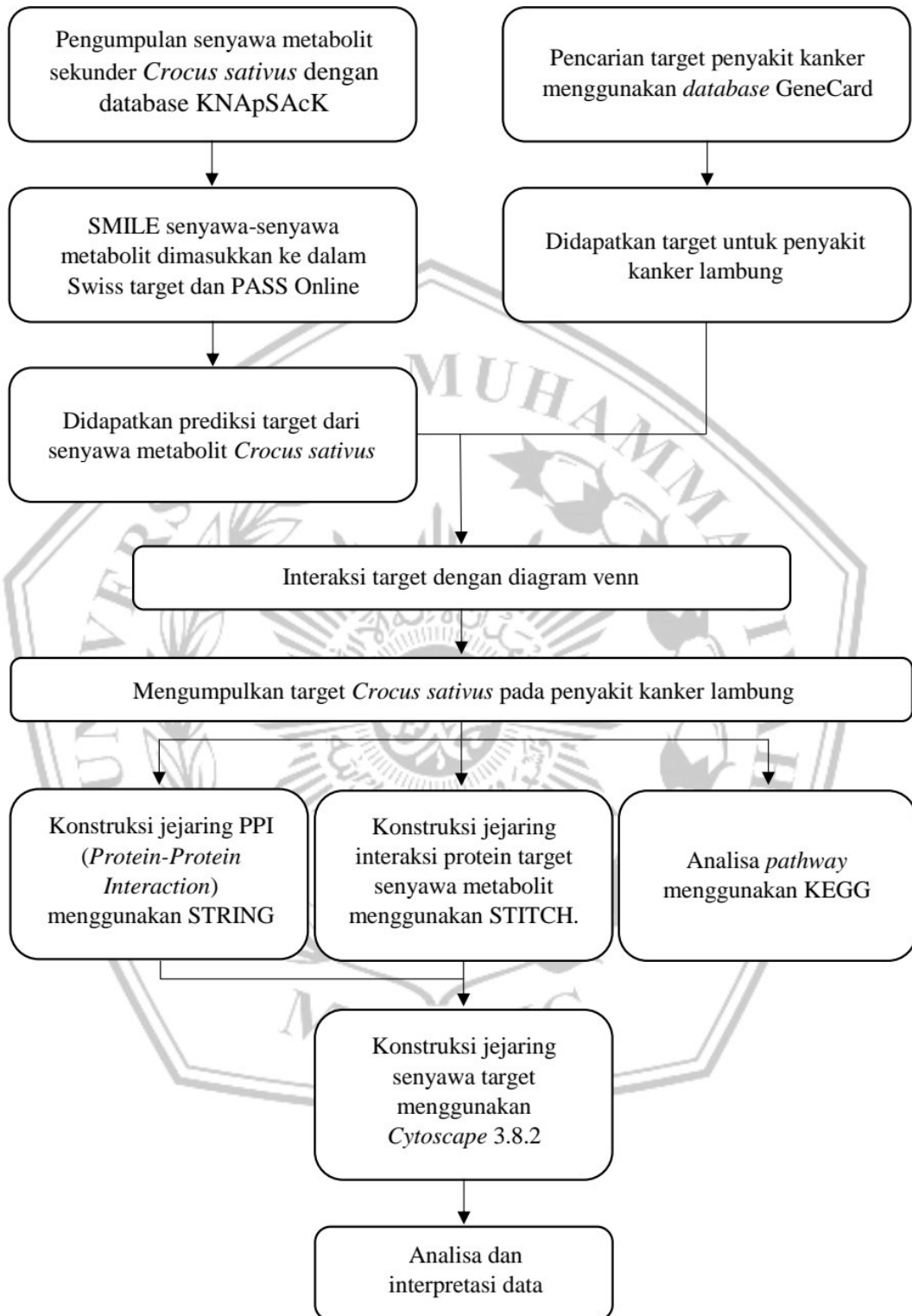
3. Database dan web server

Database dan web server untuk penelitian ini digunakan:

- 1) KNApSAcK (<http://www.knapsackfamily.com/>)
- 2) *Swiss Target* (<http://swisstargetprediction.ch/>)
- 3) *PassONLINE* (<http://www.way2drug.com/passonline/>)
- 4) STRING (<https://string-db.org/>)
- 5) STITCH (<http://stitch.embl.de>)
- 6) *GeneCard* (<https://www.genecards.org/>)
- 7) KEGG (<https://www.genome.jp/pathway/>)
- 8) *DiagramVenn* (<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>).



4.7. Kerangka Operasi Penelitian



Gambar 4 1 Kerangka Operasi Penelitian

4.8. Prosedur Penelitian

1) Pengumpulan data senyawa metabolit sekunder *Crocus sativus*

Dilakukan penelusuran senyawa metabolit dari *Crocus sativus* melalui website KNApSACk (<http://www.knapsackfamily.com/>). Selain itu, dilakukan pencarian informasi penunjang berupa hasil penelitian *in-vivo* terkait tanaman *Crocus sativus* pada artikel terpublikasi pada jurnal.

2) Prediksi Aktivitas Senyawa Metabolit *Crocus sativus*

Dilakukan prediksi aktivitas senyawa metabolit dengan database www.way2drug.com/passonline/ (Filimonov et al., 2014). Masuk ke opsi "Predict new compound". Dimasukkan tiap-tiap SMILES senyawa metabolit.

3) Prediksi target protein senyawa metabolit *Crocus sativus*

Dilakukan pencarian data target masing-masing senyawa. Digunakan database <http://swisstargetprediction.ch/>. Pilih spesies "Homosapiens", dan dimasukkan SMILES masing-masing senyawa metabolit. File diunduh.

4) Prediksi target penyakit kanker lambung

Dilakukan pencarian kanker lambung dapat diperoleh di GeneCard (<https://www.genecards.org/>) database. GeneSymbol untuk Kanker lambung diekspor, kemudian ditabulasi.

5) Pengumpulan Target Metabolit *Crocus sativus* terhadap penyakit kanker lambung.

Dibuat venn diagram menggunakan alat bantu web server (<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>). Dimasukkan file target senyawa metabolit *Crocus sativus* dan target kanker lambung. Data interseksi target metabolit *Crocus sativus* dan target kanker lambung diunduh.

6) Konstruksi jejaring PPI (*Protein-Protein Interaction*)

Data interaksi *Protein-Protein Interaction* (PPI) dimasukkan database STRING (*Search Tool for Recurring Instances of Neighboring Genes*)

<https://string-db.org/>. Digunakan menu *Multiple Protein*, spesies "*Homosapiens*". Dalam *database* STRING, batas skor kepercayaan yang digunakan > 0,4. Kemudian, unduh file.

- 7) Konstruksi jejaring interaksi antara protein target dan senyawa metabolit *Crocus sativus*

Data senyawa metabolit aktif dan protein target diimpor ke *web server* STITCH (<http://stitch.embl.de/>). Kemudian data diunduh. Perangkat lunak analisis jaringan *Cytoscape* (www.cytoscape.org ; versi 3.8.2) digunakan untuk memvisualisasikan.

- 8) Analisis KEGG *enrichment*

Dilakukan pencarian analisis sinyal transduksi masing-masing protein target *Crocus sativus* pada kanker lambung pada situs <https://www.genome.jp/pathway/>.

- 9) Visualisasi dan Analisis Data Menggunakan *Cytoscape*

Interaksi senyawa metabolit aktif dan gen target dari *web server* STITCH diimpor ke *Cytoscape* 3.8.2 sebagai nodus. Dilakukan analisa dengan opsi *Analyze Network*.