

BAB 3

PROSEDUR PENELITIAN

3.1. Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian yaitu penelitian deskriptif kuantitatif untuk mendeskripsikan hasil analisis *in silico* berupa interaksi antara senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman rambusa (*Passiflora foetida* L.) sebagai obat tradisional serta penelitian *pre-experimental design* berbasis komputasi secara *in silico* menggunakan metode *molecular docking* dari senyawa *5-Hydroxy-7,4'-dimethoxyflavone*, *Deidaclin*, *Linamarin*, *Volkenin*, *(1S,4S)-Tetraphyllin B*, *(S)-Tetraphyllin A*, dan *Passifloricin A* dengan reseptor *Alpha-glucosidase* (PDB ID: 7KBJ).

Pada penelitian ini, tahapan awal *in silico* yang dilakukan untuk prediksi protein target dilakukan studi literatur berdasarkan hasil penelitian. Selanjutnya dilakukan tahapan *molecular docking* sebagai berikut:

- 1) Pengunduhan konformasi 3 Dimensi senyawa alami yang diperoleh dari *database* PubChem (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)
- 2) Pengunduhan Makromolekul target penambatan (*docking*) dapat diperoleh dari diunduh dari situs penyedia PDB (<https://www.rcsb.org/>)
- 3) Preparasi *ligand* menggunakan *software* Discovery Studio Visualizer 2021 dan AutoDock Tools 1.5.7
- 4) Preparasi makromolekul target menggunakan *software* Discovery Studio Visualizer 2021 dan AutoDock Tools 1.5.7
- 5) Pembuatan *gridbox* menggunakan AutoDock Tools 1.5.7
- 6) Penambatan molekul (*molecular docking*) menggunakan program *AutoDock Vina*
- 7) Hasil penambatan divisualisasi menggunakan Discovery Studio Visualizer 2021.
- 8) Prediksi Fisikokimia untuk melihat layak atau tidak tumbuhan rambusa sebagai obat oral aktif diabetes.

- 9) Prediksi Farmakokinetik untuk melihat layak atau tidaknya tumbuhan rambusa bisa dijadikan obat dilihat dari aspek ADME (Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, dan Ekskresi).
- 10) Prediksi Toksisitas untuk memprediksi kemungkinan tingkat toksisitas dari senyawa yang terkandung dalam tumbuhan rambusa.
- 11) Menyimpulkan Tanaman rambusa dapat dijadikan kandidat antidiabetes atau tidak

3.2. Ruang Lingkup Penelitian (Fokus Penelitian)

Fokus penelitian yang akan dibahas di dalam penelitian ini dicantumkan untuk dijelaskan masalah sehingga tidak terjadi pembahasan yang meluas dan menyimpang. Adapun fokus penelitian yang akan dibahas yaitu:

- 1) Dilakukan studi literatur mengenai kandungan tanaman rambusa yang berpotensi sebagai pengobatan tradisional yakni pada pengobatan diabetes yang dipercayai oleh masyarakat.
- 2) Dilakukan studi biologi komputasi dengan membuat pemodelan visualisasi *molecular docking* interaksi senyawa bioaktif terhadap sisi pengikatan enzim disakaridase yang mampu mengobati penyakit diabetes.
- 3) Dilakukan pembuatan sumber belajar yang berisi mengenai kajian morfologi dan klasifikasi tanaman rambusa.

3.3. Sumber Data Penelitian

Sumber data penelitian dapat diperoleh dari hasil observasi, dokumentasi serta sumber pendukung lainnya. Sumber data yang telah didapatkan nantinya akan dikembangkan menjadi suatu informasi yang bermanfaat. Sumber data dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- 1) Sumber Data Primer

Sumber data primer adalah data yang diperoleh dan diberikan secara langsung oleh sumber kepada pengumpul data (Sugiyono, 2020). Data primer dalam penelitian ini diperoleh secara langsung oleh peneliti dari tempat objek penelitian pada saat penelitian dilaksanakan, baik secara individu maupun dengan bantuan kelompok dengan maksud menyelesaikan permasalahan

yang sedang diteliti. Data primer pada penelitian ini diperoleh hasil kajian biologi komputasi *in silico* dengan pemodelan *molecular docking*.

2) Sumber Data Sekunder

Sumber data sekunder adalah data yang diperoleh dan diberikan secara tidak langsung kepada pengumpul data, misalnya melalui orang lain atau dokumen (Sugiyono, 2016). Dalam penelitian ini, data sekunder berupa hasil identifikasi dan kajian morfologi dari literatur yang relevan, seperti jurnal hasil penelitian, buku dan dokumentasi. Data sekunder pada penelitian ini diperoleh melalui hasil penelitian *molecular docking* dari tanaman rambusa (*Passiflora foetida* L.) dengan implikasi lanjutan akan diperuntukkan sebagai penelitian lanjutan, dan *booklet*.

3.4. Langkah-langkah Penelitian

Langkah-langkah yang akan dilaksanakan dalam penelitian ini secara umum terbagi menjadi tiga tahapan, yakni:

3.4.1. Tahap Persiapan

Tahap persiapan penelitian ini, meliputi:

- 1) Survei ke tempat penelitian yakni Desa Bojong, Kecamatan Parigi, Kabupaten Pangandaran untuk mencari ide penelitian pada bulan 20 Januari 2022;
- 2) Mendapatkan Surat Keputusan Dekan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Siliwangi mengenai penetapan bimbingan skripsi pada 8 November 2022;
- 3) Studi pendahuluan ke tempat penelitian yakni Desa Bojong, Kecamatan Parigi, Kabupaten Pangandaran untuk menemukan permasalahan penelitian pada 5 November 2022;
- 4) Pengajuan judul ke Dewan Bimbingan Skripsi (DBS) pada tanggal 28 November 2022;
- 5) Pengajuan judul kembali ke Dosen Pembimbing dan Dewan Bimbingan Skripsi (DBS) pada tanggal 15 Mei 2023;
- 6) Penyusunan proposal penelitian bersama pembimbing I dan pembimbing II dari tanggal 29 November 2022 s.d. 15 Juni 2023.

- 7) Melaksanakan seminar proposal penelitian dan mendapatkan saran serta masukan mengenai proposal penelitian dan pelaksanaan penelitian pada tanggal 20 Juni 2023.
- 8) Memperbaiki dan berkonsultasi terkait proposal penelitian dengan dosen pembimbing I dan dosen pembimbing II dari tanggal 23 Juni s.d. 15 Agustus 2023.
- 9) Melakukan penelitian dan menyusun draft skripsi mulai dari tanggal 2 september s.d. 8 November 2023.

3.4.2. Tahap Pelaksanaan


Pelaksanaan pengambilan data dilakukan selama 15 hari, meliputi:

1) Tahap Persiapan Alat

Alat yang diperlukan dalam penelitian ini tersaji pada tabel 3.1. Sebagai berikut:

Tabel 3.1. Peralatan Penelitian

No	Alat	Gambar	Spesifikasi dan Kegunaan	Jumlah
1.	Smartphone		Merk OPPO Reno 4F untuk melakukan dokumentasi tanaman rambusa	1
2.	Alat tulis		Buku dan Alat Tulis Kantor sebagai peralatan untuk menuliskan hal-hal penting	1

			ketika penelitian	
3.	Laptop		Asus VivoBook yang dilengkapi <i>software Pyrx 0.8, USCF Chimera</i> , beserta program-program pendukung lainnya untuk keperluan studi biologi komputasi yakni <i>molecular docking</i>	1

2) Tahap Persiapan Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 7 kandungan senyawa aktif pada *Passiflora foetida* L. yang dapat dilihat pada Tabel 3.2. dan kontrol pembanding metformin yang bertindak sebagai ligan yang diperoleh datanya dari pkCSM dan pengunduhan strukturnya diperoleh dari PubChem, serta reseptor *Alpha-glucosidase* dengan PDB ID 7KBJ yang diperoleh dari Protein Data Bank.

Tabel 3.2. Penggolongan Senyawa Aktif *Passiflora foetida* L.

Nama Senyawa	Penggolongan
5-Hydroxy-7,4'-dimethoxyflavone	Flavonoid

Deidaclin	Glikosida Sianogenik
Linamarin	Glikosida Sianogenik
Volkenin	Glikosida Sianogenik
(1S,4S)-Tetraphyllin B	Glikosida Sianogenik
(S)-Tetraphyllin A	Glikosida Sianogenik
Passifloricin A	Cyclic Polyketides

Sumber: PubChem

3) Tahap Pencarian dan Pengunduhan Ligan

Pencarian ligan suatu senyawa yang terkandung dalam *Passiflora foetida* L. dapat dilakukan dengan cara menggunakan website KNApSAcK (http://www.knapsackfamily.com/knapsack_core/top.php) dengan langkah sebagai berikut:

- Akses alamat web KNApSAcK pada link berikut http://www.knapsackfamily.com/knapsack_core/top.php dengan tampilan pada Gambar 3.1. di bawah ini.

KNApSAcK Core System

Link to Top page:
http://www.knapsackfamily.com/knapsack_core/top.php

Incorporation to program:
http://www.knapsackfamily.com/knapsack_core/info.php?name={item}&word={keyword}
 Here, {item} must be selected from one of the following words; "organism", "metabolite", "formula", "C_ID", and "CAS_ID".

< Example 1 >
 Information on the metabolite assigned to C00000001 (a C_ID) can be retrieved by
http://www.knapsackfamily.com/knapsack_core/info.php?name=C_ID&word=C00000001

< Example 2 >
 The reported metabolites in Bacillus (an organism) can be retrieved by
http://www.knapsackfamily.com/knapsack_core/info.php?name=organism&word=bacillus

Words for organisms or metabolites can be retrieved by providing at least three characters that forward matches with their strings.

CAUTION: (C) Any content included in KNApSAcK database cannot be re-distributed or used for commercial purposes by any user without contacting with KNApSAcK DB group (skanyu[at]git.maist.jp).

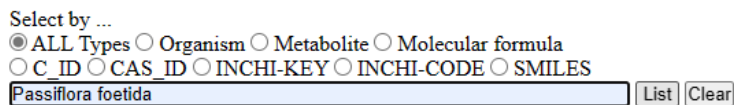
[Instruction Manual/Japanese](#) [Instruction Manual/English](#)

Select by ...
 ALL Types Organism Metabolite Molecular formula
 C_ID CAS_ID INCHI-KEY INCHI-CODE SMILES

last update 2023/10/17
 metabolite 63,725 entries
 metabolite-species pair 159,105 entries
 species 24,750 entries

Gambar 3.1. Tampilan Awal Website KNApSAcK

- Masukkan nama ilmiah dari tanaman yang akan dicari senyawanya pada kolom pencarian (Gambar 3.2.), misalkan *Passiflora foetida* L., setelah diketik nama ilmiahnya, klik tulisan list.



Gambar 3.2. Kolom pencarian senyawa di KNApSack

- c. Setelah itu akan muncul daftar senyawa aktif yang ada pada *Passiflora foetida* L. seperti pada Gambar 3.3. di bawah ini.

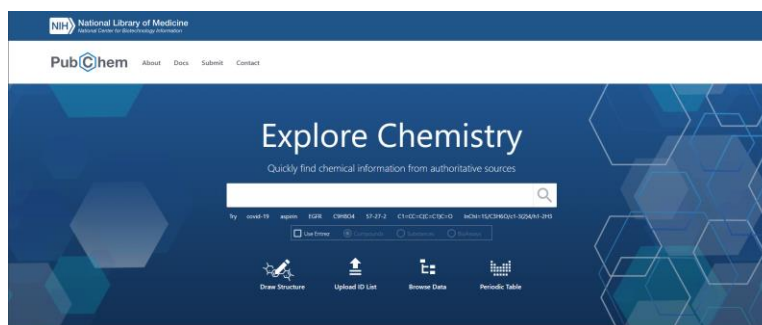
Pubchem ID	CAS ID	Name	Molecular formula	MW	Organism or InChIKey etc.
C00003124	5128-44-9	5-Hydroxy-7,4-dimethoxyflavone	C17H14O5	296.08412356	Passiflora foetida
C00001441	88024-26-4	Dedecalin	C12H17NO6	271.10508728	Passiflora foetida
C00001486	554-35-6	Limonene	C12H17NO6	247.10508728	Passiflora foetida L.
C00001959	66273-40-4	Valerenin	C12H17NO7	287.10509191	Passiflora foetida L.
C00003242	34253-07-4	(1R,4S)-tetrahylin B	C12H17NO7	287.10509191	Passiflora foetida L.
C00003922	34223-06-3	(3S)-tetrahylin A	C12H17NO6	271.10508728	Passiflora foetida L.
C00003252	348915-73-6	Tetrahylin A	C20H40O5	440.35517464	Passiflora foetida

Gambar 3.3. Tampilan hasil senyawa aktif *Passiflora foetida* L. di KNApSack

- d. Catatlah senyawa-senyawa tersebut untuk dilakukan pengunduhan berkas ligan melalui PubChem.

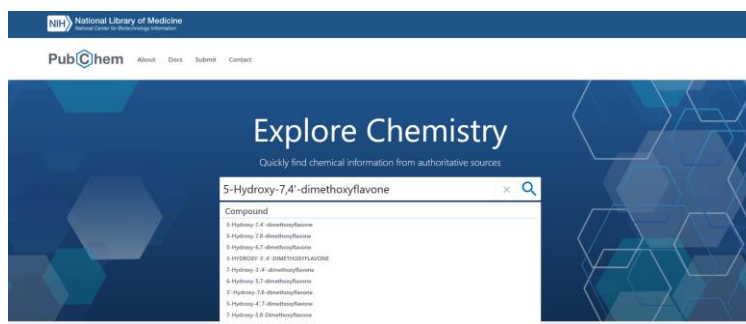
Setelah ligan dari senyawa tersebut ditemukan, langkah selanjutnya mengunduh berkas ligan melalui laman PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) dengan langkah-langkah sebagai berikut:

1. Langkah awal dengan mengakses website PubChem pada <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> seperti pada Gambar berikut:



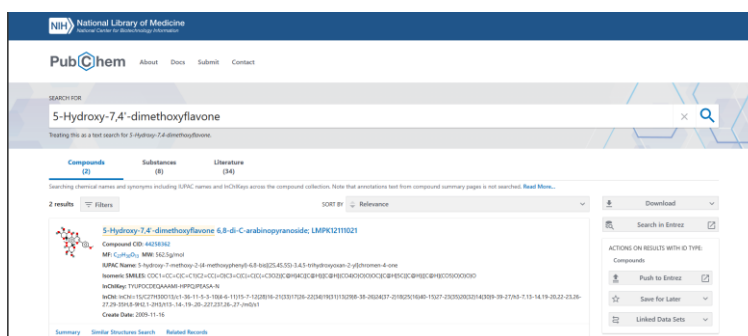
Gambar 3.4. Tampilan awal PubChem

2. Selanjutnya masukkan senyawa kimia yang dibutuhkan ditulis pada menu pencarian kemudian klik enter untuk memulai pencarian seperti gambar di bawah ini



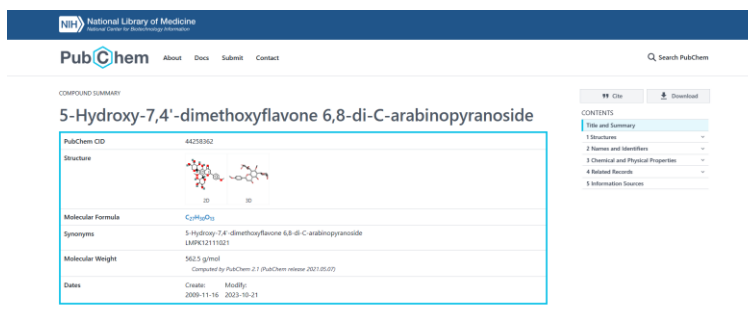
Gambar 3.5. Tampilan Pencarian

3. Hasil pencarian tersebut akan otomatis terbuka pada halaman web. Kemudian klik pada hasil yang paling memenuhi kebutuhan atau *best match* untuk membuka informasi secara lebih. Tampilan tersebut dapat dilihat pada gambar berikut:



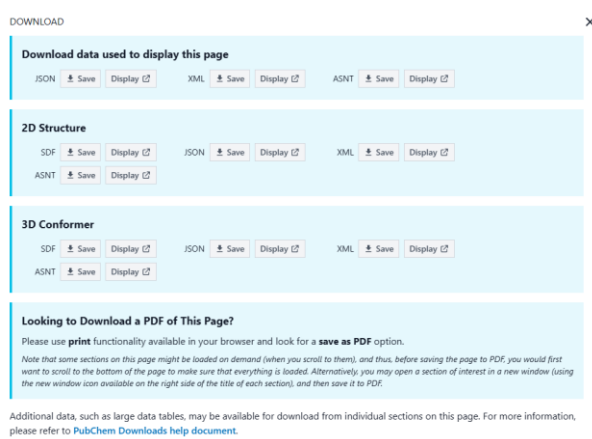
Gambar 3.6. Tampilan hasil pencarian ligan di PubChem

4. Setelah itu, halaman berisi data informasi yang lebih lengkap mengenai senyawa tersebut akan otomatis terbuka. Tampilan data informasi tersebut dapat dilihat pada gambar berikut.



Gambar 3.7. Tampilan hasil pencarian 5-Hydroxy-7,4'-dimethoxyflavone di PubChem

5. Kemudian lakukan pengunduhan struktur 3D dengan klik **Download** dan pilih **SDF Save** pada kolom content **3D Conformer** seperti pada gambar berikut ini.



Gambar 3.8. Tampilan pengunduhan *5-Hydroxy-7,4'-dimethoxyflavone* di PubChem

4) Tahap Pencarian dan Pengunduhan Reseptor

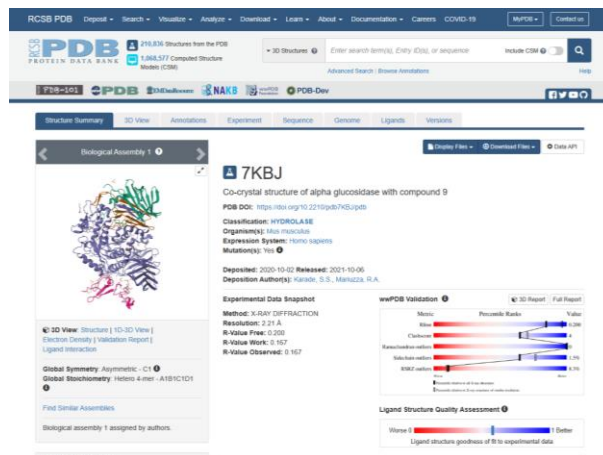
Pencarian reseptor dilakukan dengan cara studi literatur terhadap jurnal-jurnal yang sudah melakukan uji in silico menggunakan reseptor *Alpha-glucosidase* penyebab diabetes atau meningkatnya gula darah. Dari beberapa jurnal yang dibaca, dapat ditemukan bahwa reseptor *Alpha-glucosidase* tersebut dengan kode PDB ID 7KBJ. Kemudian, reseptor tersebut diunduh dalam bentuk pdb di lama RCSB PDB dengan langkah sebagai berikut:

- a. Akses laman website PDB di <https://www.rcsb.org/> seperti Gambar di bawah ini.



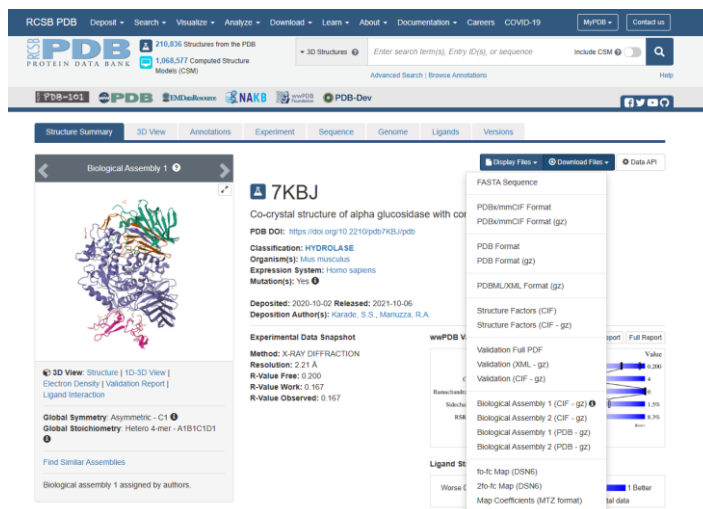
Gambar 3.9. Tampilan awal RSCB PDB

- b. Selanjutnya tuliskan nama protein reseptor pada kolom pencarian, misalkan **7KBJ** seperti pada gambar di bawah ini.



Gambar 3.10. Pencarian reseptor 7KBJ di RSCB

- c. Klik **Download Files** lalu pilih format **PDB Format**. Tampilan Download Files dapat dilihat pada gambar berikut ini.



Gambar 3.11. Tampilan download file reseptor 7KBJ di RCSB

5) Tahap preparasi Ligan dan Reseptor

Langkah awal yang dilakukan dalam melakukan preparasi ligan adalah membuka file ligan menggunakan Biovia Discovery Studio Visualizer 2021. Kemudian klik save as dan simpan file tersebut dengan nama “Ligan” dalam format .pdb (protein data bank).

Selanjutnya preparasi reseptor diawali dengan membuka file reseptor (7KBJ) di Biovia Discovery Studio Visualizer 2021. Kemudian klik **scripts**, lalu **selection**, lalu klik **select water molecules** dan klik tanda **X (hapus)**. Setelah itu klik **scripts**, lalu **selection**, lalu klik **ligand** dan klik tanda **X (hapus)**. Apabila sudah selesai, lakukan penyimpanan dengan cara save as dengan nama file “reseptor” dalam format .pdb (protein data bank).

Langkah selanjutnya yang harus dilakukan untuk preparasi ligan dan reseptor adalah membuka aplikasi Autodock Tools, kemudian lakukan langkah sebagai berikut:

1. Ligan

- a. Klik **Ligand** kemudian klik **Input** dan klik **Open** untuk membuka file **Ligan.pdb**
- b. Klik **Edit**, lalu **Hydrogen**, lalu klik **Add** dan **Polar Only**
- c. Klik **Ligand** kemudian klik **Torsioon Tree** dan **Detect Root**

- d. Klik **Ligand**, lalu klik **Torsion Tree** dan **Choose Torsion** (Klik pilihan “Make peptide backbone bonds non-rotatable”, “Make amide bonds rotatable” dan “Make all active bonds non-rotatable”)
- e. Klik **Ligand**, lalu **Output** dan klik **Save as** dengan format **.pdbqt** kemudian klik tanda O (tanda lingkaran merah).

2. Reseptor

- a. Klik **Grid**, lalu klik **Macromolecule**, lalu klik **Open** file **reseptor.pdb** dan simpan dengan cara klik **save as** dengan format **.pdbqt**
- b. Klik **Edit**, lalu **Hydrogen**, lalu klik **Add** dan **Polar Only**
- c. Klik **Edit**, lalu **Hydrogen**, dan **Merge Non Polar**
- d. Klik **Ligand**, lalu pilih **Input**, kemudian klik **Choose** lalu klik **Ligand** dan **Select Molecule for Autodock**

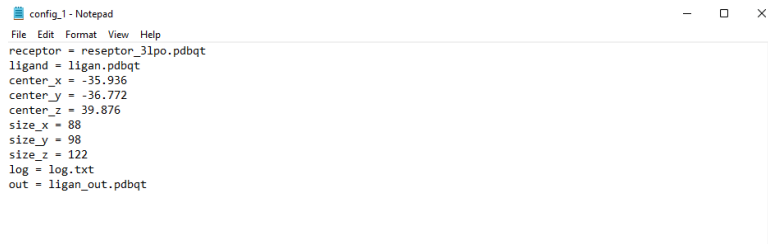
6) Tahap Penentuan Grid Box (Autogrid)

Penentuan grid box ini dilakukan untuk proses *docking*. Langkah menentukan grid box dengan cara klik **Grid** kemudian **Grid Box**. Selanjutnya, atur posisi grid box hingga menutupi ligan dan reseptor. Cara mengaturnya dengan mengatur **x center, y center, z center, size x, size y, dan size z**. Kemudian catat angka tersebut untuk dimasukkan ke dalam notepad.

7) Tahap pembuatan Notepad

Sebelum melakukan proses *docking*, maka dibutuhkan file notepad yang disimpan dalam bentuk **config.txt**. Langkahnya adalah sebagai berikut:

- a. Buka **Notepad**.
- b. Tuliskan ke dalam **Notepad** seperti Gambar 3.12. ini (ukuran grid box sesuai dengan ukuran yang sudah diatur di grid box sebelumnya)



Gambar 3.12. Tampilan notepad untuk *docking*

- c. Save As dengan nama file **config** dalam format **.txt**.
 - d. Tutup aplikasi **Autodock Tools** untuk melakukan proses *docking*.
- 8) Tahap Docking Ligan dan Reseptor

Langkah yang dilakukan untuk *docking* ligan dan reseptor adalah menggunakan perintah dari **Command Prompt** sebagai berikut:

- a. Buka **Command Prompt**. Tampilan Command Prompt dapat dilihat pada gambar 3.13.



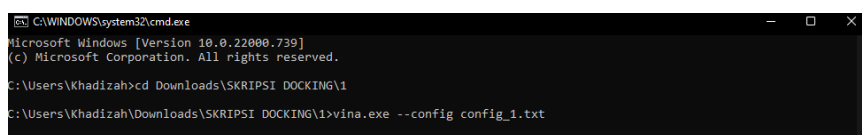
Gambar 3.13. Tampilan command prompt

- b. Masukkan perintah **cd (nama tempat penyimpanan file)** kemudian tekan **Enter**. Tampilan akan seperti Gambar 3.14. di bawah ini.



Gambar 3.14. Tampilan memasukkan perintah di command prompt

- c. Masukkan perintah **vina.exe --config config_1.txt** kemudian klik **Enter**. Pastikan tampilannya seperti Gambar 3.15. di bawah ini.



Gambar 3.15. Tampilan memasukkan kode untuk *docking*

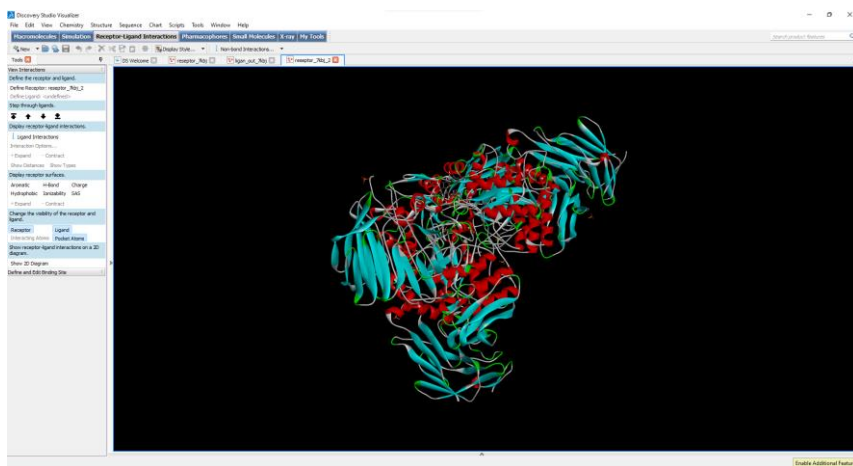
- d. Proses *docking* sudah selesai apabila sudah menunjukkan tampilan seperti pada Gambar 3.16. di bawah ini.

```
CAWINDOWS\system32\cmd.exe - vna.exe --config config_1.txt
Microsoft Windows [Version 10.0.22000.739]
(c) Microsoft Corporation. All rights reserved.

C:\Users\Khadizah>cd Downloads\SKRIPSI DOCKING\1
C:\Users\Khadizah\Downloads\SKRIPSI DOCKING\1>vina.exe --config config_1.txt
#####
# If you used AutoDock Vina in your work, please cite:
#
# O. Trott, A. J. Olson,
# AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking
# with a new scoring function, efficient optimization and
# multithreading, Journal of Computational Chemistry 31 (2010)
# 455-461
# DOI 10.1002/jcc.21334
# Please see http://vina.scripps.edu for more information.
#####
WARNING: The search space volume > 27000 Angstrom^3 (See FAQ)
Detected 8 CPUs
Reading input ... done.
Setting up the scoring function ... done.
```

Gambar 3.16. Tampilan proses *docking* di command prompt

- e. Buka file **reseptor.pdb** dan file **ligan_out.pdbqt** menggunakan Biovia Discovery Studio Visualizer 2021. Lalu *copy* file **ligan_out.pdbqt** ke file **reseptor.pdb** seperti Gambar 3.17. di bawah ini.

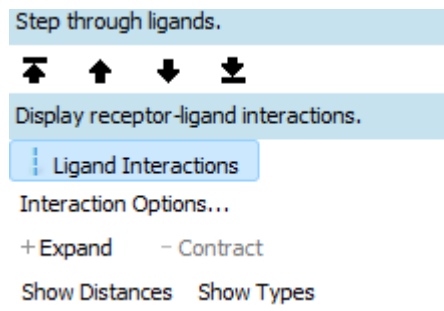


Gambar 3.17. Tampilan copy ligan ke reseptor di Discovery Studio Visualizer 2021

9) Tahap Visualisasi Hasil *Docking*

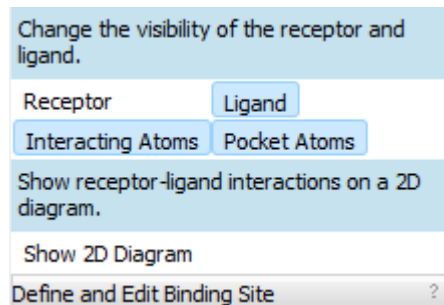
Langkah terakhir yang dilakukan adalah visualisasi hasil *docking* menggunakan aplikasi Biovia Discovery Studio Visualizer 2021 sebagai berikut:

- a. Pilih **Ligand Interactions** seperti pada Gambar



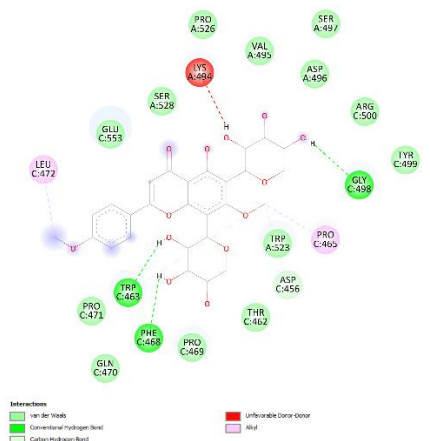
Gambar 3.18. Menu *Ligand Interactions* di Biovia Discovery Studio Visualizer 2021

b. Kemudian klik **Show 2D Diagram** seperti pada Gambar



Gambar 3.19. Menu Show 2D Diagram di Biovia Discovery Studio Visualizer 2021

c. Visualisasi hasil *docking* sudah selesai. Tampilannya akan seperti pada Gambar

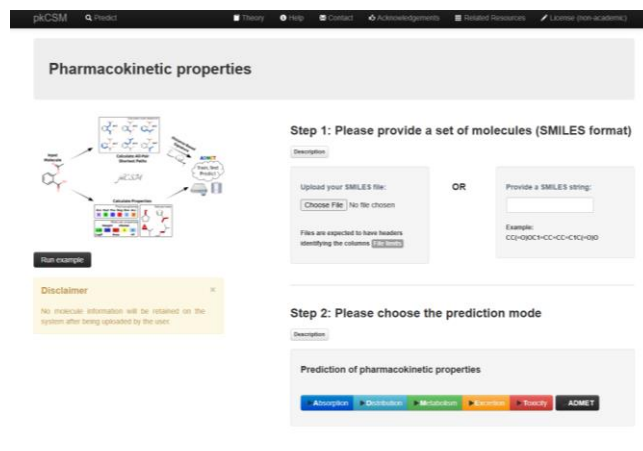


Gambar 3.20. Tampilan hasil visualisasi 2D di Biovia Discovery Studio Visualizer 2021

10) Tahap Prediksi Fisikokimia dan Farmakokinetik (ADME)

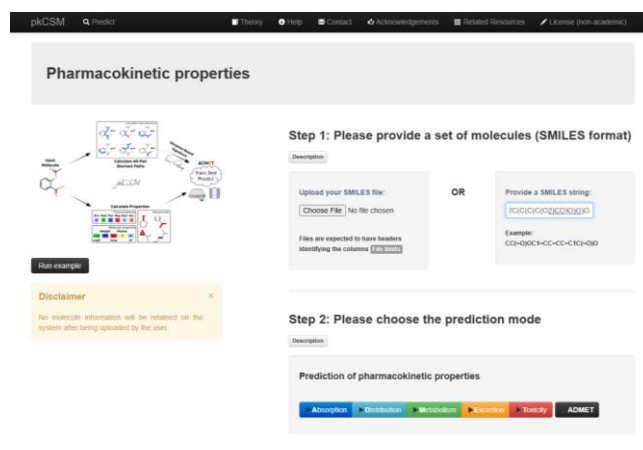
Prediksi fisikokimia dan farmakokinetik dari senyawa aktif *Passiflora foetida* L. dilakukan menggunakan web pkCSM dengan langkah sebagai berikut:

- a. Akses laman website pkCSM di <http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsm/prediction> seperti pada Gambar di bawah ini.



Gambar 3.21. Tampilan awal pkCSM

- b. Unggah file SMILE atau salin kode SMILE senyawa yang diinginkan yang sudah didapatkan dari PubChem seperti Gambar 3.22. berikut ini.



Gambar 3.22. Tampilan kolom kode SMILE di pkCSM

- c. Klik mode prediksi yang kamu inginkan, misalkan klik **ADMET**, maka akan muncul tampilan seperti Gambar 3.23. berikut ini.

Pharmacokinetic Properties

Molecule Depiction

Molecule properties:

Descriptor	Value
Molecular Weight	271.269
LogP	-1.58472
#Rotatable Bonds	3
#Acceptors	7
#Donors	4
Surface Area	109.849

Property	Model Name	Predicted Value	Unit
Water solubility		-2.214	Numeric (log mol/L)
Caco2 permeability		-8.109	Numeric (log Papp in 10 ¹¹ cm/s)
Intestinal absorption (human)		45.894	Numeric (% Absorbed)
Skin Permeability		-2.246	Numeric (log Kp)
P-glycoprotein substrate		No	Categorical (Yes/No)
P-glycoprotein I inhibitor		No	Categorical (Yes/No)
P-glycoprotein II inhibitor		Running	Categorical (Yes/No)
VDss (human)		Running	Numeric (log L/kg)
Fraction unbound (human)		Running	Numeric (f_u)
BBB permeability		Running	Numeric (log BBB)
CNS permeability		Running	Numeric (log PS)
CYP2D6 substrate		Running	Categorical (Yes/No)
CYP3A4 substrate		Running	Categorical (Yes/No)
CYP1A2 inhibitor		Running	Categorical (Yes/No)
CYP2C19 inhibitor		Running	Categorical (Yes/No)
CYP2C9 inhibitor		Running	Categorical (Yes/No)
CYP2D6 inhibitor		Running	Categorical (Yes/No)

Gambar 3.23. Tampilan hasil pencarian SMILE di pkCSM

- d. Scroll ke bawah untuk melihat **Molecule properties** (Gambar 3.24.) pada prediksi fisikokimia. Kemudian catat hasil *molecule properties* tersebut untuk dijadikan perbandingan dengan senyawa aktif lainnya. Untuk prediksi farmakokinetik dapat dilihat pada parameter sebelah kanan yang sudah ditentukan sebelumnya.

Molecule properties:

Descriptor	Value
Molecular Weight	271.269
LogP	-1.58472
#Rotatable Bonds	3
#Acceptors	7
#Donors	4
Surface Area	109.849

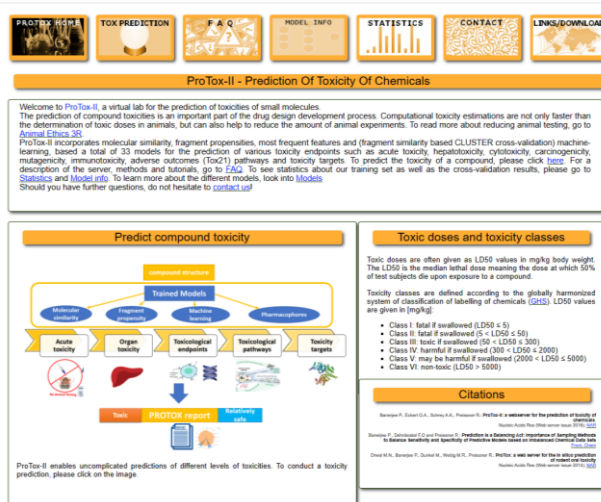
Skin Permeability		-2.246	Numeric (log Kp)
P-glycoprotein substrate		No	Categorical (Yes/No)
P-glycoprotein I inhibitor		No	Categorical (Yes/No)
P-glycoprotein II inhibitor		No	Categorical (Yes/No)
VDss (human)		-8.104	Numeric (log L/kg)
Fraction unbound (human)		0.8	Numeric (f_u)
BBB permeability		-2.865	Numeric (log BBB)
CNS permeability		-2.687	Numeric (log PS)
CYP2D6 substrate		No	Categorical (Yes/No)
CYP3A4 substrate		No	Categorical (Yes/No)
CYP1A2 inhibitor		No	Categorical (Yes/No)
CYP2C19 inhibitor		No	Categorical (Yes/No)
CYP2C9 inhibitor		No	Categorical (Yes/No)
CYP2D6 inhibitor		Running	Categorical (Yes/No)
CYP3A4 inhibitor		Running	Categorical (Yes/No)
Total Clearance		Running	Numeric (log ml/min/kg)
Renal OCT2 substrate		Running	Categorical (Yes/No)
AMES toxicity		Running	Categorical (Yes/No)
Max. tolerated dose (human)		Running	Numeric (log mg/kg/day)
NERG I inhibitor		Running	Categorical (Yes/No)
NERG II inhibitor		Running	Categorical (Yes/No)
Oral Rat Acute Toxicity (LD50)		Running	Numeric (mg/kg)
Oral Rat Chronic Toxicity (LGAEL)		Running	Numeric (log mg/kg_bodyday)
Hepatotoxicity		Running	Categorical (Yes/No)

Gambar 3.24. Tampilan molecule properties di pkCSM

11) Tahap Prediksi Toksisitas

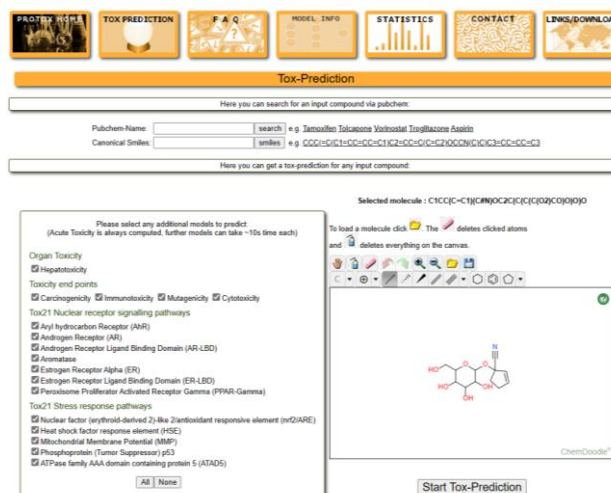
Prediksi toksisitas dilakukan dengan menggunakan server web ProTox dengan langkah sebagai berikut:

- a. Akses website ProTox di laman https://tox-new.charite.de/protox_II/index.php?site=home seperti pada Gambar 3.25. di bawah ini.



Gambar 3.25. Tampilan awal ProTox

- b. Klik **Tox Prediction** untuk melakukan prediksi toksisitas dan akan muncul tampilan seperti pada Gambar 3.26.



Gambar 3.26. Tampilan tox prediction di ProTox

- c. Masukkan nama senyawa yang didapat di PubChem atau kode SMILES misalkan *metformin* di kolom pencarian seperti Gambar 3.27. lalu tekan search.

Tox-Prediction

Here you can search for an input compound via pubchem:

Pubchem-Name: search e.g. Tamoxifen Telcapone Vorinostat Troglitazone Aspirin
 Canonical Smiles: smiles e.g. CCC(=C(C1=CC=CC=C1)C2=CC=C(C=C2)OCCN(C)C)C3=CC=CC=C3

Here you can get a tox-prediction for any input compound:

Gambar 3.27. Kolom pencarian di ProTox

- d. Klik **Start Tox-Prediction** (Gambar 3.28.) untuk memulai melakukan prediksi toksisitas.

Selected molecule : CN(C)C(-N)N-C(N)N

Please select any additional models to predict:
(Acute Toxicity is always computed, further models can take ~10s time each)

Organ Toxicity

Hepatotoxicity

Toxicity end points

Carcinogenicity Immunotoxicity Mutagenicity Cytotoxicity

Tox21 Nuclear receptor signalling pathways

Aryl hydrocarbon Receptor (AHR)

Androgen Receptor (AR)

Androgen Receptor Ligand Binding Domain (AR-LBD)

Aromatase

Estrogen Receptor Alpha (ER)

Estrogen Receptor Ligand Binding Domain (ER-LBD)

Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma (PPAR-Gamma)

Tox21 Stress response pathways

Nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2/antioxidant responsive element (nr2/ARE)


Heat shock factor response element (HSE)

Mitochondrial Membrane Potential (MMP)

Phosphoprotein (Tumor Suppressor) p53

ATPase family AAA-domain containing protein 5 (ATAD5)

To load a molecule click . The deletes clicked atoms and deletes everything on the canvas.



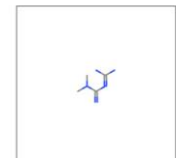
ChemDoodle[®]

Gambar 3.28. Tampilan senyawa yang akan dilakukan prediksi toksisitas

- e. Dalam hitungan detik, Tox Prediction akan langsung mengeluarkan hasil dari prediksi toksisitasnya. Scroll ke bawah untuk melihat hasilnya seperti pada Gambar 3.29.

Toxicity Model Computation
Model computation will take a while (estimated 60 seconds). If you want to close this window, you can get your results later with this link: [Access results \(please copy the location\)](#)

Oral toxicity prediction results for input compound



Predicted LD50: 680mg/kg

Predicted Toxicity Class: 4

Average similarity: 49.12%

Prediction accuracy: 54.26%

Name	CN(C)C(-N)N-C(N)N
Molecular Weight	129.16
Number of hydrogen bond acceptors	16
Number of hydrogen bond donors	3
Number of atoms	20
Number of bonds	19
Number of rotatable bonds	2
Molecular refractivity	36.93
Topological Polar Surface Area	91.49
octanol/water partition coefficient(logP)	0.26

Comparison of input compound with dataset compounds

Gambar 3.29. Hasil prediksi toksisitas di ProTox

3.5. Teknik Pengumpulan Data

Macam-macam Teknik Pengumpulan Data

Beberapa teknik pengumpulan data yang dilakukan penulis dalam penelitian ini yakni observasi, wawancara, studi dokumen, studi biologi komputasi, dan studi literatur.

3.5.1. Observasi

Teknik pengumpulan data yang digunakan dalam penelitian ini yakni observasi yang merupakan kegiatan proses pengamatan dan pencatatan sehingga memudahkan peneliti untuk mendapatkan informasi tentang permasalahan yang sedang diteliti (H. Hasanah, 2017). Adapun jenis observasi yang digunakan dalam penelitian ini yakni observasi partisipatif. Menurut Sugiyono (2016) ketika peneliti melakukan observasi partisipatif maka akan terlibat dengan kegiatan sehari-hari terkait orang yang menjadi objek sumber data penelitian yang akan digali. Adapun dalam studi pendahuluan peneliti melakukan observasi partisipatif pasif karena hanya melakukan proses pengamatan tanpa terlibat dalam kegiatan narasumber sedangkan pada proses penelitian langsung di lapangannya peneliti akan melakukan observasi partisipasi aktif karena melakukan proses pengamatan dengan melibatkan diri dalam kegiatan narasumber meskipun tidak akan sepenuhnya lengkap.

3.5.2. Studi Biologi Komputasi

Teknik pengumpulan data yang digunakan peneliti yakni studi biologi komputasi atau teknik *in silico* yang digunakan untuk menggambarkan eksperimen yang dilakukan dengan bantuan komputer, salah satunya yakni dengan *molecular docking* dengan menggunakan *database* dan *software* diantaranya *database* molekul PubChem, *database* protein target PDB, serta *software* penambatan yakni *AutoDock Tools*, *AutoDock Vina*, *Discovery Studio*, *UCSF Chimera*, dan *LigPlus+* untuk mengetahui interaksi antara suatu senyawa dengan molekul target atau reseptor yang nantinya interaksi senyawa dengan reseptornya dapat divisualisasikan (Istyastono, 2015).

3.5.3. Studi Literatur

Teknik pengumpulan data yang digunakan peneliti yakni studi literatur atau studi pustaka. Menurut Zed (2003) bahwa studi pustaka merupakan serangkaian kegiatan pengumpulan data pustaka berupa data sekunder artinya data didapatkan dari tangan kedua dengan cara membaca, mencatat dan mengolahnya dalam Supriyadi (2017). Adapun studi pustaka yang utama dalam penelitian ini yakni mencari potensi kandungan senyawa bioaktif rambusa terhadap pengobatan penyakit-penyakit yang dipercayai oleh masyarakat Desa Bojong.

3.5.4. Uji Keabsahan Data

Uji keabsahan data bertujuan sebagai pembuktian peneliti terhadap penelitiannya apakah benar-benar dilakukan dan bersifat ilmiah atau tidak. Adapun data-data kualitatif yang telah diperoleh dari lapangan perlu diuji keabsahan datanya, menurut Sugiyono (2016) uji keabsahan data dalam penelitian kualitatif meliputi uji *credibility* (validitas internal), uji *transferability* (validitas eksternal), uji *dependability* (reliabilitas) dan uji *confirmability* (objektivitas).

3.5.4.1. Uji *credibility* (Validitas Internal)

Pada penelitian kualitatif, dalam menguji keabsahan data yang telah dikumpulkan yakni dengan mengecek datanya kredibel atau tidak. Apabila data yang dilaporkan peneliti sama atau sesuai dengan apa yang sesungguhnya terjadi pada objek yang diteliti di lapangan maka dapat dinyatakan kredibel (Mekarisce, 2020). Menurut (Sugiyono, 2016) bahwa uji kredibilitas data dapat dilakukan dengan perpanjangan pengamatan, peningkatan ketekunan, triangulasi, diskusi dengan teman sejawat, analisis kasus negatif dan *member-check*. Adapun dalam penelitian ini, uji kredibilitas data yang digunakan adalah triangulasi yang merupakan suatu pendekatan analisis atau kegiatan pengecekan data yang mensintesis data melalui berbagai sumber, teknik, dan waktu, yang bertujuan untuk meningkatkan kekuatan teoritis, metodologis, maupun interpretatif dari penelitian kualitatif (Mekarisce, 2020).

Menurut (Sugiyono, 2016) bahwa ada tiga jenis teknik triangulasi yakni:

1. Triangulasi Sumber

Triangulasi sumber dapat dilakukan dengan cara mengecek data yang telah diperoleh melalui beberapa sumber. Adapun dalam penelitian ini data yang diperoleh dari hasil wawancara mengenai pemanfaatan tumbuhan rambusa sebagai obat diabetes, observasi dan dokumentasi mengenai pemanfaatan serta tumbuhan rambusa sebagai obat diabetes di Desa Bojong, Parigi, Pangandaran, dilakukan pengecekan dengan melakukan studi literatur.

2. Triangulasi Teknik

Triangulasi teknik dapat dilakukan dengan cara mengecek data kepada sumber yang sama dengan teknik yang berbeda. Adapun dalam penelitian

ini data yang diperoleh dalam wawancara dilakukan pengecekan dengan observasi dan dokumentasi, dan hasil pengecekan antara keduanya sejalan dan saling melengkapi.

3. Triangulasi Waktu

Pengambilan data di lapangan harus disesuaikan dengan kondisi narasumber karena akan mempengaruhi kredibilitas data. Adapun dalam penelitian ini peneliti mengambil data disesuaikan dengan waktu ketersediaan narasumber, wawancara kepada informan mengenai pemanfaatan serta tumbuhan rambusa sebagai obat diabetes di Desa Bojong, Parigi, Pangandaran dilakukan pada siang hari setelah informan mempunyai waktu luang yakni sepulang bekerja.

3.5.4.2. Uji *transferability* (Validitas Eksternal)

Uji *transferability* merupakan validitas eksternal jika dalam penelitian kuantitatif yang merupakan derajat ketepatan atau dapat diterapkannya hasil penelitian ke populasi dimana sampel tersebut diambil. Pada kualitatif adalah derajat ketepatan atau dapat diterapkannya hasil penelitian pada konteks dan situasi sosial yang lain, adapun nilai transferabilitas tergantung pada pembaca apabila pembaca memperoleh gambaran dan pemahaman jelas tentang laporan penelitian (konteks dan fokus penelitian) (Mekarisce, 2020; Sugiyono, 2016) Sehingga ketika peneliti menyusun skripsi hasil penelitian, dan hasil penelitian dapat diuraikan secara jelas dan sistematis, serta pembaca dapat memutuskan untuk menerapkan hasil penelitian ini pada situasi sosial lain, maka penelitian ini memiliki nilai transferabilitas yang baik.

3.5.4.3. Uji *dependability* (reliabilitas)

Uji *dependability* merupakan reliabilitas jika dalam penelitian kuantitatif. Pengujian *dependability* dilakukan dengan cara melakukan audit terhadap keseluruhan proses penelitian, hasil penelitiannya dapat dikatakan dependable jika peneliti dapat membuktikan bahwa telah dilakukannya rangkaian proses penelitian secara nyata (Mekarisce, 2020; Sugiyono, 2016). Adapun uji *dependability* dalam penelitian ini salah satunya dilakukan oleh dosen pembimbing dengan memeriksa rekam jejak penelitian selama penelitian berlangsung.

3.5.4.4. Uji *confirmability* (objektivitas)

Uji *confirmability* merupakan uji objektivitas dalam penelitian jika dalam penelitian kuantitatif. Jika penelitian tersebut disepakati oleh banyak orang maka bisa dikatakan obyektif. Konfirmabilitas dalam penelitian kualitatif lebih diartikan sebagai konsep intersubjektivitas (konsep transparansi), yakni bentuk ketersediaan peneliti dalam mengungkapkan kepada publik mengenai bagaimana proses dan elemen-elemen dalam penelitiannya, yang selanjutnya memberikan kesempatan kepada pihak lain untuk melakukan assessment/penilaian hasil temuannya sekaligus memperoleh persetujuan antara pihak tersebut (Mekarisce, 2020; Sugiyono, 2016). Adapun uji *confirmability* dalam penelitian ini, bahwa peneliti mampu mempertanggung jawabkan penelitiannya pada ujian sidang, sehingga penelitian dapat dianggap memenuhi *standart confirmability*.

3.6. Teknik Analisis Data

Analisis data kualitatif dilakukan sebelum memasuki lapangan, selama di lapangan dan setelah selesai di lapangan (Sugiyono, 2016). Adapun analisis data yang digunakan dalam penelitian ini diawali dengan data hasil studi pendahuluan dan hasil studi literatur yang digunakan peneliti untuk menentukan fokus penelitian. Afinitas senyawa aktif dari *Passiflora foetida* L. (rambusa) terhadap reseptor target PDB ID 7KBJ akan diukur berdasarkan perbandingan energi afinitas, RMSD (*Root Mean Square Deviation*) dan interaksi ligan dengan protein targetnya (Purwaniati, 2020)

Menurut Hartanto et al., (2014), untuk analisis data prediksi fisikokimia akan menggunakan 5 paramete (*Lipinski rule of five*) yaitu terdiri dari berat massa molekul (BM)<500, Logaritma koefisien partisi octanol (LogP)<5, hydrogen bond donor (HBD)<5, hydrogen bond acceptor (HBD)<10, dan kesalaham/*violation* <2. Menurut Pires et al., (2015) untuk data hasil farmakokinetik akan dianalisis secara deskriptif dengan mendeskripsikan nilai senyawa aktif pada web pkCSM sesuai dengan indikator ADME (*Absorption, Distribution, Metabolism, dan Excretion*). Sedangkan hasil analisis data untuk mengukut tingkat toksisitas menggunakan Protox Online Tool yaitu dilihat dari nilai LD50 dan nilai toksisitasnya serta

parameter *ames toxicity* dan *hepatotoxicity* menggunakan pkCSM Online Tool kemudian data yang dihasilkan akan dianalisis secara deskriptif.

Selanjutnya, dilakukan penelitian ke lapangan untuk pengumpulan data sekaligus menganalisis data tersebut yang prosesnya dilakukan secara terus menerus hingga data yang dikumpulkan sudah jenuh, adapun aktivitas analisis data di lapangan menurut model Miles and Huberman (Sugiyono, 2016), yaitu:

3.6.1. Reduksi Data

Reduksi data merupakan tahap proses perangkuman data dengan memilih dan memfokuskan hal-hal pokok dan penting, untuk mencari tema dan polanya. Data utama yang diperlukan dalam penelitian ini yakni pemanfaatan tanaman rambusa oleh masyarakat Desa Bojong yang dipercaya sebagai pengobatan tradisional yakni obat diabetes, dan data hasil studi biologi komputasi.

Data hasil studi biologi komputasi diperoleh menggunakan *software Discovery Studio, UCSF Chimera, dan LigPlus+*. untuk melihat pose pengikatan, *site* pengikatan, dan afinitas pengikatan Data hasil studi biologi komputasi tersebut perlu direduksi atau dibatasi supaya tidak meluas.

3.6.2. Penyajian Data

Penyajian data dilakukan setelah data direduksi, dengan menyajikan data dalam bentuk flowchart, gambar, tabel dan uraian yang bersifat naratif.

3.6.3. Penarikan Kesimpulan/Verifikasi

Penarikan kesimpulan atau verifikasi dilakukan dalam penelitian kualitatif yakni setelah semua tahap analisis data selesai dan hasil temuannya bersifat baru dan belum pernah ada sebelumnya yang didukung oleh bukti-bukti yang valid dan konsisten sehingga dapat mengemukakan kesimpulan yang kredibel.

3.7. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Botani, Jurusan Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Siliwangi. Adapun waktu penelitian ini dapat dilihat padad tabel 2 berikut.

Tabel 3.3. Jadwal Kegiatan Pelaksanaan Penelitian

No	Nama Kegiatan	2022		2023												
		Nov	Des	Jan	Feb	Mar	Apr	Mei	Jun	Jul	Agu	Sep	Okt	Nov	Des	
1.	Mendapatkan SK dari Dekan FKIP															
2.	Pengajuan dan Persetujuan Judul Proposal															
3.	Penyusunan dan bimbingan Proposal															
4.	Seminar proposal penelitian															
5.	Revisi proposal penelitian															
6.	Observasi lapangan															
7.	Pengambilan data ke lapangan															
8.	Pengolahan data															

9.	Submit artikel																	
10.	Seminar hasil penelitian																	
11.	Revisi hasil penelitian																	
12.	Sidang skripsi																	

Sumber: Data Pribadi