

BAB 3

PROSEDUR PENELITIAN

3.1. Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah kualitatif deskriptif secara *in silico* dengan metode *molecular docking*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui interaksi antara senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam daun sirsak (*Annona muricata* L.), yaitu golongan senyawa flavonoid dan alkaloid, dengan reseptor GPR120 sebagai kandidat potensi antidiabetes. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah senyawa metabolit sekunder daun sirsak (*Annona muricata* L.) yang memiliki potensi sebagai kandidat antidiabetes berdasarkan kajian literatur. Pengujian *in silico* dilakukan menggunakan aplikasi PyRx dan Biovia Discovery Studio Visualizer 2024.

3.2. Ruang Lingkup Penelitian (Fokus Penelitian)

Dalam penelitian ini, ruang lingkup yang dibahas meliputi beberapa aspek penting. Pertama, penelitian ini menggunakan metode analisis *in silico*, yaitu pendekatan komputasi untuk memodelkan interaksi molekuler antara senyawa aktif dalam daun sirsak (*Annona muricata* L.), seperti golongan flavonoid dan alkaloid, dengan reseptor protein target yaitu GPR120. Reseptor ini berperan dalam regulasi metabolisme glukosa dan lipid, serta diketahui memiliki potensi sebagai target terapi dalam pengobatan diabetes. Fokus utama dalam penelitian ini yaitu untuk mengevaluasi kemampuan senyawa bioaktif daun sirsak (*Annona muricata* L.) dalam menghambat aktivitas diabetes melalui uji *molecular docking*. Selain itu, penelitian ini juga membahas terkait potensi daun sirsak (*Annona muricata* L.) yang dapat dijadikan sebagai sumber belajar biologi, khususnya dalam kajian bioinformatika dan pengembangan obat alami. Integrasi penelitian ini ke dalam materi pembelajaran bertujuan untuk meningkatkan pemahaman siswa terhadap persiapan biologi molekuler dan teknologi komputasi dalam bidang kesehatan, khususnya pengobatan berbasis tanaman.

3.3. Sumber Data Penelitian

Sumber data utama dalam penelitian ini adalah senyawa metabolit sekunder yang ditemukan dalam tanaman sirsak (*Annona muricata* L.) yang berpotensi sebagai antidiabetes. Proses *in silico* dilakukan terlebih dahulu untuk memodelkan dan mempelajari interaksi antara senyawa aktif dengan reseptor protein target. Tahapan berikutnya mencari senyawa-senyawa yang digunakan untuk molecular docking yang diambil dari situs PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Sedangkan, untuk mendapatkan struktur reseptor protein target, data diunduh dari situs RCSB PDB (<https://www.rcsb.org/>).

3.4. Langkah-langkah Penelitian

3.4.1. Tahap Persiapan

Adapun tahapan persiapan yang dilakukan dalam pelaksanaan penelitian ini, diantaranya:

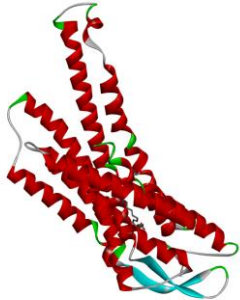
- 1) Memperoleh Surat Keputusan Dekan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan (FKIP) Universitas Siliwangi terkait penetapan bimbingan skripsi pada September 2024.
- 2) Mengajukan judul penelitian kepada Dosen Pembimbing I, Dosen Pembimbing II, dan Dewan Bimbingan Skripsi (DBS) pada September 2024.
- 3) Menyusun proposal penelitian dan melaksanakan bimbingan secara berkala bersama Dosen Pembimbing I dan Dosen Pembimbing II pada bulan September – November 2024.
- 4) Mengajukan permohonan seminar proposal penelitian kepada Dewan Bimbingan Skripsi pada bulan November 2024.
- 5) Melaksanakan seminar proposal penelitian pada bulan November 2024.
- 6) Melakukan perbaikan proposal melalui bimbingan dan konsultasi dengan Dosen Pembimbing I dan Dosen Pembimbing II pada bulan November – Desember 2024.
- 7) Mempersiapkan penelitian pada bulan Desember 2024.

3.4.2. Tahap Pelaksanaan

3.4.2.1. Alat dan Bahan

Tabel 3. 1. Alat dan Bahan

No.	Alat dan Bahan	Spesifikasi dan Kegunaan	Jumlah	Gambar
1.	<i>Handphone</i>	Samsung A53 5G yang digunakan sebagai penunjang untuk keperluan dokumentasi selama dilakukan penelitian.	1 buah	
2.	Laptop	Merk LENOVO S340 dengan spesifikasi sebagai berikut menggunakan processor AMD Ryzen 3 3200U with Radeon Vega Mobile Gfx 2.60 GHz, dengan installed RAM 8 GB, system type 64-bit operating system, x64-based processor, Windows 11. Digunakan sebagai alat untuk melakukan analisis <i>molecular docking</i> .	1 Buah	
3.	Senyawa alami	Golongan senyawa yang terkandung dalam daun sirsak (<i>Annona muricata</i> L.) yang digunakan sebagai bahan (ligan) untuk analisis <i>in silico</i> dengan <i>molecular docking</i> . Senyawa flavonoid digunakan sebagai kandidat yang berpotensi sebagai antidiabetes, dengan rincian sebagai	10 Buah	

No.	Alat dan Bahan	Spesifikasi dan Kegunaan	Jumlah	Gambar
		berikut isoquercetin, kaempferol, quercetin, dan rutin. Selain golongan flavonoid, penelitian ini juga menggunakan senyawa metabolit sekunder golongan alkaloid sebagai ligan uji, diantaranya anonaine, coclaurine, isolaureline, norcorydine, reticuline, dan xylopine. Struktur 3D nya didapatkan dari <i>webserver</i> PubChem.		
4.	<i>G-Protein Receptor 120 (GPR120)</i>	Protein yang dimodelkan dengan menggunakan <i>web server</i> SWISS-MODEL sebagai reseptor diabetes yang menjadi fokus penelitian dan akan diuji dengan senyawa target.	1 Buah	
5.	<i>Biovia Discover Studio Visualizer 2024</i>	Menggunakan versi 2024, dimana sebagai <i>software</i> yang digunakan untuk preparasi protein serta memvisualisasikan hasil <i>molecular docking</i> untuk melihat interaksi antara ligan dan protein target baik secara 3D ataupun 2D untuk melihat residu asam amino	1 Buah	

No.	Alat dan Bahan	Spesifikasi dan Kegunaan	Jumlah	Gambar
		dari ikatan yang dihasilkan.		
6.	PyRx	Software yang digunakan untuk melakukan <i>molecular docking</i> .	1 buah	

Tabel 3. 2. Website yang digunakan untuk penelitian

No.	Website	Kegunaan	URL
1.	RCSB PDB	Untuk mencari dan mengunduh data protein target yang digunakan	https://www.rcsb.org/
2.	PubChem	Untuk mencari dan mengunduh struktur 3D dari senyawa (ligan) yang digunakan.	https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/
3.	NCBI	Untuk mendapatkan FASTA dari protein yang digunakan untuk dijadikan model 3D protein target.	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/
4.	Swiss-MODEL	Untuk memodelkan struktur 3D dari protein yang digunakan berbasis data FASTA yang didapatkan dari situs NCBI	https://swissmodel.expasy.org/
5.	SAVES	Untuk memvalidasi struktur 3D dari protein yang digunakan dengan indikator ERRAT dan Ramachandrat Plot.	https://saves.mbi.ucla.edu/
7.	pkCSM	Untuk menghitung deskriptor fisikokimia serta	https://biosig.lab.uq.edu.au/pkcsml/

No.	Website	Kegunaan	URL
		memprediksi parameter ADME (Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Ekskresi) dari beberapa molekul kecil untuk mendukung penemuan obat.	
8.	Protox-II	Untuk memprediksi toksisitas senyawa berdasarkan struktur kimianya.	https://tox.charite.de/protox3/

Website yang digunakan antara lain PDB, Swiss Model, SAVES, Swiss ADME, Protox-II version 3.0 online tools, pkCSM dan ProteinPlus.

3.4.2.2. Tahapan Pencarian dan Pengunduhan Ligan

Berdasarkan artikel acuan mengenai ligan yang digunakan untuk penelitian ini, ligan yang akan diuji selanjutnya dicari melalui basis data PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Setelah menemukan ligan target yang akan diuji, ligan diunduh dalam format 3D Conformer dengan format .sdf. Rincian lebih lanjut mengenai tahapan proses ini dapat dilihat pada Lampiran 1.

3.4.2.3. Tahapan Pencarian dan Pengunduhan Reseptor

Tahapan ini melibatkan pencarian dan pengunduhan reseptor GPR120 yang dikenal juga sebagai FFAR4, dimana meliputi pencarian format berbasis teks yang digunakan untuk mewakili urutan nukleotida atau urutan asam amino (protein) GPR120 yang diunduh melalui *web server* NCBI dengan melakukan pencarian menggunakan kata kunci “GPR120”, sebelum mengunduh harus dipastikan terlebih dahulu bahwa organisme dari protein target pada NCBI merupakan *Homo sapiens*, kemudian mengunduh dokumen dengan format FASTA yang akan digunakan untuk langkah berikutnya. Rincian lebih lanjut mengenai tahapan proses ini dapat dilihat pada Lampiran 2.

3.4.2.4. Pemodelan dan Validasi Reseptor

Setelah mendapatkan dokumen FASTA dari protein target (FFAR4), kemudian dilakukan pemodelan 3D GPR120 menggunakan webserver SWISS-MODEL (<https://swissmodel.expasy.org/>). Hal yang dilakukan yaitu dengan menginput dokumen FASTA ke webserver tersebut, kemudian melakukan pemodelan menggunakan fitur “Build Model”. Setelah itu kemudian ditunggu beberapa saat hingga terbentuk struktur 3D dari protein target, biasanya memerlukan waktu 5-15 menit, biasanya akan terbentuk beberapa model. Dari beberapa model yang disajikan dapat dipilih model yang memiliki Seq Identity tertinggi. Setelah dilakukan pemodelan dan mendapatkan model 3D dari protein target, dilakukan validasi struktur model dengan menggunakan webserver SAVES (<https://saves.mbi.ucla.edu/>) yang merupakan perangkat komprehensif dan memiliki lima alat (ERRAT, VERIFY3D, PROVE, PROCHECK, dan WHAT CHECK) untuk memprediksi berbagai parameter stereokimia dari struktur protein. Rincian lebih lanjut mengenai tahapan proses ini dapat dilihat pada Lampiran 3.

3.4.2.5. Tahap Preparasi Ligan dan Reseptor

Dalam tahap ini, ligan dan reseptor dipersiapkan untuk penelitian *in silico*. Ligan dipilih dan diunduh dari basis data PubChem. Sedangkan, struktur 3D reseptor yang telah dibuat pada webserver SWISS-MODEL akan dipreparasi menggunakan perangkat lunak Discovery Studio untuk menghilangkan *native ligand* serta hal-hal lain yang tidak dibutuhkan dan ada di dalam model protein target untuk mendapatkan reseptor yang bersih. Rincian lebih lanjut mengenai tahapan proses ini dapat dilihat pada Lampiran 4.

3.4.2.6. Tahap Docking Ligan dengan Reseptor

Setelah persiapan ligan dan reseptor, tahap berikutnya adalah melakukan docking ligan dengan reseptor. Menggunakan perangkat lunak PyRx, di mana tahapannya mencakup penambahan ligan dan reseptor yang digunakan. Kemudian, ukuran dan Lokasi grid box disesuaikan untuk memaksimalkan proses docking. Setelah itu, proses docking dijalankan dengan mensimulasikan interaksi antara ligan dan reseptor untuk menemukan konformasi terbaik dengan energi pengikatan

terendah. Rincian lebih lanjut mengenai tahapan proses ini dapat dilihat pada Lampiran 5.

3.4.2.7. Tahap Visualisasi Hasil Docking

Setelah docking selesai, langkah berikutnya adalah visualisasi hasil docking. Pertama, hasil docking dianalisis untuk melihat skor energi pengikatan dan pose ligan yang dihasilkan. Perangkat lunak Biovia Discovery Studio Visualizer 2024 digunakan untuk memvisualisasikan interaksi antara ligan dan reseptor. Interaksi ini mencakup ikatan hidrogen, ikatan hidrofobik, dan ikatan lainnya yang mungkin terjadi antara ligan dan situs aktif reseptor. Dengan visualisasi, peneliti dapat memahami ligan yang berkaitan dengan reseptor dan mengidentifikasi residu-residu penting yang terlibat dalam interaksi. Setelah melakukan visualisasi interaksi dalam perangkat lunak Biovia Discovery Studio Visualizer 2024, kemudian struktur ikatan disimpan dalam perangkat. Rincian lebih lanjut mengenai proses ini dapat dilihat pada Lampiran 6.

3.4.2.8. Tahap Analisis Fisikokimia dan Farmakokinetik

Tahapan analisis fisikokimia dan farmakokinetik menggunakan pkCSM yang melibatkan beberapa langkah. Pertama, struktur kimia senyawa yang akan diuji dimasukkan ke dalam platform pkCSM dalam format SMILES dari ligan yang dituju. Setelah data diinput, pkCSM akan menganalisis sifat fisikokimia senyawa tersebut, termasuk parameter seperti molekul massa, logP, dan daya hanyut. Selain itu, pkCSM juga memprediksi profil farmakokinetik senyawa, termasuk penyerapan gastrointestinal, distribusi, metabolisme, dan ekskresi (ADME). Hasil ini akan membantu untuk memahami bagaimana senyawa tersebut akan berfungsi dalam tubuh dan potensi efek sampingnya. Rincian lebih lanjut mengenai proses ini dapat dilihat pada Lampiran 7.

3.4.2.9. Tahap Prediksi Toksisitas

Dalam prediksi toksisitas, digunakan web server yaitu Protox-II versi 3.0 yang melibatkan beberapa langkah. Pertama, struktur kimia senyawa yang akan diuji dimasukkan ke platform Protox II baik dengan mengunggah format SMILES. Setelah data diinput, Protox-II memproses dan melakukan analisis menggunakan algoritma. Hasil prediksi akan mencakup parameter toksisitas eksperimental. Hasil

prediksi akan mencakup parameter toksisitas seperti LD50, kelas toksisitas, efek organ spesifik, dan potensi efek samping lainnya. Rincian lebih lanjut mengenai proses ini dapat dilihat pada Lampiran 8.

3.4.3. Tahap Akhir

- 1) Mengolah data yang diperoleh dari penelitian *in silico*;
- 2) Menyusun hasil penelitian, pembahasan, simpulan, dan saran untuk skripsi, serta melaksanakan bimbingan dengan Dosen Pembimbing I dan Dosen Pembimbing II;
- 3) Mengajukan permohonan untuk seminar hasil kepada DBS;
- 4) Melaksanakan seminar hasil penelitian;
- 5) Memperbaiki dan berkonsultasi mengenai skripsi berdasarkan seminar hasil bersama Dosen Pembimbing I dan Dosen Pembimbing II;
- 6) Mengajukan permohonan ujian skripsi kepada Sekretaris Jurusan;
- 7) Melaksanakan ujian skripsi dan pengumuman kelulusan;
- 8) Menyempurnakan skripsi sesuai hasil ujian skripsi dan berkonsultasi dengan Dosen Pembimbing I dan Dosen Pembimbing II;
- 9) Mencetak skripsi yang telah selesai.

3.5. Teknik pengumpulan Data

Metode pengumpulan data dalam penelitian kualitatif, menurut (Sugiyono, 2020) meliputi observasi, wawancara, dokumentasi, serta kombinasi dari berbagai teknik pengumpulan data (triangulasi). Pada penelitian ini, teknik yang digunakan adalah dokumentasi, yang mencakup studi literatur, analisis artikel ilmiah, serta penyaringan informasi melalui situs *website* ilmiah dan basis data terpercaya. Dokumen di sini merujuk pada catatan peristiwa yang telah terjadi, yang dapat berupa teks, gambar, karya monumen, atau tulisan akademik (Sugiyono, 2020). Pada penelitian ini dokumen yang digunakan merujuk pada catatan atau informasi yang telah ada, baik dalam bentuk teks akademik, jurnal ilmiah, maupun data digital seperti struktur senyawa yang valid dan telah terakurasi. *Website* yang digunakan dalam penelitian ini merupakan situs yang umumnya digunakan dalam penelitian

in silico karena menyajikan data yang telah terverifikasi dan terstandar secara ilmiah.

3.6. Teknik Analisis Data

Pada penelitian ini, data yang dikumpulkan berupa hasil *molecular docking*, prediksi farmakokinetik, dan prediksi toksisitas dari senyawa aktif dari daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap protein target yaitu *G-Protein Receptor* (GPR120) yang diukur berdasarkan nilai energi afinitas, ikatan yang terbentuk, dan kesamaan residu asam amino. Data tersebut dihasilkan melalui serangkaian simulasi yang melibatkan penggunaan perangkat lunak dan sumber daya berbasis *web tools* untuk menganalisis interaksi molekul dengan target protein GPR120. Secara umum, model analisis yang digunakan dalam penelitian kualitatif adalah metode analisis data interaktif yang dicetuskan oleh Miles dan Huberman dalam (Sugiyono, 2020) aktivitas dalam analisis data kualitatif terdiri dari 3 tahap, yaitu *data reduction*, *data display*, dan *conclusion drawing/verification*.

3.6.1. Reduksi data

Data yang diperoleh dicatat secara teliti dan rinci yang kemudian direduksi. Mereduksi data berarti merangkum dan memfokuskan pada hal-hal yang terpenting (Sugiyono, 2020). Dalam penelitian ini, data hasil studi biologi komputasi diperoleh melalui *software Discovery Studio* serta PyRx. Kemudian untuk data terkait prediksi fitokimia dan farmakokinetik didapatkan melalui pkCSM, Protox-II untuk prediksi toksisitas. Dari beberapa data hasil studi biologi komputasi yang didapatkan, kemudian perlu direduksi supaya tidak meluas.

3.6.2. Display data (Penyajian data)

Setelah data direduksi kemudian disajikan dalam bentuk tabel, grafik, pictogram dan lain sebagainya. Namun, menurut Miles dan Huberman (1984) dalam (Sugiyono, 2020) yang paling sering digunakan untuk menyajikan data dalam penelitian kualitatif merupakan teks yang bersifat naratif. Penyajian data yang dilakukan oleh peneliti dalam penelitian ini merupakan penjelasan deskriptif yang disajikan dalam bentuk tabel, gambar dan uraian yang bersifat naratif.

3.6.3. Penarikan kesimpulan dan verifikasi.

Kesimpulan awal yang belum dikemukakan bersifat sementara dan akan mengalami perubahan apabila tidak ditemukan bukti kuat yang mendukung pada tahap pengumpulan data berikutnya. Menurut Sugiyono (2020) kesimpulan dalam penelitian kualitatif dapat mungkin dapat menjawab rumusan masalah yang dirancang sejak awal, tetapi mungkin juga tidak, karena masalah dan rumusan masalah dalam penelitian kualitatif masih bersifat sementara dan akan berkembang setelah penelitian berada di lapangan. Pada penarikan kesimpulan, peneliti akan menyimpulkan hasil dari penyajian data yang sudah dilakukan.

3.7. Waktu dan Tempat Penelitian

Waktu dan tempat penelitian ini dimulai pada bulan Desember 2024 sampai bulan Januari 2025 di Laboratorium Botani, Jurusan Pendidikan Biologi, Universitas Siliwangi.