

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1 Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian prediksi interaksi METTL-10 dengan reseptornya sebagai marker kanker pankreas menggunakan analisis in-siliko dilakukan di Laboratorium Bioinformatika, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya Malang pada bulan April-Juli 2017.

#### **3.2 Bahan dan Alat Penelitian**

##### **3.2.1 Bahan penelitian**

Bahan pemodelan molekul yang digunakan merupakan struktur 3D dari METTL-10 (*Methyltransferase Like Protein 10*) yang telah dimodelkan dengan menggunakan *Swiss Model* dan reseptornya dengan *Protein Data Bank Identity (PDB ID)*: 1T5Y (NIP7), 1Y97 (TREX2), 4C0S (EEF1A1), 4IEJ (DMAP1), 1E8O (SRP9), 4LEC (METTL21A), 4LG1 (METTL21D), serta struktur 3D dari METTL-20, TREX1, METTL7B dan ZNF468 yang dimodelkan dengan menggunakan *Swiss Model*. Selain itu digunakan *Chimera 1.11.2*, *Discovery Studio 2016*, *LigPlus<sup>+</sup>* dan *web server Docking* berupa *Patchdock*, *Firedock*, *pyDockWeb*.

##### **3.2.2 Alat Penelitian**

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *Personal Computer (PC)* dengan spesifikasi *processor* inter core 2 duo 1.8 GHz dengan RAM 2.00 GB serta ditunjang oleh Sistem Operasi *Windows 7* 64-bit.

#### **3.3 Tahapan Penelitian**

Tahapan-tahapan penelitian ini meliputi:

1. Penentuan *pathway* dari METTL-10
2. Preparasi protein METTL-10
3. Preparasi seluruh reseptor yang berbentuk protein
4. Optimasi Geometri dan minimisasi energi METTL-10 dan seluruh reseptor yang berbentuk protein
5. *Molecular Docking*: Seluruh reseptor terhadap protein METTL-10

6. Analisis *Molecular Docking*
  - a. Analisis energi bebas Gibbs dan konstanta inhibisi
  - b. Kontak residu dan ikatan hidrogen
  - c. Analisis statistika

### 3.4 **Prosedur Penelitian**

#### 3.4.1 **Penentuan *pathway* dari METTL-10**

Penentuan *pathway* dari METTL-10 dilakukan dengan cara pencarian *pathway* melalui koneksi internet. Pencarian *pathway* dilakukan melalui situs <https://string-db.org> dengan menggunakan perangkat computer yang terhubung dengan internet. Dimaksudkan kata kunci "*Methyltransferase Like Protein 10*" dengan organisme yang dipilih adalah *Homo sapiens*. Setelah *pathway* dari METTL-10 telah ditentukan, reseptor yang berhubungan dengan METTL-10 dipreparasi.

#### 3.4.2 **Preparasi protein METTL-10**

Preparasi protein METTL-10 dengan cara pencarian struktur dari protein METTL-10 melalui internet. Struktur protein METTL-10 dalam format PDB (*Protein Data Bank*) dibuat melalui situs <https://swissmodel.expasy.org/> untuk membentuk model protein METTL-10 yang menggunakan sekuen yang didapatkan melalui situs <http://www.uniprot.org/>. Sekuen yang didapatkan dalam format FASTA, kemudian *sequence* tersebut di-copy dan *paste* pada swissmodel. Setelah proses *modelling* berlangsung, *file* dalam format *.pdb* disimpan dalam folder.

#### 3.4.3 **Preparasi protein reseptor**

Preparasi reseptor yang telah didapat melalui *pathway* dengan cara pencarian struktur reseptor melalui internet. Preparasi struktur reseptor dalam format PDB (*Protein Data Bank*) dilakukan melalui situs [www.rcsb.org/pdb/](http://www.rcsb.org/pdb/) dengan menggunakan perangkat computer yang terhubung dengan internet. Format data yang dicari berupa *.pdb file*. *File* *.pdb* yang digunakan adalah harus memiliki informasi dan sekuen dari reseptor yang akan digunakan. Setelah diperoleh semua *file* yang berisi reseptor-reseptor, semua *file* *.pdb* tersebut diletakkan dalam satu folder.

### 3.4.4 Optimasi geometri dan minimisasi energi METTL-10 dan seluruh reseptor yang berbentuk protein

Optimasi geometri dan minimisasi energi pada METTL-10 dan seluruh reseptor dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak Discovery Studio 2016. *Database* yang berisikan METTL-10 dan seluruh reseptor dimuat dengan cara *open file*. Kemudian dilakukan pembersihan molekul air pada tiap *database* pada menu *script* kemudian *selection*, dipilih *select water molecule* kemudian *delete* untuk menghilangkan molekul air. Pada tiap protein yang terdapat ligan-ligan pengganggu yang perlu dibersihkan, dilakukan pembersihan melalui menu *script* kemudian *selection*, dipilih *select ligand* kemudian *delete*. Setelah semua *database* bersih, *file* disimpan dengan format *.pdb* dengan penamaan yang baru dan dijadikan menjadi 1 *file* yang baru.

### 3.5 *Molecular Docking*: METTL-10 dengan reseptor-reseptornya

*Molecular Docking* antara METTL-10 dengan reseptor-reseptornya dilakukan secara satu per satu untuk melihat perbandingan hasil *Docking* tiap reseptornya. *Docking* dilakukan dengan menggunakan *webserver Docking* karena interaksi yang terjadi adalah antara protein dengan protein yang memiliki jumlah molekul yang sangat besar. *Webserver* dilakukan melalui internet dengan terhubung ke situs <https://bioinfo3d.cs.tau.ac.il/PatchDock/> (*Patchdock*) dan <https://life.bsc.es/servlet/pydock/home/> (*pyDockWeb*). Kemudian setelah terhubung, dimasukkan *file* reseptor dan ligan (METTL-10) yang akan di-*Docking*-kan pada kolom yang tersedia. *File* yang didapat berupa *.pdb* beserta hasil energi yang terhitung pada tiap model yang memungkinkan.

### 3.6 Analisis *Molecular Docking*

Sebelum data hasil *Docking* dianalisis, terlebih dahulu dari data yang ada dilakukan analisis secara deskriptif sehingga akan tersaji data yang lebih mudah dipahami dan untuk analisis selanjutnya seperti analisis energi bebas Gibbs, konstanta inhibisi, ikatan hidrogen, dan uji F dapat dilakukan dengan baik.

### 3.6.1 Analisis Energi Bebas Gibbs ( $\Delta G$ ) dan konstanta inhibisi (Ki)

Dari hasil *Molecular Docking* didapatkan data berupa tabel yang berisikan nilai  $\Delta G$  yang nantinya akan dihitung nilai konstanta inhibisi (Ki) berdasarkan nilai  $\Delta G$ . Rumus yang digunakan adalah: [28]

$$Ki = e^{\Delta G/RT}$$

Ki	: Konstanta Inhibisi
$\Delta G^0$	: Energi bebas Gibbs (S) (kal/mol)
R	: 1,978 kal/mol.K
T	: 309 K (pada darah manusia)

### 3.6.2 Kontak Residu dan Ikatan Hidrogen

Kontak residu dan ikatan hidrogen yang dianalisis merupakan model *docking* yang terjadi antara kompleks protein-protein terbaik. Analisis dilakukan melalui data yang telah didapatkan dari *webservice docking*. Berdasarkan data yang telah diperoleh, dilakukan analisis ikatan ligan yang berinteraksi dengan menganalisis *ligand 2D* dan *ligan interaction*, pada kompleks protein-protein.