

Identifikasi Variasi dan Ekspresi Gen yang Berhubungan Dengan Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS) Menggunakan Pendekatan Bioinformatika

Diah Kurniasih^{1*}, Dwiki Fitri², Wahyu Rahmatulloh³, Muh Husnul Khuluq⁴

^{1,2,3,4}Prodi Farmasi Program Sarjana/Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Gombong

*Email: diahkrsh@gmail.com

Kata Kunci:

ALS, bioinformatika, database, genetika

Abstrak

Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS) merupakan penyakit neurodegeneratif yang menyerang sistem saraf pusat dan menyebabkan gangguan pada fungsi motorik. Kondisi tersebut bersifat progresif dan fatal, ditandai dengan adanya degenerasi neuron motorik yang mengakibatkan kelemahan otot hingga kelumpuhan total. Dengan mengidentifikasi variasi genetic terkait dengan penyakit tersebut untuk menentukan kerentanan dengan menggunakan database. Metode yang digunakan dalam penelitian yaitu menggunakan pendekatan bioinformatika dengan memanfaatkan database katalog GWAS, HaploReg V4.2, GTEx portal dan ensembl genome. Hasil penelitian ini diperoleh 354 SNP pada katalog GWAS dan yang memenuhi kriteria $p\text{-value } 1 \times 10^{-8}$ diperoleh 51 SNP hanya 4 SNP yang tervalidasi kriteria missense diantaranya rs80265967, rs75087725, rs113247976, dan rs8141797, dengan gencode SOD1, KIF5A, C21ORF, dan SUS2. Lalu Analisis eQTLs menggunakan database GTEx mengungkapkan bahwa variasi genetika tertentu, seperti alel minor pada SOD1, KIF5A, dan SUS2 yang memiliki hubungan dengan ekspresi gen yang berbeda di berbagai jaringan terkait ALS termasuk otak, otot rangka, esofagus, dan paru-paru. Frekuensi alel terkait yang lebih tinggi yaitu pada (A) rs80265967, (C) rs75087725, (C) rs113247976 dan (A) rs8141797, populasi pada Benua Afrika dan Asia Timur jauh lebih tinggi dibandingkan pada populasi Benua Amerika, Eropa dan Asia Selatan.

Identification of Variations and Gene Expression Related to Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS) Using a Bioinformatics Approach

Keyword:

ALS, bioinformatic, database, genetic

Abstract

Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS) is a neurodegenerative disease that affects the central nervous system and causes impairment in motor function. This condition is progressive and fatal, signed by the degeneration of motor neurons, which leads to muscle weakness and eventually total paralysis. By identifying genetic variations associated with the disease is essential to determine susceptibility, which can be achieved using public genomic databases. The method is used in this study is a bioinformatics approach by utilizing the GWAS Catalog, HaploReg v4.2, GTEx Portal, and Ensembl Genome databases. This research identified 354 SNPs from the GWAS Catalog, of which 51

SNPs met the genome-wide significance threshold ($p\text{-value} \leq 1 \times 10^{-8}$). Among them, only 4 SNPs met the missense variant criteria: rs80265967, rs75087725, rs113247976, and rs8141797, associated with the genes SOD1, KIF5A, C21ORF2, and SUSP2, respectively. Furthermore, eQTL analysis using the GTEx database revealed that certain genetic variations, such as the minor alleles in SOD1, KIF5A, and SUSP2, are associated with differential gene expression across various ALS-related tissues, including the brain, skeletal muscle, esophagus, and lungs. The alleles with higher frequencies were (A) rs80265967, (C) rs75087725, (C) rs113247976, and (A) rs8141797. These alleles were found at significantly higher frequencies in populations from Africa and East Asia compared to those from America, Europe, and South Asia.

Pendahuluan

Penyakit *Amyotrophic Lateral Sclerosis* (ALS) mengganggu kemampuan motorik manusia, jadi penderitanya akan mengalami kehilangan kekuatan menggerakkan bagian anggota tubuh, tetapi tidak semua anggota tubuh yang terkena, organ mata masih berfungsi dengan baik (Rizal *et al.*, 2019). Tercatat sebanyak 1-2 kasus per 100.000 orang per tahunnya serta prevalensi sekitar 6 kasus pertahunnya (Feldman *et al.*, 2022). Faktor resiko ALS meliputi kebiasaan merokok, aktivitas fisik, paparan lingkungan dan pekerjaan, agen infeksius, genetika, asupan gizi, dinas militer dan trauma (Talbot *et al.*, 2016). Salah satu faktor resiko ALS yang telah disebutkan yaitu karena faktor genetika, yang mana penyakit tersebut bersifat turun-temurun. ALS juga dikatakan sebagai penyakit neurodegenerative sistem saraf pusat yang fatal, dan sulit dideteksi terutama pada tahap awal (Feldman *et al.*, 2022).

Seiring dengan kemajuan teknologi yang berkembang pesat untuk menemukan kerentanan genomik masa kini memiliki berbagi kemudahan terkhususnya untuk mendeteksi variasi dan ekspresi gennya, sehingga dapat diketahui resiko genetiknya yang diwariskan sejak dini untuk dapat diupayakan dengan memeriksa struktur DNA dengan memanfaatkan database menggunakan pendekatan bioinformatika. Bioinformatika merupakan suatu bidang interdisipliner yang utamanya melibatkan

biologi molekuler dan genetika, ilmu komputer, matematika dan statistika (Allmer, 2014). Pendekatan dengan berbasis bioinformatika dapat mengurangi waktu serta biaya yang dikeluarkan dalam mengembangkan obat-obatan yang memiliki yang memiliki potensi tinggi dengan efek samping yang minimal serta tingkat toksisitas yang lebih rendah dari metode *trial-and-error* (Zloh and Kirton, 2018).

Salah satu database yang dimanfaatkan menggunakan pendekatan bioinformatika yaitu GWAS *catalog* yang dimana database tersebut berisi data hasil pindaian polimorfisme nukleotida tunggal pada semua genom dari manusia sebagai usaha pencarian penanda genetika yang berfungsi sebagai deteksi suatu penyakit maupun gangguan (Furqan *et al.*, 2020). Lalu database HaploReg v4.2 digunakan menganalisis variasi genetiknya termasuk SNP. Database GTEx portal digunakan untuk mempelajari hubungan antar variasi genetik dan ekspresi genya. Ekspresi gen bertujuan untuk menetapkan gen mana yang diekspresikan didalam suatu jaringan (*tissue*) maupun keadaan tertentu serta gen mana tidak, hal tersebut menjadi tantangan dalam biologi molekuler (Sardi, 2022). Database untuk menganalisis persebaran frekuensi alel dari setiap populasi di setiap Benua yaitu dengan memanfaatkan *ensembl genome*. *Ensembl genome* merupakan data base utama yang menidentifikasi mutasi protein.

Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan pendekatan bioinformatika dengan menggunakan beberapa sumber database. Database yang digunakan diantaranya katalog GWAS dengan kata kunci yang digunakan “*amyotrophic lateral sclerosis*” pada database GWAS katalog <https://www.ebi.ac.uk/gwas/> [diakses pada 13 Februari 2025]. Berdasarkan GWAS catalog diperoleh data SNP (*single nucleotide polymorphisms*) yang berkaitan dengan ALS. SNP yang berisiko pada ALS dicirikan dengan kriteria signifikansi p -value $< 1 \times 10^{-8}$. Setiap SNP yang memenuhi kriteria p -value akan dianalisis menggunakan HaploReg V4.2 <https://pubs.broadinstitute.org/mamals/haploreg.php> [diakses pada 13 Februari 2025]. Selanjutnya, untuk mengetahui profil ekspresi gen pada berbagai jaringan tubuh manusia yaitu menggunakan EqtL (*expression quantitative trait locus*) database GTEx portal <https://www.gtexportal.org/home/> [diakses pada 13 Februari 2025]. Kemudian frekuensi alel diantara populasi benua Eropa, Afrika, Asia Timur dan Asia Selatan menggunakan database *ensembl genome* <https://asia.ensembl.org/index.html> [diakses pada 13 Februari 2025].

Alat yang dibutuhkan dalam penelitian ini yaitu Laptop ACER ASPIRE A3114-22 dengan spesifikasi RAM (*random access memory*) 4 GB, AMD Athlon silver 3050 dan GPU AMD Radeon Graphics. Penelitian dilakukan di Universitas Muhammadiyah Gombong pada bulan Januari hingga Maret 2025. Metode yang dilakukan untuk penelitian ini yaitu menggunakan pendekatan bioinformatika untuk mengidentifikasi variasi gen yang berhubungan dengan ALS dan mengetahui tingkat ekspresi gen pada jaringan tubuh tertentu. Teknik analisis data pada penelitian ini dengan menganalisis SNP yang berkaitan dengan ALS yaitu dengan menggunakan analisis database dalam menganalisis data. SNP yang diunduh dari katalog GWAS dengan menggunakan kata kunci *Amyotrophic Lateral Sclerosis* (ALS) lalu dikumpulkan menggunakan sistem

operasi *Microsoft excel* yang selanjutnya data diolah dengan kriteria inklusi p -value $< 1 \times 10^{-8}$. Kemudian data kirim ke situs *HaploReg versi 4.2* untuk memastikan bahwa SNP berkaitan dengan gen tertentu dan mengidentifikasi sifat variasi gen.

Hasil

Berdasarkan hasil penelusuran SNP menggunakan database GWAS katalog untuk ALS diperoleh data sebanyak 354 SNP, dan dari 354 SNP yang diperoleh, hanya terdapat 51 SNP yang memenuhi kriteria p -value $< 1 \times 10^{-8}$ (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil penelusuran dari katalog GWAS diperoleh 51 SNP dengan signifikansi (p -value $< 1 \times 10^{-8}$)

No	SNP	p -value
1	rs2453555	1×10^{-43}
2	rs2453555	1×10^{-41}
3	rs3849943	4×10^{-30}
4	rs12608932	3×10^{-25}
5	rs12608932	9×10^{-25}
6	rs3849943	3×10^{-23}
7	rs3849943	4×10^{-19}
8	rs80265967	4×10^{-18}
9	rs7019351	3×10^{-15}
10	rs12973192	4×10^{-15}
11	rs229195	9×10^{-15}
12	rs229194	9×10^{-15}
13	rs12145183	2×10^{-14}
14	rs75087725	2×10^{-14}
15	rs12608932	3×10^{-14}
16	rs113247976	7×10^{-13}
17	rs8141797	1×10^{-12}
18	rs631312	3×10^{-12}
19	rs9275477	4×10^{-12}

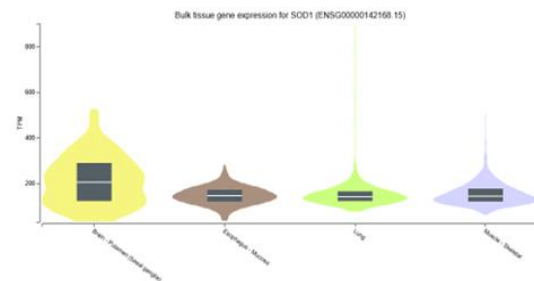
No	SNP	<i>p</i> -value
20	rs9275477	6 x 10 ⁻¹²
21	rs113247976	1 x 10 ⁻¹¹
22	rs75087725	3 x 10 ⁻¹¹
23	rs3849942	5 x 10 ⁻¹¹
24	rs631312	5 x 10 ⁻¹¹
25	rs12608932	3 x 10 ⁻¹⁰
26	rs35714695	3 x 10 ⁻¹⁰
27	rs75087725	3 x 10 ⁻¹⁰
28	rs10463311	3 x 10 ⁻¹⁰
29	rs17785991	3 x 10 ⁻¹⁰
30	rs616147	4 x 10 ⁻¹⁰
31	rs12608932	3 x 10 ⁻¹⁴
32	rs113247976	7 x 10 ⁻¹³
33	rs3849943	6 x 10 ⁻¹⁰
34	rs58854276	7 x 10 ⁻¹⁰
35	rs11061269	8 x 10 ⁻¹⁰
36	rs3849942	8 x 10 ⁻¹⁰
37	rs1605070	2 x 10 ⁻⁹
38	rs9329300	2 x 10 ⁻⁹
39	rs9977018	2 x 10 ⁻⁹
40	rs8141797	2 x 10 ⁻⁹
41	rs139550538	2 x 10 ⁻⁹
42	rs9327881	5 x 10 ⁻⁹
43	rs4075094	2 x 10 ⁻⁹
44	rs1419311	5 x 10 ⁻⁹
45	rs74654358	5 x 10 ⁻⁹
46	rs517339	6 x 10 ⁻⁹
47	rs2814707	7 x 10 ⁻⁹
48	rs62333164	7 x 10 ⁻⁹
49	rs7117082	8 x 10 ⁻⁹
50	rs34517613	8 x 10 ⁻⁹

No	SNP	<i>p</i> -value
51	rs517339	8 x 10 ⁻⁹

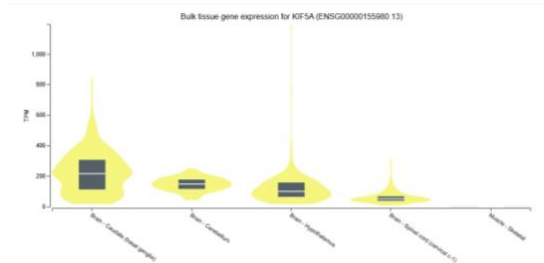
Tahapan selanjutnya analisis dengan database HaploReg v4.2, SNP yang teridentifikasi *missense* diperoleh 4 SNP dari 51 SNP yaitu rs80265967, rs75087725, rs113247976, dan rs8141797. Gencode yang diperoleh secara berurutan yaitu SOD1, C21orf2, KIF5A, dan SUS2 dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. SNP ALS dengan *p*-value < 1 x 10⁻⁸ dan tervalidasi *missense* dalam database HaploReg v4.2

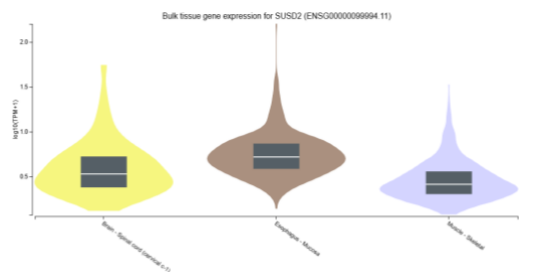
SNP	Kode Gen	<i>p</i> -value	dbSNP func annot
rs80265967	SOD1	4 x 10 ⁻¹⁸	<i>Missense</i>
rs75087725	C21orf2	2 x 10 ⁻¹⁴	<i>Missense</i>
rs113247976	KIF5A	7 x 10 ⁻¹³	<i>Missense</i>
rs8141797	SUSD2	1 x 10 ⁻¹²	<i>Missense</i>



Gambar 1. Ekspresi Gen SOD1 Kerentanan *Amyotrophic Lateral Sclerosis* (ALS) dibagi jaringan berdasarkan database GTEx portal



Gambar 2. Ekspresi Gen KIF5A Kerentanan *Amyotrophic Lateral Sclerosis* (ALS) diberbagi jaringan berdasarkan database GTEx portal.



Gambar 3. Ekspresi gen SUSD2 kerentanan *Amyotrophic Lateral Sclerosis* (ALS) diberbagai jaringan berdasarkan database GTEx portal.

Pembahasan

Profil SNP Terkait *Amyotrophic Lateral Sclerosis* (ALS)

Ekspresi gen merupakan tahap penggunaan informasi pada gen DNA dengan tujuan untuk menggabungkan *messenger-RNA* (transkrip). Seiring dengan kemajuan teknologi yang berkembang pesat untuk menemukan kerentanan genomik masakini sangatlah bermacam kemudahan, terkhususnya untuk mendeteksi variasi dan ekspresi gennya sehingga dapat diketahui resiko genetik yang diwariskan sejak dini untuk dapat diupayakan dengan memeriksa struktur DNA dan dapat ditindaklanjuti untuk penyakit tersebut. Genetika atau riwayat keluarga merupakan suatu masalah atau faktor resiko yang penyakit ALS.

Penelitian yang dilakukan secara bioinformatika dengan pengambilan data dari database bioinformatika. Penggunaan database GWAS catalog bioinformatika

dengan pemilihan SNP menggunakan kriteria p-value 1×10^{-8} karena menjadi standar dengan tujuan untuk memastikan bahwa hasil yang diperoleh memiliki tingkat kepercayaan yang tinggi, serta nilai SNP yang diidentifikasi benar-benar mempunyai korelasi yang signifikan dengan ALS. Selain itu, dapat mengurangi kemungkinan dalam interpretasi dan menghindari nilai positif yang salah terkait hubungan antara SNP dengan fenotipenya (Kim et al., 2021). *Single Nucleotide Polymorphisms* (SNPs) merupakan salah satu penanda genetik yang berfungsi untuk menentukan kelainan pada suatu penyakit (Bush & Moore, 2012).

Data SNP yang diperoleh dari database katalog GWAS sebanyak 354 SNP, yang memenuhi kriteria $p\text{-value} < 1 \times 10^{-8}$ diperoleh sebanyak 51 SNP dilihat pada tabel 1. Penggunaan metode komputasi pada SNP dengan kriteria *missense* menunjukan penanda bahwa SNP *missense* mempunyai dampak yaitu dapat merusak protein. *Missense* merupakan jenis variasi gen yang mampu melakukan perubahan sampai ke level protein (Astuti et al., 2023).

Prioritas Gen Terkait *Amyotrophic Lateral Sclerosis* (ALS)

Penelusuran prioritas gen yang terkait dengan ALS diawali dengan GWAS catalog yang mana pada database tersebut ditemukan sejumlah SNP dengan berbagai p-value. Pada database bioinformatika, SNP akan dianalisis sehingga diketahui gencode dari SNP yang diperoleh yang sudah tervalidasi *missense*. Varian SNP yang memenuhi kriteria *missense* menggunakan database HaploReg v4.2 pada penelitian ini pada tabel 2 yaitu dengan gencode SOD1, C21orf2, KIF5A, dan SUSD2. Kemudian beberapa variasi genetik yang paling umum adalah SNP rs80265967, rs75087725, rs113247976, dan rs8141797. Variasi genetik tersebut mempengaruhi ekspresi dan fungsi gencode masing-masing sehingga mempengaruhi jalur regulasi imun dan perkembangan penyakit.

Hubungan Antara Variasi Genetik dan Ekspresi Gen pada Berbagai Jaringan

Hubungan antara variasi genetik dengan ekspresi gen yang terdeteksi pada gen yang ditemukan disuatu jaringan tertentu yang berkaitan dengan variasi genetik, seperti *single nucleotide polymorphisms* (SNPs) atau mutasi structural, dapat memodulasi aktivitas gen melalui mekanisme regulasi transkripsi dan pascatranskripsi. Selain itu korelasi antara variasi genetik dan pola ekspresi jaringan spesifik sering dianalisis dengan *Expression Quantitative Trait Loci* (eQTL). Dalam lingkup penyakit, seperti *Amyotrophic Lateral Sclerosis* (ALS), variasi genetik yang berasosiasi dengan penyakit dapat memengaruhi ekspresi gen di jaringan saraf yang berkontribusi terhadap mekanisme patologi penyakit tersebut.

Variasi genetik *Amyotrophic Lateral Sclerosis* (ALS) dalam berbagai jaringan dievaluasi dengan analisis eQTLs (*Expression quantitative trait loci*) menggunakan database *GTEx portal* yang dapat menunjukkan tingkat ekspresi gen (gambar 1-3), di berbagai jaringan pada manusia, terutama pada otak, otot rangka, esofagus, paru-paru, dan sumsum tulang belakang. Tujuan penggunaan data tersebut yaitu untuk mengidentifikasi jenis ekspresi gen pada berbagai jaringan (Irham et al., 2023). Analisis eQTLs dapat digunakan untuk melihat hubungan SNP dan ekspresi gen dalam jaringan tertentu serta menampilkan data ekspresi gen dan menjelaskan perbedaan dalam ekspresi gen yang disebabkan oleh variasi genetik alami jaringan (Westra & Franke, 2014).

Lebih menariknya lagi, database portal *GTEx* ini mengidentifikasi tiga gencode yang terkait dengan ALS yaitu *SOD1*, *KIF5A* dan *SUSD2* (tabel 4.3) yang menunjukkan ekspresi gen di otak, esofagus, paru-paru dan otot rangka. Akan tetapi, gen *C21orf2* tidak dapat diidentifikasi dalam pencarian portal *GTEx* maupun pada analisis eQTLs dikarenakan gen *C21orf2* memiliki tingkat ekspresi yang rendah pada suatu jaringan tubuh manusia, keterbatasan jaringan yang dianalisis, atau

perbedaan kondisi antara donor sehat dan pasien ALS.

Persebaran Alel Pada Populasi Berbagai Benua

Frekuensi alel terkait penyakit *Amyotrophic lateral sclerosis* (ALS) diberbagai populasi benua diantaranya benua Afrika, Amerika, Eropa, Asia Timur dan Asia Selatan, dengan menggunakan database *ensembl genome*. Tujuan pemetaan tersebut yaitu untuk melihat persebaran alel di berbagai benua. Frekuensi alel di seluruh populasi berbeda untuk setiap varian gen *SOD1*, *C21orf2*, *KIF5A*, dan *SUSD2*. Empat varian dievaluasi di beberapa benua, termasuk populasi 4.059 individu (Afrika), 2.689 individu (Amerika), 3.937 individu (Asia Timur), 3.924 individu (Eropa) dan 3.746 individu (Asia Selatan). pada SNP rs80265967 memiliki frekuensi alel terkait gen *SOD1* pada ALS menunjukkan bahwa di Afrika, Amerika, Asia Timur dan Asia Selatan 100% jauh lebih tinggi dibandingkan di Eropa hanya 99.8%.

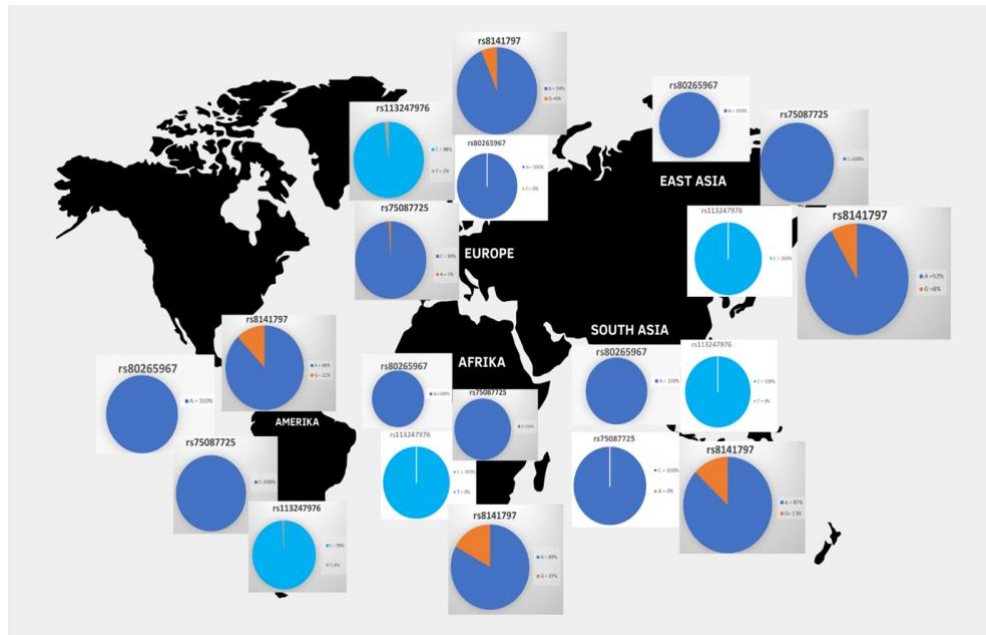
Selain itu, jenis SNP rs75087725 menunjukkan bahwa pada gambar 1, Afrika, Amerika, Asia Timur 100% lebih tinggi juga dari pada di Eropa 99.8% dan Asia Selatan 99.9%. Lalu pada SNP rs113247976 menunjukkan bahwa di Asia Timur 100% lebih tinggi dibandingkan dengan benua lainnya seperti Afrika 99.8%, Amerika 99.1%, Eropa 97.6% dan Asia Selatan 99.8%. Hal tersebut, berhubungan dengan faktor lingkungan dan faktor genetika. Metode genomik dapat menggunakan hasil alel untuk menentukan kerentanan penyakit.

Simpulan

Penelitian melalui pendekatan bioinformatika terkait dengan ALS dilakukan menggunakan database *GWAS* katalog, *Haploreg v4.2*, *GTEx portal* dan *ensemble genome*. Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh 4 varian gencode diantaranya *SOD1*, *C21orf2*, *KIF5A*, dan *SUSD2* dari 4 SNP rs80265967, rs75087725, rs113247976, dan rs8141797 yang tervalidasi *missense*.

Tingkat ekspresi gen SOD1, C21orf2, KIF5A, dan SUSD2 melalui database GTEx portal terbesar pada 4 jaringan tubuh manusia diantaranya otak, otot rangka, esofagus, dan paru-paru. Lalu ditemukan sebaran populasi dari ke-empat SNP tersebut menggunakan database ensembl genome. Frekuensi alel terkait yang lebih tinggi yaitu pada (A) rs80265967, (C) rs75087725, (C) rs113247976 dan (A) rs8141797, populasi pada Benua Afrika dan Asia Timur jauh lebih

tinggi dibandingkan pada populasi Benua Amerika, Eropa dan Asia Selatan. Semakin tinggi nilai frekuensi sebaran di suatu wilayah, maka semakin rentan penyakit ALS di wilayah tersebut berkembang. Hasil penelitian menunjukkan Asia Timur perlu melakukan tindakan preventif untuk mencegah tingginya kasus ALS di wilayah tersebut. Saran kami untuk penelitian selanjutnya yaitu melanjutkan dengan penelitian *drug repurposing*.



Gambar 4. Distribusi frekuensi alel rs80265967, rs75087725, rs113247976 dan rs8141797 pada populasi Afrika, Amerika, Eropa, Asia Timur dan Asia Selatan.

Pendanaan

Penelitian ini tidak didanai oleh hibah manapun.

Referensi

- Allmer, J. (2014). *miRNomics: MicroRNA Biology and Computational Analysis*. 1107, 333.
- Astuti, F., Capritasari, R., Iskardiani, D., Alifiar, I., dan Irham, L. M. (2023). Identifikasi Variasi Dan Ekspresi Gen Pada Stroke Iskemik Dengan Pendekatan Bioinformatika. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-Ilmu Keperawatan, Analisis Kesehatan Dan*

Farmasi, 23(1): 9–19.

- Bush, W. S., and Moore, J. H. (2012). Chapter 11: Genome-Wide Association Studies. *PLoS Computational Biology*. 8(12): 1002822.
- Feldman, E. L., Goutman, S. A., Petri, S., Mazzini, L., Savelieff, M. G., Shaw, P. J., and Sobue, G. (2022). Amyotrophic lateral sclerosis. *The Lancet*. 400(10360): 1363–1380.
- Furqan, M., Kurniawan, R., and HP, K. I. (2020). Evaluasi Performa Support Vector Machine Classifier Terhadap Penyakit Mental. *Jurnal Sistem Informasi Bisnis*. 10(2): 203–210.

- Irham, L. M., Adikusuma, W., Lolita, L., Puspitaningrum, A. N., Afief, A. R., Sarasmita, M. A., Dania, H., Khairi, S., Djalilah, G. N., Purwanto, B. D., dan Chong, R. (2023). Investigation of susceptibility genes for chickenpox disease across multiple continents. *Biochemistry and Biophysics Reports*. 33: 101419.
- Kim, S., Chen, J., Cheng, T., Gindulyte, A., He, J., He, S., Li, Q., Shoemaker, B. A., Thiessen, P. A., Yu, B., Zaslavsky, L., Zhang, J., and Bolton, E. E. (2021). PubChem in 2021: New data content and improved web interfaces. *Nucleic Acids Research*. 49(D1): D1388–D1395.
- Rizal, A., Perdana, H. F., dan Suratman, F. Y. (2019). Pengembangan Sistem Pengendali Kursor Menggunakan Sinyal Elektrokulogram (EOG). *JTIM: Jurnal Teknologi Informasi Dan Multimedia*. 1(2): 143–149.
- Sardi, A. (2022). Bioinformatics: Challenges in Integrating Biological Information. *Jurnal Biologi Tropis*. 22(4): 1297–1301.
- Talbott, E. O., Malek, A. M., and Lacomis, D. (2016). The epidemiology of amyotrophic lateral sclerosis. In *Handbook of Clinical Neurology* (1st ed., Vol. 138).
- Westra, H. J., and Franke, L. (2014). From genome to function by studying eQTLs. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*. 1842(10): 1896–1902.
- Zloh, M., and Kirton, S. B. (2018). The benefits of in silico modeling to identify possible small-molecule drugs and their off-target interactions. *Future Medicinal Chemistry*. 10(4): 423–432.