

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kanker Payudara

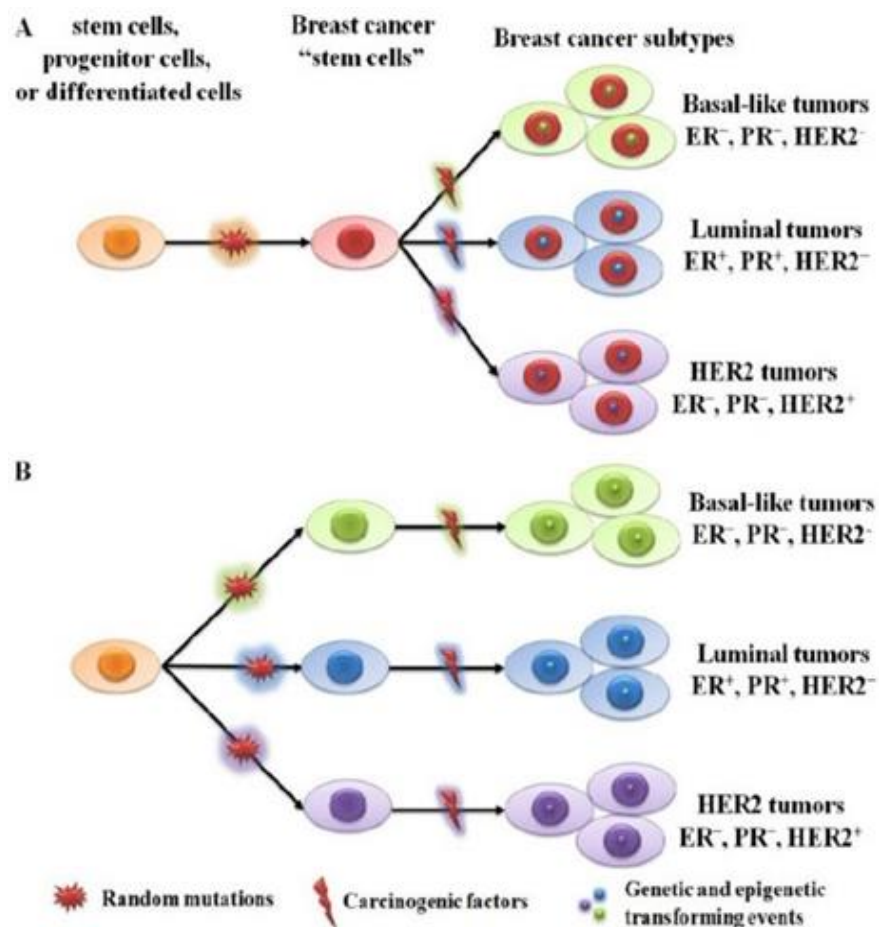
kanker payudara adalah penyakit ganas yang bersumber dari suatu bagian pengikat payudara baik dari epitel duktus maupun lobulusnya (Katuwu & Maelissa, 2023). Kanker payudara adalah kondisi penyakit yang muncul karena pertumbuhan jaringan abnormal dan tidak terkendali di dalam payudara wanita (K. Shaikh et al., 2021). Pada wanita yang mengalami kanker payudara terdapat benjolan keras yang tidak bisa digerakan di bagian payudara, hal ini disebabkan karena sebuah kondisi kerusakan pada gen yang mengendalikan pertumbuhan dan diferensiasi sel. Akibatnya sel-sel kanker tumbuh tanpa terkendali dan menyebar melalui kelenjar getah bening yang menyebabkan pembesaran kelenjar getah bening (Bachtiar, 2022).

Kanker payudara ditandai dengan adanya benjolan kecil, yang tidak disertai rasa sakit walaupun benjolan semakin hari semakin tumbuh. Sel – sel payudara berkembang secara abnormal atau tidak terkendali, menyerang jaringan atau organ lain disekitarnya dan membentuk massa atau benjolan yang dikenal sebagai tumor. Tumor biasanya bersifat ganas, yang sering disebut dengan kanker. Sel kanker bersifat ganas dan dapat menginvasi serta merusak fungsi suatu jaringan (Saini et al., 2020). Penyebaran (metastasis) sel kanker dapat melalui pembuluh darah, sel yang sudah berkembang tidak dapat mati dengan sendirinya, sel akan terus mengganda dan membelah diri hingga jumlah yang semakin banyak dan tidak bisa terkendali lagi (Wang et al., 2021). Perubahan inilah yang bisa memicu munculnya sel kanker (Kemenkes RI, 2020).

2.2. Patofisiologi Kanker Payudara

Fase awal kanker payudara seringkali tidak menunjukkan gejala yang jelas. Namun, benjolan atau penebalan pada payudara dapat menjadi tanda umum yang

terlihat. Pada tahap lanjut. Gejala melibatkan kulit cekung, retraksi atau deviasi puting susu, dan keluarnya darah dari puting. Tanda-tanda lebih lanjut mencakup kulit yang tebal dengan pori-pori menonjol seperti kulit jeruk dan ulserasi pada payudara. Jika nodul terlibat, dapat terjadi pembesaran nodul limfa aksilaris, serta teraba nodus supraklavikula di daerah leher (Aim Matun, 2019).



Gambar II.1 Patofisiologi Kanker Payudara

(Sun et al., 2017)

Metastasis yang meluas bisa menunjukkan gejala seperti anoreksia, penurunan berat badan, nyeri pada bahu, pinggang, punggung bagian bawah, atau pelvis, gangguan pencernaan, pusing, penglihatan kabur, dan sakit kepala. Meskipun proses metastasis karsinoma belum sepenuhnya dipahami, ukuran tumor

diyakini berhubungan dengan kejadian metastasis; semakin kecil tumor, semakin kecil kemungkinan metastasisnya. Deteksi dini kanker payudara dapat meningkatkan peluang keberhasilan perawatan (A. A. Prayoga, 2019).

Ada dua teori hipotesis terkait inisiasi dan perkembangan kanker payudara yaitu teori sel induk kanker dan teori stokastik. Teori sel induk kanker menyatakan bahwa semua subtype tumor berasal dari sel batang yang sama atau sel yang memperkuat transit (sel progenitor). Mutasi genetik dan epigenetik pada sel batang atau sel progenitor dapat menyebabkan berbagai fenotipe tumor (Sabunga, 2021). Sementara itu, teori stokastik menyatakan bahwa setiap subtype tumor dimulai dari jenis sel tunggal (sel induk, sel progenitor, atau sel terdiferensiasi) (Katuwu & Maelissa, 2023). Mutasi acak yang bertumpuk di setiap sel payudara dapat secara bertahap mengubah sel tersebut menjadi sel tumor ketika mutasi yang cukup terakumulasi (Hamzah et al., 2021).

2.3. Klasifikasi Kanker Payudara

Klasifikasi kanker payudara terbagi menjadi 2 yaitu:

1. Kanker payudara Invasif

Pada kanker payudara yang bersifat invasif, sel kanker merusak saluran dan dinding kelenjar susu, serta menyerang lemak dan jaringan konektif di sekitarnya. Kanker ini dapat bersifat invasif tanpa menyebar (metastasis) ke organ tubuh lain (Kurniati & Nafiah, 2019).

2. Kanker Payudara non-invasif

Kanker payudara non-invasif adalah jaringan yang tidak merusak jaringan lemak dan ikat di sekitar payudara. *Ductal Carcinoma in Situ* (DCIS) adalah bentuk kanker payudara yang paling umum terjadi. Sedangkan *Lobular Carcinoma In Situ* (LCIS) lebih jarang tapi justru harus lebih diwaspadai karena merupakan tanda peningkatan risiko kanker payudara (Kurniati & Nafiah, 2019).

2.4. Tahapan Kanker Payudara

1. Stadium 0

Stadium ini dikenal dengan kanker payudara non-invasif, yang berarti kanker ini tidak menyebar keluar dari saluran pembuluh darah atau pembuluh payudara serta kelenjar susu. Ada dua tipe yaitu Ductal Carcinoma in Situ (DCIS) dan Lobular Carcinoma in Situ (LCIS) (Suparna & Sari, 2022).

2. Stadium I

Kanker invasif yang memiliki ukuran tumor yang kecil, ukurannya kurang dari 2 cm, dan tidak menyerang kelenjar getah bening (Suparna & Sari, 2022).

3. Stadium IIA

Pada tahap ini, diameter tumor kurang dari atau sama dengan 2 cm dan telah ditemukan nodus getah bening di ketiak (axillary lymph nodes). Jika diameter tumor lebih dari 2 cm tetapi tidak melebihi 5 cm, kanker belum menyebar ke nodus pembuluh darah getah bening di ketiak (Suparna & Sari, 2022).

4. Stadium IIB

Pada tahap ini, diameter kanker payudara lebih dari 2 cm tapi tidak melebihi 5 cm. Tumor telah menyebar ke beberapa area di pembuluh getah bening ketiak sedangkan untuk diameter tumor yang sudah melebihi 5 cm ukurannya lebih lebar tapi tidak ada penyebaran (Suparna & Sari, 2022).

5. Stadium IIIA

Pada tahap ini, ukuran tumor lebih kecil dari 5 cm dan telah menyebar ke beberapa titik di kelenjar getah bening (Suparna & Sari, 2022).

6. Stadium IIIB

Tumor menyebar ke dinding dada dan menyebabkan pembengkakan hingga luka bernanah di payudara, hal ini dapat di diagnosis sebagai inflamantory breast cancer. Hal ini dapat dikatakan sudah atau belum menyebar ke titik-titik di kelenjar getah bening ketiak dan lengan atas, tapi belum menyebar ke bagian organ tubuh lain (Suparna & Sari, 2022).

7. Stadium IIIC

Terjadi pembengkakan hingga menyebabkan luka bernanah di payudara. telah menyebar ke titik-titik pada pembuluh getah bening dalam group N3 (kanker

telah menyebar lebih dari 10 titik dalam saluran getah bening di bawah tulang selangka (Suparna & Sari, 2022).

8. Stadium IV

Pada tahap ini, ukuran kanker dapat bervariasi, namun penyebarannya telah menyebar pada lokasi yang sudah jauh seperti, menyebar ke tulang, paru-paru, liver atau tulang rusuk (Suparna & Sari, 2022).

2.5. Pengobatan Kanker Payudara

Pengobatan yang sering dilakukan yaitu:

1. Pembedahan

Pembedahan adalah terapi yang paling awal dikenal untuk pengobatan atau mengambil sel-sel kanker payudara. Dalam pembedahan dapat dipilih antara operasi yang mempertahankan payudara dan mastektomi radikal yang dimodifikasi. Pada mastektomi radikal yang dimodifikasi dengan mempertahankan otot-otot pektoralis, cakram kelenjar biasanya diangkat melalui insisi melintang. Sedangkan yang mempertahankan payudara kemungkinan penyembuhan sama besar dengan mastektomi. Namun, prosedur pembedahan harus sesuai dengan stadium penyakit, ukuran tumor, umur, dan kondisi pasien (Harahap, 2015).

2. Terapi Radiasi

Terapi ini menggunakan sinar berkekuatan tinggi untuk membunuh sel kanker yang hanya berpengaruh pada bagian tubuh yang terkena sinar saja. Terapi radiasi dapat digunakan setelah operasi untuk menghancurkan sel kanker yang masih tersisa pada area operasi (Harahap, 2015).

3. Terapi Hormon

Terapi hormon juga disebut pengobatan anti hormon. Jika hasil laboratorium menunjukkan bahwa kanker payudara memiliki reseptor hormon, maka terapi ini dapat dijadikan pilihan pengobatan (Harahap, 2015).

4. Kemoterapi

Kemoterapi adalah pengobatan kanker dengan menggunakan obat-obatan atau hormon. Kemoterapi dapat digunakan dengan efektif pada penyakit-penyakit baik diseminata maupun yang masih terlokalisasi. Kemoterapi biasanya digunakan dalam bentuk kombinasi agar lebih banyak sel kanker yang dapat dibunuh melalui berbagai jalur yang berbeda (Harahap, 2015).

2.6. Rumput Laut Coklat (*Sargassum Sp.*)



Gambar II.2 Rumput Laut Coklat (*Sargassum Sp.*)

(Saldarriaga-Hernandez et al., 2020)

Rumput laut adalah salah satu sumber alamiah komponen biologi aktif yang kaya akan unsur-unsur biologis primer dan sekunder yang bersifat bioaktif (BARETA, 2023). Rumput laut coklat (*Sargassum Sp.*) memiliki senyawa utama berupa polisakarida, seperti fucoidan. *Sargassum Sp.* juga kaya akan protein, mineral, vitamin, dan memiliki kandungan lemak yang rendah (Malinda, 2020). Rumput laut memiliki banyak kegunaan, diantaranya sebagai bahan pangan, kosmetik, dan obat – obatan tetapi di indonesia fungsi tersebut belum dimanfaatkan secara optimal (Merdekawati & Susanto, 2009).

2.6.1. Klasifikasi *Sargassum Sp.*

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Phaeophyta
Kelas	: Phaeophyceae
Ordo	: Fucales
Famili	: Sargassaceae
Genus	: <i>Sargassum</i>
Spesies	: <i>Sargassum sp.</i>

2.6.2. Aktivitas *Sargassum Sp.*

Rumput laut memiliki senyawa utama yaitu polisakarida. Polisakarida yang terkandung dalam rumput laut adalah fucoidan, alginate, dan laminaran. Potensi aktivitas biologis dalam *Sargassum Sp.* dapat bermanfaat sebagai antiinflamasi, antioksidan, antibakteri, antihipertensi, antitumor, dan antivirus (Bazes et al., 2009). Senyawa fucoidan yang terkandung dalam *Sargassum Sp.* (Park et al., 2011).

Senyawa fenolik merupakan salah satu jenis antioksidan dalam bahan pangan. Senyawa fenolik terbukti sebagai sumber antioksidan yang efektif menangkal radikal bebas dan pengkelat ion logam (Xiao, 2016). Kandungan alginate pada *Sargassum Sp.* dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri dengan menghambat pertumbuhan bakteri. Pengendalian pertumbuhan bakteri dilakukan untuk mencegah pertumbuhan mikroorganisme yang merugikan (Widowati et al., 2014).

Senyawa polifenol yang ditemukan dalam *Sargassum Sp.* memiliki kemampuan untuk antihipertensi dengan menghambat aktivitas ACE. ACE, yang merupakan metalloproteinase mengandung seng, berfungsi sebagai katalis dalam mengubah angiotensin I menjadi angiotensin II. Angiotensin II sendiri merupakan vasokonstriktor yang kuat dan terlibat dalam proses patogenesis hipertensi. Peran enzim ini sangat signifikan dalam regulasi tekanan darah (Wijesinghe et al., 2011).

Sargassum sp. merupakan sumber daya alam laut yang kaya akan metabolit sekunder, menunjukkan potensi sebagai bahan antikanker. Fucoidan, sebagai senyawa bioaktif dari rumput laut cokelat, terkenal karena memiliki sifat

anti-proliferasi, antitumor, dan antikanker. Fucoidan mampu menginduksi apoptosis, menghambat invasi, metastasis, dan angiogenesis sel kanker. Senyawa ini telah terbukti efektif dalam menghambat pertumbuhan beberapa jenis kanker, salah satunya kanker serviks (Firdaus et al., 2018). Kandungan fucoidan yang ada dalam *Sargassum Sp.* juga memiliki aktivitas sebagai antivirus. Aktivitas antivirus terhadap poliovirus, adenovirus, dan HIV (Sanjeewa et al., 2018).

2.6.3. Senyawa Dalam *Sargassum Sp.*

Tabel II.1 Senyawa Pada Rumput Laut Coklat (*Sargassum Sp.*)

Nama Senyawa	Kode SMILE
Fucosterol	<chem>CC=C(CCC(C)C1CCC2C1(CCC3C2CC=C4C3(CCC(C4)O)C)C(C)C</chem>
Loliolide	<chem>CC1(CC(CC2(C1=CC(=O)O2)C)O)C</chem>
Hedaol A	<chem>CC(CCC=C(C)CCCC(=CC(=O)C=C(C)C)C)O</chem>
Fucoxanthin	<chem>CC(=CC=CC=C(C)C=CC=C(C)C(=O)CC12C(CC(CC1(O2)C)O)(C)C)C=CC=C(C)C=C=C3C(CC(CC3(C)O)OC(=O)C)(C)C</chem>
Phloroglucinol	<chem>C1=C(C=C(C=C1O)O)O</chem>
6-Hydroxy-1-phenazinecarboxylic acid	<chem>C1=CC(=C2C(=C1)N=C3C(=N2)C=CC=C3O)C(=O)O</chem>
Zeaxanthin	<chem>CC1=C(C(CC(C1)O)</chem>
Thiotropocin	<chem>C1=CC(=O)C2=C(C(=C1)S)SOC2=O</chem>
Diorcinol	<chem>CC1=CC(=CC(=C1)OC2=CC(=CC(=C2)O)C)O</chem>

Butremycin	<chem>CCC1C(CC2C1C=CC3C2CC4C3CC=CC(=O)NCCCC(C5C(=O)C(=C(C=C4)O)C(=O)N5)O)C</chem>
6-hydroxypseudooxynornicotine	<chem>CNCCCC(=O)C1=CNC(=O)C=C1</chem>
Komodoquinone B	<chem>CC1(CC(C2=C(C1)C(=C3C(=C2O)C(=O)C4=C(C3=O)C=CC=C4O)O)O)O</chem>
Orcinol	<chem>CC1=CC(=CC(=C1)O)O</chem>
Streptokordin	<chem>CC1=CC(=CC(=O)N1)C(=O)C</chem>
Chaetocyclinone A	<chem>CC1=CC2=C(C(O1)OC)C(=O)C3=C(O2)C(=C(C=C3C(=O)OC)OC)O</chem>
Botrallin	<chem>CC12C=C(C(=O)C(=C1C3=C(C(=CC(=C3)OC)O)C(=O)O2)O)OC</chem>
Kinantraquinone	<chem>CC(=CC1=C(C2=C(C=C1)C(=O)C3=C(C2=O)C=CC(=C3OC)OC)O)CC(=O)N</chem>
Mansouramycin	<chem>CC1=C2C(=O)C=C(C(=O)C2=CN=C1C)NC</chem>
Phentoatl	<chem>CCOC(=O)C(C1=CC=CC=C1)(OC)OC</chem>
Bikaverin	<chem>CC1=CC(=CC2=C1C(=O)C3=C(O2)C(=O)C4=C(C3=O)C(=CC(=C4O)OC)O)OC</chem>
2,4-Dinitrophenol	<chem>C1=CC(=C(C=C1[N+](=O)[O-])[N+](=O)[O-])O</chem>
Pseudomomine	<chem>CC1C(C(=O)N(O1)CCC2=CN=CN2)NC(=O)C3=CC=CC=C3O</chem>
Marineosin A	<chem>CC1CC2CCCCCCCC3=CC=C(C2C4(O1)C(CC(=N4)C5=CC=CN5)OC)N3</chem>
Espicufolin	<chem>CCC(C)C1=CC(=O)C2=C(O1)C3=C(C(=C2CO)C(=O)C4=C(C3=O)C(=CC=C4)O</chem>
Fucoidan	<chem>CC1C(C(C(C(O1)C)O(=O)(=O)O)O)OC</chem>

Laminaran	<chem>C(C1C(C(C(C(O1)O)O)OC2C(C(C(C(O2)CO)O)OC3C(C(C(C(O3)CO)O)O)O)O)O</chem>
2-Pentadecanone	<chem>CCCCCCCCCCCCCCC(=O)C</chem>
1,2-benzenedicarboxylic Acid	<chem>C1=CC=C(C(=C1)C(=O)O)C(=O)O</chem>
Hexadecanoic acid	<chem>CCCCCCCCCCCCCCCC(=O)O</chem>
Cirsimaritin	<chem>COC1=C(C(=C2C(=C1)OC(=CC2=O)C3=CC=C(C=C3)O)O)OC</chem>
Quercetin	<chem>C1=CC(=C(C=C1C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O)O)O</chem>
Apigenin	<chem>C1=CC(=CC=C1C2=CC(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O</chem>
Alginate	<chem>C1(C(C(OC(C1O)O)C(=O)[O-])O)O</chem>
Sargahydroquinoic acid	<chem>CC1=CC(=CC(=C1O)CC=C(C)CCC=C(C)CCC=C(CCC=C(C(C)C)C(=O)O)O</chem>
Linoleic acid	<chem>CCCCC=CCC=CCCCCCCC(=O)O</chem>
Clopidogrel	<chem>COC(=O)C(C1=CC=CC=C1Cl)N2CCC3=C(C2)C=CS3</chem>
Ticlopidine	<chem>C1CN(CC2=C1SC=C2)CC3=CC=CC=C3Cl</chem>

2.7. Receptor Estrogen Alpha (ER- α)

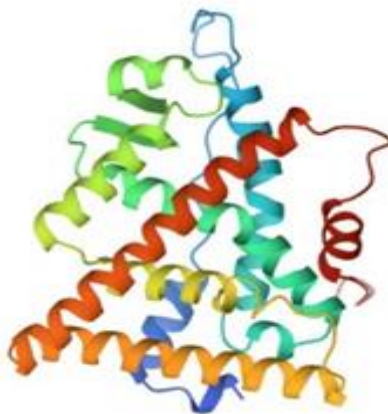
Receptor Estrogen Alpha (ER- α) merupakan salah satu dari dua jenis reseptor estrogen yang hadir pada sel target dalam tubuh manusia. Fungsi utama reseptor ini adalah merespon hormon estrogen, yang memiliki peran dalam mengatur berbagai fungsi tubuh, termasuk pertumbuhan dan perkembangan organ reproduksi pada

wanita. Kode identifikasi Protein Data Bank (PDB) adalah 3ERT, yang merujuk pada struktur kristalografi *Receptor Estrogen Alpha* (ER- α) dengan resolusi tinggi (Mylonas et al., 2005).

ER- α berfungsi sebagai reseptor perespon estrogen, berfungsi dalam mengatur pertumbuhan dan perkembangan kanker payudara. Kanker payudara yang bersifat positif terhadap reseptor estrogen (ER+) menunjukkan bahwa sel kanker memiliki reseptor dan pertumbuhannya dapat dipicu oleh hormon estrogen (Mohtar et al., 2021).

Classification	: RECEPTOR
Organism(s)	: Homo sapiens
Method	: X-RAY DIFFRACTION
Resolution	: 1,90 Å
Ligan Alami	: 4-HYDROXYTAMOXIFEN (C ₂₆ H ₂₉ NO ₂).
Released	: 1999-04-08

Struktur Reseptor Estrogen alpha dengan kode PDB 3ERT dapat dilihat pada Gambar II.3



Gambar II.3 Receptor Estrogen Alpha (ER- α) Kode PDB (3ERT)

(Sumber: RCSB Protein Data Bank)

2.8. Mekanisme Kerja Obat Terhadap reseptor Estrogen Alpha (ER- α)

Pengobatan kanker payudara diindikasikan menggunakan tamoxifen. Pasien dengan kanker payudara reseptor estrogen positif (ER+) kemungkinan besar akan lebih merasakan manfaat dari tamoxifen. Tamoxifen adalah jenis obat yang disebut modulator selektif reseptor estrogen (SERM). Perannya bersifat kompleks, karena dapat bertindak sebagai agonis atau antagonis tergantung pada jenis jaringannya. Pada jaringan payudara obat ini berperan sebagai agonis, merangsang pertumbuhan sel-sel epitel dan menghambat apoptosis (Fan & Jordan, 2014).

Tamoxifen bekerja dengan menghambat Receptor Estrogen Alpha (ER- α), obat ini adalah obat anti estrogen yang sering digunakan untuk mengobati kanker payudara dengan reseptor estrogen positif (ER+). Obat ini bekerja dengan berikatan pada ER- α di sel kanker payudara, mencegah estrogen untuk berikatan pada reseptor, sehingga dapat menghentikan sinyal estrogen yang merangsang pertumbuhan sel kanker. Selain itu, interaksi antara obat dengan reseptor ER- α juga dapat mencegah reseptor berinteraksi dengan DNA dan mengurangi pertumbuhan sel kanker (Lumachi et al., 2013).

2.9. Lipinski Rule of Five

Penelitian penambatan molekul bertujuan untuk merancang sebuah molekul obat untuk menemukan senyawa obat baru yang mampu berinteraksi dengan efektif terhadap reseptor target, sehingga dapat menghasilkan aktivitas biologis. *Lipinski Rule of Five* juga dikenal sebagai *Pfizer Rule of Five* atau *Rule of Five* (RO5). RO5 merupakan pedoman praktis untuk mengevaluasi obat atau menentukan apakah senyawa kimia dengan aktivitas farmakologi atau biologi tertentu memiliki sifat yang membuat aktif sebagai obat yang dapat diberikan pada manusia. Aturan ini merincikan sifat molekul penting yang mempengaruhi farmakokinetik obat dalam tubuh manusia, termasuk penyerapan, distribusi, metabolisme, dan ekskresi. Oleh karena itu, untuk merancang obat yang aktif untuk diberikan pada manusia harus memenuhi kriteria '*Lipinski Rule of Five*'. Kriterianya adalah sebagai berikut: (Lipiński, 2021).

1. Berat molekul kurang dari 500 dalton (Da).
2. Nilai Log P tidak lebih dari 5.
3. Ikatan hidrogen donor tidak lebih dari 5.
4. Ikatan aseptor hidrogen tidak lebih dari 5.
5. *Molar refractivity* sebaiknya diantara 40-130.

2.10. Penambatan Molekul

Penambatan molekul merupakan metode yang digunakan untuk memodelkan interaksi antara molekul dan protein pada tingkat atom. Proses penambatan molekul melibatkan dua tahapan dasar yang meliputi prediksi konformasi serta posisi dan orientasi ligan atau yang biasa disebut sebagai pose, serta penilaian afinitas yang mengikat (Damayanti et al., 2021). Penambatan molekul dilakukan untuk memprediksi struktur secara kompleks antara reseptor ligan dan target menggunakan metode komputasi (Modell et al., 2022). Penggunaan docking umumnya digunakan untuk memprediksi posisi ikatan kandidat obat dengan molekul kecil pada target proteinnya untuk memprediksi afinitas dan aktivitas molekul kecil. Dalam pengembangan obat, docking memainkan peranan penting dalam pengembangan obat secara rasional (Fikry, 2014).

2.10.1. Tahapan Penambatan Molekul

Tahapan dari penambatan molekul adalah sebagai berikut:

1. Preparasi Target Kerja

Preparasi target kerja yang akan digunakan dapat ditemukan pada website Protein Data Bank. Dalam mempersiapkan target kerja terdapat beberapa parameter yang dapat dijadikan kriteria apakah target kerja tersebut akan digunakan atau tidak. Parameter ini meliputi analisis metode, organisme, resolusi, dan aktivitas ligan yang akan digunakan.

2. Validasi Penambatan Molekul

Validasi penambatan molekul merupakan langkah untuk menentukan apakah target kerja dan ligan alami layak digunakan. Tujuannya adalah untuk mendapatkan metode grid box yang valid. Validasi atau docking ulang dalam aplikasi self-docking dengan mengikat ligan alami ke protein target. Bentuk dan tempat interaksi ligan ditentukan oleh penempatan kotak grid. Jika hasil relokasi posisi ikatan optimal bernilai $\text{RMSD} < 2\text{\AA}$, maka dianggap valid. Selain itu, susunan grid box digunakan dalam metode docking sambungan uji. Perlu diperhatikan bahwa penambatan molekul lainnya dapat menghasilkan nilai RMSD yang lebih tinggi dan nilai Einter yang lebih rendah. Hal ini menunjukkan bahwa pengikatan ligan lain yang berpotensi berinteraksi harus dipertimbangkan.

3. Penambatan Molekul

Penambatan molekul dilakukan setelah diperoleh hasil validasi penambatan molekul yang valid. Pengaturan grid mencakup penentuan jarak grid dan pusat grid sesuai dengan pengaturan yang digunakan selama validasi. Dianalisis untuk mengamankan koneksi pengujian. Tujuannya untuk mengukur afinitas pengikatan daerah tempat pengikatan dan mengetahui interaksi pengikatan yang terjadi antara benda kerja dengan senyawa uji. Interpretasi hasil berdasarkan nilai dan analisis energi bebas ikatan (ΔG) dan konstanta inhibisi (K_i). Nilai (ΔG dan K_i) mengacu pada afinitas pengikatan selama pembentukan interaksi untuk menentukan tempat interaksi antara senyawa uji dan tujuan penelitian (Elsiana et al., 2023).

Tahapan penambatan molekul adalah sebagai berikut:

- a. Pencarian algoritma, bertujuan untuk menentukan posisi ligan yang paling relatif stabil terhadap reseptornya guna mengambil kompleks ligan yang terbentuk. Ikatan dihasilkan dari interaksi antara residu asam amino dan gugus fungsi. Setiap jarak farmakofor dalam protein dan ligan dihitung kecocokannya. Konformasi ligan baru ditentukan oleh matriks jarak antara farmakofor dan atom ligan yang bersesuaian. Sifat kimia seperti donor dan akseptor ikatan hidrogen dapat diperhitungkan pada saat perpaduan.

Algoritma pencocokan memiliki keunggulan kecepatan. Oleh karena itu, dapat digunakan untuk meningkatkan senyawa bahan aktif (Andrian, 1995).

- b. Scoring, bertujuan untuk menghitung dan memprediksi afinitas pengikatan antara protein dan ligan yang terbentuk. Skor penilaian diberikan pada masing-masing pose yang akan diurutkan dan senyawa uji dengan skor tertinggi ditetapkan sebagai pose ligan dengan protein yang paling sesuai.

2.10.2. Parameter Penambatan molekul

Parameter Penambatan Molekul sebagai berikut:

1. Energi Bebas Ikatan (ΔG)

Energi ikatan bebas dapat menunjukkan kestabilan ikatan dengan reseptor. Nilai ΔG yang lebih tinggi menunjukkan bahwa ikatan yang terbentuk kurang stabil, dan nilai ΔG yang lebih rendah menunjukkan stabilitas yang lebih besar, sehingga ikatan yang terbentuk semakin kuat (Arwansyah et al., 2014).

Persamaan energi bebas ikatan sebagai berikut:

$$\Delta G = \Delta EEL + \Delta EVDW + \Delta GPOL + \Delta GNP$$

(II. 1)

Keterangan tiga istilah pertama merujuk pada standar energi mekanika molekuler, yang mencakup interaksi ikatan elektrostatik dan *Van der Waals*. Gpol dan Gnp mewakili kontribusi polar dan non-polar terhadap energi bebas solvasi. Gpol biasanya didapatkan menggunakan persamaan PB (Poisson Boltzmann) atau model GB (Generalized Born), sedangkan istilah non polar diperkirakan melalui hubungan linier dengan luas permukaan pelarut. Istilah terakhir yaitu suhu absolut (T) yang dikalikan dengan entropi (S) (Munk et al., 2022).

2. Nilai Konstanta Inhibisi (Ki)

Analisis *docking* mengungkapkan bahwa konstanta inhibisi (Ki) berhubungan dengan afinitas pengikatan. Kemampuan suatu obat untuk berikatan dengan reseptor disebut afinitas pengikatan. Afinitas ligan yang tinggi ditunjukkan dengan nilai konstanta inhibisi (Ki) yang rendah (Fakih et al., 2022). Semakin kecil nilai Ki maka semakin baik pula suatu substrat untuk menghambat reseptor (Utami, 2020).

Persamaan nilai konstanta inhibisi (Ki) sebagai berikut:

$$K_i = e^{-\Delta G / RT}$$

(II. 2)

ΔG adalah energi penambatan molekul, R adalah konstanta gas, dan T adalah suhu. Konstanta inhibisi (Ki) adalah penghambatan terhadap aktivitas protein suatu ligan. Nilai Ki menginterpretasikan kestabilan kompleks yang terbentuk antara ligan dan reseptor. Semakin kecil nilai Ki, semakin tinggi afinitas ligan pada sisi aktif protein, sehingga aktivitas senyawa semakin baik (Pujiastuti, 2017).

3. Interaksi Ikatan

Dalam pendekatan empiris, energi ikatan terurai menjadi komponen-komponen energi seperti, ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik (Putra, 2022).

a. Ikatan Hidrogen

Ikatan hidrogen adalah ikatan yang dapat berinteraksi antara ligan dan protein. Ikatan hidrogen ini terbentuk karena adanya gugus donor ikatan hidrogen dan gugus akseptor ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen merupakan interaksi pengikatan terkuat ketika molekul berada dalam orientasi interaksi tipe ikatan kapasitif. Namun pada kondisi normal, ikatan hidrogen tidak mudah lepas dari situs aktifnya dan tidak bersifat permanen sehingga menjadikannya salah satu ikatan terbaik untuk interaksi obat (Vinsiah & Fadhilah, 2018).

b. Ikatan Hidrofobik

Ikatan hidrofobik dapat menghasilkan pengikatan yang sangat lemah pada reseptor, berkisar antara 0,5 hingga 1 kkal/mol. Ikatan ini biasanya berkontribusi terhadap aviditas yang menarik ligan alami ke reseptor senyawa organik non polar. Obligasi tahan air ini disebut juga obligasi *Van der Waals*, yang menunjukkan kurang efektifnya ikatan ini untuk berikatan dengan binding site karena ikatan tersebut terlalu lemah dan mudah putus (Vinsiah & Fadhillah, 2018).

c. Ikatan *Van Der Waals*

Ikatan *van der waals* merupakan ikatan antara dua atom yang saling mendekati satu sama lain, kemudian kedua atom membentuk gaya tarik menarik yang lemah dan nonspesifik yang akan menyebabkan interaksi *van der waals* (Vinsiah & Fadhillah, 2018).

2.11. Validasi Penambatan Molekul

Validasi penambatan molekul bertujuan untuk mendapatkan pengaturan metode penambatan yang valid. Validasi penambatan molekul dilakukan menggunakan aplikasi Autodock dengan cara penambatan ulang ligan alami terhadap protein target. Konformasi dan tempat ligan berinteraksi ditentukan dengan pengaturan posisi *grid box*. Dikatakan valid jika hasil penambatan ulang pada pose pengikatan paling baik mendapatkan nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) $< 2\text{\AA}$. Hasil akhir pengaturan *grid box* tersebut akan digunakan dalam metode penambatan molekul senyawa uji (Sebastian, 2018).

Nilai RMSD dalam bioinformatika dan studi konformasi digunakan untuk pengukuran deviasi rata-rata akar kuadrat dari posisi atom, yang digunakan untuk mengukur kesamaan koordinat dalam struktur 3D. nilai RMSD sering digunakan untuk pengukuran secara kuantitatif dalam kesamaan dua atau lebih molekul. Kegunaan nilai RMSD dalam penambatan molekul yaitu untuk mempelajari konfigurasi vektor ligan ketika terikat pada makromolekul dengan melihat tumpang

tindih hasil penambatan yang diulangi. Model struktur dinyatakan semakin baik dan menyerupai struktur aslinya, disaat nilai RMSD yang didapatkan semakin rendah atau $\leq 2\text{\AA}$ (Sebastian, 2018).

2.12. Visualisasi Penambatan Molekul

Visualisasi penambatan molekul menggambar interaksi ligan dengan protein yang membentuk ikatan intermolekul dengan residu asam amino. Ada tiga dasar visualisasi yaitu atomik, permukaan dan representasi grid. Representasi atom biasanya digunakan saat penilaian berdasarkan fungsi energy potensial dan paling banyak digunakan dalam visualisasi. Metode permukaan mewakili topografi molekul menggunakan fungsi geometric. Metode grid menjelaskan molekul menggunakan diskrit 3D, fungsi yang membedakan permukaan dari interior dari molekul target (Siwoski dkk., 2014).

2.13. Simulasi Dinamika Molekul

Simulasi dinamika molekul adalah metode komputer untuk menganalisis kestabilan interaksi antara ligan dengan protein dalam jangka waktu tertentu. Simulasi dinamika molekul digunakan untuk menggambarkan pola, kekuatan, dan aktivitas suatu protein target, yang merupakan reseptor obat dalam desain obat baru. Parameter simulasi dinamika molekul melibatkan jumlah ikatan hidrogen, dengan analisis persentase occupancy, serta *Root Mean Square Deviation* (RMSD) untuk mengamati stabilitas dan fleksibilitas protein. *Root Mean Square Fluctuation* (RMSF) mengukur perpindahan atom terhadap struktur referensi, sementara *Molecular Mechanics Generalized Born Surface Area* (MMGBSA) digunakan untuk memperoleh energi bebas dengan menghindari kompleksitas komputasi simulasi energi bebas. Pendekatan MMGBSA memperlakukan perubahan energi bebas sebagai jumlah komponen energi individu (Ihza Mahendra, 2021).

2.13.1. Tahapan Simulasi Dinamika Molekul

Simulasi dinamika molekul ini terdiri dari beberapa tahapan antara lain persiapan berkas ligan dan reseptor, pembuatan topologi dan koordinat ligan reseptor, solvasi, minimisasi, ekuilibrasi, produksi, dan interpretasi hasil simulasi dinamika molekul.

1. Persiapan file ligan reseptor, simulasi dinamika molekul dimulai dengan mempersiapkan berkas masukan, yaitu masing-masing ligand dan reseptor. Ligan yang digunakan adalah senyawa terbaik dari hasil penambatan molekul senyawa uji.
2. Pembuatan topologi dan koordinat, pembuatan dibuat melalui berkas ligan, reseptor, dan kompleks ligan-reseptor dalam kondisi vakum dan dalam pelarut air. Tahapan topologi menggambarkan susunan atom-atom pada suatu molekul susunannya tidak mengalami perubahan baik dari awal sampai akhir simulasi namun posisinya berubah. Tahapan ini dilakukan agar simulasi berlangsung pada susunan atom yang tetap dan tidak ada perubahan struktur atom-atom backbone residu maupun ligan.
3. Solvasi, sistem dilarutkan dalam suatu atom model pelarut air. Model air digunakan supaya ligan-reseptor dilarutkan dalam suatu model air tujuannya mengkoordinasikan sesuai dengan fisiologis tubuh manusia, yang kandungan terbesarnya adalah air.
4. Netralisasi, muatan listrik yang ditimbulkan oleh air dapat menimbulkan gangguan terhadap sistem, tujuan netralisasi adalah agar system menjadi keadaan netral, dengan penambahan ion seperti Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^- .
5. Minimisasi energi, untuk menghindari kontak antar atom yang tidak diinginkan (merelaksasi system). Terdiri dari tiga tahap yakni tahap pertama minimisasi terhadap molekul air saja, tahap kedua merupakan tahapan yang diberi tahapan terhadap proteinnya saja dan tahap terakhir merupakan minimisasi terhadap seluruh sistem yang tidak diberi tahanan agar minimisasinya maksimal.
6. Ekuilibrasi, dilakukan untuk menstabilkan suhu, volume dan tekanan pada system, sehingga system mencapai keadaan konstan sebelum menjalani

simulasi dinamika molekul. Ada empat parameter yang harus diamati setelah ekuilibrasi dilakukan. Keempat parameter tersebut adalah temperature, berat jenis, energi potensial, dan RMSD (*Root Mean Square Deviation*).

7. Produksi, sebelumnya dilakukan pengecekan terhadap temperature, berat jenis, energy potensial, dan RMSD. Parameter tersebut dilihat untuk menentukan apakah sistem telah siap untuk dilakukan proses produksi atau tidak.

2.13.2. Parameter Simulasi Dinamika Molekul

Parameter simulasi dinamika molekul yaitu sebagai berikut:

1. *Root Mean Square Deviation (RMSD)*

RMSD merupakan ukuran yang sering digunakan dalam geometri 3D molekul untuk membandingkan pergerakan atau perubahan molekul. RMSD digunakan untuk menganalisis gerakan dan memastikan stabilitas struktur pada waktu tertentu. Nilai gambaran RMSD digambarkan dalam bentuk grafik yang di plot dengan waktu.

2. *Root Mean Square Fluctuation (RMSF)*

RMSF merupakan ukuran untuk menggambarkan pergeseran setiap residu asam amino yang memberikan fleksibilitas protein. RMSF ditentukan dari waktu saat energi potensial memiliki fluktuasi minimal yakni dimulai dari 1 ns sampai akhir simulasi. Tujuan analisis RMSF adalah untuk melihat fluktuasi pada masing-masing residu, yang menggambarkan fleksibilitas residu asam amino tersebut.

3. *Molecular Mechanics Generalized Born Surface Area (MMGBSA)*

Metode aksesibilitas pelarut digunakan untuk mendapatkan energi bebas dari informasi struktural yang menghindari kompleksitas komputasi simulasi energi bebas. Pendekatan MMGBSA melibatkan parameter dalam perkiraan aktivitas, dimana perubahan energi bebas bersih diperlukan untuk jumlah komponen energi individu yang komprehensif, dengan dasar fisik masing - masing. Dalam simulasi dinamika molekul dilakukan untuk memperkirakan energi bebas ikatan, konstanta inhibisi juga menjadi faktor penting (Juwinar Suharti, 2021).

2.14. Perangkat Lunak

Perangkat lunak yang digunakan sebagai berikut:

1. Autodock

Autodock adalah perangkat lain yang dirancang untuk melakukan molekuler docking dan skrining pada senyawa kecil seperti reseptor dan makromolekul dengan struktur yang diketahui. Proses ini dilakukan, diimplementasikan, dan diuji dengan berbagai kumpulan protein-ligan. Autodock dibuat untuk membantu menghubungkan berbagai sistem komputer. Mekanisme kerjanya menerima file reseptor dan ligan dan kemudian memprediksi interaksi reseptor dan ligan. Pengguna biasanya memulai dengan reseptor dan kristalografi atau spektroskopi NMR, serta ligan yang dibuat dari string SMILES, atau bisa juga menggunakan metode lain (Prasetyo et al., 2019). Program utama Autodock terbagi menjadi 2, yaitu Autodock dan Autodock grid. Dalam melakukan docking molekuler ligan dan protein target dilakukan pendeskripsian set grid terlebih dahulu yang dibuat dengan Autogrid untuk mengaktifkan pemeriksaan kompatibilitas. Autodock membutuhkan ruang pencarian dalam sistem koordinat tempat ligan yang dianggap akan terkait dengan protein target. Dalam penelitian ini program yang digunakan adalah Autodock. Autodock dipilih dalam penelitian ini karena merupakan aplikasi open source pada sistem operasi Windows dan hasil data yang diperoleh memiliki kecepatan dan akurasi yang tinggi (Rachmania et al., 2016).

2. *Discovery Studio Visualizer (DSV)*

DSV adalah perangkat lunak paling komprehensif, terukur, dan kolaboratif untuk penelitian dalam bidang ilmu hayati. DSV merupakan salah satu program visualisasi molekul kecil dan besar. Visualisasi dapat berupa molekul 2D dan 3D dalam menampilkan interaksi ligan-protein.

3. Avogadro

Perangkat lunak yang dapat digunakan untuk membuat bentuk molekul tiga dimensi adalah Avogadro. Visualisasi dengan program Avogadro dapat membuat pemahaman konsep abstrak lebih mudah dipahami dan lebih

menyenangkan untuk menyampaikan pengetahuan tersebut. Avogadro memiliki fitur visualisasi molekul yang luar biasa dan akan sangat membantu siswa dalam mempelajari teori VSEPR dan kimia organik. Selain itu, dalam bidang komputasi, program Avogadro digunakan untuk menyusun input file (Yuanita et al., 2018).

4. Gromacs (Groningen Machine for Chemical Simulation)

Gromacs adalah aplikasi yang bisa memvisualkan struktur molekul dan dapat memvisualisasi struktur molekul dan dapat mensimulasi dinamika molekul. Gromacs dapat berjalan 1 kali lebih cepat dibandingkan dengan aplikasi dinamika molekul yang lainnya. Gromacs adalah aplikasi yang melakukan simulasi dinamika molekul berdasarkan pendekatan persamaan hukum newton dan mekanika klasik serta didasarkan pada mekanika kuantum. Model interaksi antarmolekul dalam gromacs didasarkan pada hukum, gaya antarmolekul, yang ekuivalen atau setara dengan fungsi energi potensial antar molekul. Pemilihan model interaksi antarmolekul sangat menentukan keakuratan simulasi dari perspektif fisika, karena dalam skala atomik interaksi pada setiap prinsip membutuhkan pendekatan kuantum yang mana berlaku prinsip ketidakpastian Heisenberg. Namun memakai pendekatan mekanika klasik dimana atom atau molekul dianggap sebagai titik masa (H. Prayoga, 2019).