

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kanker Usus Besar

Kanker usus besar merupakan penyakit kanker yang berkembang dan menyerang pada organ usus besar dalam sistem pencernaan (Sukhla *et al.*, 2022). Usus besar terdiri dari empat lapisan yakni lapisan mukosa, lapisan submukosa, lapisan muskularis propria dan lapisan serosa. Lapisan mukosa berada pada bagian terdalam usus besar dan berperan dalam produksi lendir yang membantu jalannya sisa pencernaan. Lapisan submukosa terdiri dari pembuluh darah, saraf dan jaringan ikat. Lapisan muskularis propria terdiri dari lapisan otot yang dapat berkotraksi sehingga menghasilkan gerakan mendorong sisa pencernaan atau yang disebut dengan gerakan peristaltik. Lapisan serosa sebagai lapisan terluar dari usus besar berperan dalam produksi cairan pelumas sehingga dapat melindungi usus besar dari kerusakan akibat kontak dengan organ lain (Putri, 2023).

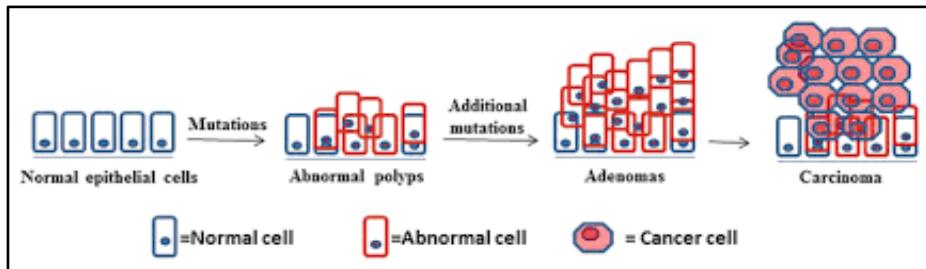
Pada sebagian besar angka kejadian kanker usus besar, kemunculannya berawal dari sel-sel mukosa usus. Hal ini diakibatkan karena sel-sel tersebut aktif berganti (degenerasi) menjadi sel baru ketika terjadi pengelupasan dalam proses pencernaan. Dipengaruhi oleh beberapa faktor resiko, peristiwa tersebut memungkinkan sel-sel mukosa menjadi hilang kendali atas siklus sel sehingga mengakibatkan kemunculan dan perkembangan sel kanker (Sukhla *et al.*, 2022).

2.1.1 Patofisiologi Kanker Usus Besar

Pembentukan kanker atau disebut juga dengan karsinogenesis merupakan kejadian abnormal pembelahan sel (mitosis) yang tidak terkendali dan menyebabkan gangguan hingga kematian sel (apoptosis). Empat dugaan munculnya kanker usus besar diantaranya meliputi kerusakan struktur DNA, perubahan epigenetik, stabilitas genetic, hingga faktor keturunan (Susanti *et al.*, 2023).

Proses perkembangan kanker usus besar merupakan serangkaian tahapan yang meliputi berbagai aspek perubahan baik secara histologis, morfologis, ataupun genetis dari waktu ke waktu. Permulaan kanker usus besar umumnya terjadi di lapisan mukosa. Pengaruh dari faktor resiko, menyebabkan sel epitel

normal berubah dan berkembang pada mukosa usus sehingga menonjol kedalam lumen usus yang kemudian disebut polip (Sukhla *et al.*, 2022).



Gambar 1. Perkembangan kanker usus besar (Sukhla *et al.*, 2022).

Berdasarkan prevalensi kejadiannya, sebagian besar kanker usus besar berkembang melalui jalur adenoma-karsinoma. Jalur ini dapat dilihat pada Gambar 1, dimulai dari polip secara bertahap menjadi adenoma (tumor jinak) dan kemudian berujung terbentuknya karsinoma (tumor ganas) dan metastasis (Fazio *et al.*, 2017). Akan tetapi perkembangan dari adenoma jinak menjadi karsinoma dan metastasis berlangsung membutuhkan waktu melalui tahapan replikasi dan peningkatan sel hidup yang tidak normal sehingga sel menjadi hiperproliferatif (Sukhla *et al.*, 2022). Menurut Lenggogeni (2023), polip adenoma memerlukan 5-10 tahun untuk berkembang menjadi maglina (karsinoma epitel).

Setiap tubuh manusia mempunyai zat karsinogen (penyebab kanker). Aktifnya zat karsinogen menyebabkan perubahan dan gangguan fungsi sel menjadi sel otonom dan maglina. Perubahan maglina melewati tiga proses yakni inisiasi, promosi dan progresi. Kurangnya mengkonsumsi nutrisi akan memperlambat pengosongan usus dan menyebabkan tubuh menyerap zat karsinogen (Lenggogeni, 2023). Irmayati *et al.* (2022) mengemukakan kanker pada usus besar dapat menyebar dan berkembang melalui tiga cara diantaranya, melalui infiltrasi langsung pada organ terdekat; melalui kelenjar getah bening (limfa) serta dapat melalui aliran darah.

2.1.2 Faktor Resiko Kanker Usus Besar

Berbagai faktor resiko dapat memicu penyakit kanker usus besar. Tidak hanya faktor genetik tetapi juga lingkungan mempunyai pengaruh timbal balik (Miftahussurur dan Rezkitha, 2020). Sukhla *et al.* (2022) membagi daftar faktor

resiko kanker usus besar menjadi dua kelompok meliputi faktor yang dapat diubah dan tidak dapat diubah. Daftar tersebut dirincikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Faktor resiko kanker usus besar (Sukhla *et al.*, 2022)

Faktor yang dapat dimodifikasi	Faktor yang tidak dapat dimodifikasi
Pola makan yang tidak sehat	Genetik atau riwayat keluarga
Gaya hidup dengan aktifitas fisik yang rendah	Kelainan genetic seperti Hereditary nonpolyposis colon cancer (HNPCC)
Berat badan berlebih	Penderita kelainan Familial adenomatous polyposis (FAP)
Merokok	Tumbuhnya Colonic polyps/polip kolon
Mengkonsumsi alkohol	Penderita penyakit radang usus

Susanti *et al.* (2023) menambahkan, faktor resiko lain yang ikut terlibat dalam kanker kolon yakni etnis afrikan-amerika, konsumsi daging merah dan daging olahan, riwayat radiasi abdominal, pengobatan imunosupresan akibat dari transplantasi ginjal, penyakit diabetes mellitus resistensi insulin, dan faktor umur.

Faktor-faktor resiko seperti gaya hidup dan kebiasaan yang buruk, berpotensi menyebabkan terganggunya flora pada feses dan perubahan degradasi garam sehingga mengarah pada pembentukan kanker usus besar. Kanker yang terjadi pada bagian kanan usus besar mengakibatkan penambahan massa abdomen kanan, terganggunya proses reabsorpsi air, serta melebarnya lumen kolon. Pelebaran kolon mengakibatkan feses menjadi encer dan gangguan proses defekasi. Apabila kanker menyerang pada bagian kiri usus besar, lesi melingkar dan kemudian memicu obstruksi usus. Obstruksi usus mengakibatkan penyempitan usus dan berujung pada perdarahan tidak terkontrol saat defekasi (Irmayati *et al.*, 2022).

2.1.3 Stadium Klinis dan Pemeriksaan Diagnostik Kanker Usus Besar

Dikutip dari Engin (2020), stadium kanker usus besar menurut AJCC (*American Joint Committee on Cancer*) menggunakan sistem tahapan TNM yakni tahap T untuk pembentukan tumor primer; tahap N untuk pertumbuhan kanker pada kelenjar getah bening/*Node* dan tahap M untuk penyebaran atau metastasis pada tempat yang lebih jauh. Stadium tersebut dapat dilihat pada Tabel 2 berikut.

Tabel 2. Stadium kanker usus besar (Engin, 2020)

Tahap T
T0 : Tidak terdapat bukti tumor
Tis : Tumor/Karsinoma in situ
T1 : Tumor menginviasi lapisan submukosa
T2 : Tumor menginviasi lapisan muskularis propria
T3 : Tumor menginviasi hingga jaringan perikolorektal
T3a : invasi sel tumor berukuran $\leq 1\text{ mm}$
T3b : invasi sel tumor berukuran 1-5 mm
T3c : invasi sel tumor berukuran $\geq 6-15\text{ mm}$
T3d : invasi sel tumor berukuran $\geq 15\text{ mm}$
T4a : Tumor menembus lapisan peritoneum visceral
T4b : Tumor menginviasi organ terdekat
Tahap N
N0 : Tidak terdapat bukti metastasis pada kelenjar getah bening
N1a : Metastasis pada satu kelenjar getah bening regional
N1b : Metastasis pada 2-3 kelenjar getah bening regional
N1c : Tumor mengendap di jaringan subserosa
N2a : Metastasis pada 4-6 kelenjar getah bening regional
N2b : Metastasis pada ≥ 7 kelenjar getah bening regional
Tahap M
M0 : Metastasis tidak menyebar pada kelenjar getah bening yang jauh
M1a : Metastasis terjadi hanya pada satu organ
M1b : Metastasis pada lebih dari satu organ
M1c : Metastasis pada peritoneum dengan atau tanpa keterlibatan organ lain

Pemeriksaan penting dilakukan untuk menentukan pengobatan atau terapi yang cocok sesuai dengan tingkatan ataupun jenis kanker usus besar yang diderita seseorang. Menurut Ruggieri dan Tolentino (2011) terdapat beberapa pemeriksaan penunjang yang dapat dilakukan untuk menegakkan diagnosis dan keparahan kanker usus besar, meliputi riwayat kesehatan, *Fecal Occult Blood Test* (FOBT), tes DNA tinja, tes darah lainnya, kolonoskopi, sigmoidoskopi, CT Scan, MRI

Scan, *Positron Emission Tomography* (PET), biopsi, dan tes substansi kanker. NCCN (2017) juga merangkum pemeriksaan kanker usus besar yang menyesuaikan pada tahap dan stadium kanker yang diderita.

Gambaran umum pengobatan kanker menurut NCCN (2017) terdiri dari tindakan bedah/operasi, tindakan kemoterapi/obat terapi yang ditargetkan, tindakan terapi radiasi, tindakan ablasi, serta tindakan embolisasi.

a. Tindakan bedah/operasi

Menurut Sukhla *et al.* (2022) untuk kanker nonmetastatik, pembedahan adalah pilihan utama pertama untuk mengobati kanker usus besar dengan menilai usia, kondisi, dan stadium tumor pasien. Berdasarkan pada ukurannya, kasus kanker dini perawatan bedahnya seperti polipektomi, reseksi mukosa endoskopi serta operasi laparoskopi. Akan tetapi pada kasus kanker usus besar tingkat lanjut, pendekatan tindakan bedahnya adalah kolektomi serta limfadenektomi. Namun pada pasien kanker yang telah menyebar secara invasif maka pembedahan dianggap tidak efektif.

b. Tindakan terapi radiasi

Terapi radiasi merupakan salah satu terapi pengobatan kanker menggunakan sinar berenergi tinggi yang dapat membunuh dan menghentikan perkembangan sel kanker. Terapi radiasi fokus pada menghilangkan sel kanker dan menyelamatkan sel sehat disekitarnya. Terapi ini biasanya lanjutan dari operasi pengangkatan tumor primer (Ruggieri dan Tolentino, 2011).

c. Kemoterapi

Kemoterapi merupakan perawatan lini pertama kanker yang bersifat metastasis. Kemoterapi yang biasanya digunakan adalah kemoterapi kombinasi (Tabel 3). Kemoterapi merupakan pengobatan dengan mekanisme yang berbeda sesuai dengan kategori agen kemoterapi konvensionalnya. Kategori Fluoropirimidin mempunyai mekanisme mengganggu sintesis DNA dan RNA sel kanker; kategori Irinotekan mempunyai mekanisme mencegah regulasi untaian DNA sel kanker terbelah; dan terakhir kategori Oksaliplatin mempunyai mekanisme

mengikat sel DNA kanker dan membentuk ikatan silang sehingga replikasi dan transkripsi DNA terhambat (Fazio *et al.*, 2017).

Tabel 3. Jenis-jenis kemoterapi (NCCN, 2017)

Agen Tunggal atau Kombinasi	Nama Generik	Nama Merek
5-FU/LV	5-FU = Fluorourasil	-
	LV = Leukovorin	-
Kapesitabin	Kapesitabin	Xeloda®
CAPEOX	CAPE = Kapesitabin	Xeloda®
	OX = Oksaliplatin	Eloxatin®
FOLFIRI	FOL = leukovorin	-
	F = Fluorourasil	-
	IRI = Irinotekan	Kamptosar®
FOLFOX	FOL = leukovorin	-
	F = Fluorourasil	-
	OX = Oksaliplatin	Eloxatin®
FOLFOXIRI	FOL = leukovorin	-
	F = Fluorourasil	-
	OX = Oksaliplatin	Eloxatin®
Irinotekan	IRI = Irinotekan	Kamptosar®
	Trifluridin + Tipirasil	Lonsurf®

d. Tindakan ablasi

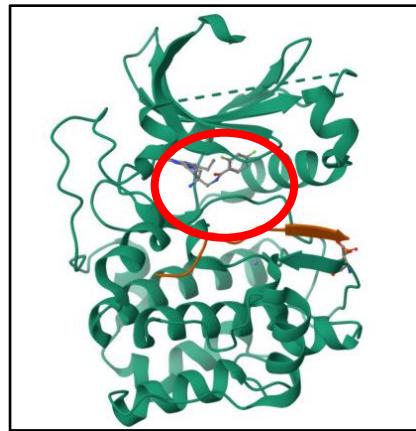
Ablasi adalah tindakan menghancurkan tumor kecil dengan menggunakan gelombang frekuensi tinggi yang menghasilkan panas intens untuk membunuh sel kanker. Mekanisme prosesnya adalah dengan memasukkan jarum elektroda tepat dimana tumor berada dan melalui elektroda tersebut panas yang dihasilkan dapat menghancurkan sel kanker (Ruggieri dan Tolentino, 2011).

e. Tindakan embolisasi

Tindakan embolisasi adalah tindakan menghambat atau menyumbat aliran darah menuju area kanker usus besar. Tindakan ini dilakukan dengan memasukkan partikel-partikel tertentu menggunakan selang atau kateter

melalui pembuluh darah. Partikel tersebut akan menghalangi aliran darah ke tumor sehingga sel kanker tidak mendapatkan suplai makanan dan kemudian mati (NCCN, 2017).

2.2 Reseptor Protein Kinase B (AKT1)



Gambar 2. Struktur reseptor protein Kinase B (AKT1) (3MVH) (RCSB Protein Data Bank, 2024)

Classification	: Transferase
Organism(s)	: <i>Homo sapiens</i>
Method	: X-Ray Diffraction
Resolution	: 2.01 Å
Ligan alami	: <i>N</i> -{[(3 <i>S</i>)-3-amino-1-(5-ethyl-7 <i>H</i> -pyrrolo[2,3 <i>d</i>]pyrimidin-4-yl)pyrrolidin-3-yl]methyl}-2,4-difluorobenzamide
Released	: 2010-06-02

(Sumber : RCSB Protein Data Bank, 2024)

2.2.1 Peran Reseptor Kinase B

Protein kinase B atau disingkat PKB dikenal juga dengan istilah AKT termasuk dalam kelompok jenis protein tingkat seluler (Tian *et al.*, 2024). Pada regulasi sel, jalur PI3K-AKT berperan dalam proses metabolisme, keberlangsungan hidup suatu sel, proses diferensiasi, proses migrasi sel, serta berperan dalam pengaturan respon imun (Perez-Nunez *et al.*, 2024). AKT sebagai simpul pusat dalam jalur PI3K juga berperan dalam pembentukan tumor, angiogenesis serta pensinyalan insulin (Tian *et al.*, 2024).

2.2.2 Proses Pengaktifan Reseptor Kinase B (AKT1)

Pada prosesnya, AKT diaktifkan oleh RTK/Reseptor Tirosin Kinase, reseptor sitokin, reseptor berpasangan protein G (GPCR), reseptor sel B dan T serta rangsangan lain sehingga merangsang pembentukan fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfat (PIP3) melalui fosfoinositida-3-kinase (PI3K). PIP3 berperan mengatur beragam molekul efektor termasuk golongan protein AKT dari kinase ongkogenik yang disebut AKT1, AKT2 dan AKT3 (Islam *et al.*, 2023). Ketiga isoform AKT tersebut diekspresikan secara luas dan menjadi perantara beberapa peristiwa seluler dibawah kendali PI3K (Tian *et al.*, 2024). Aktivasi AKT1 sangat bergantung pada jalur PI3K. Akibat peningkatan PIP3 oleh PI3K, memungkinkan aktivasi AKT1 melalui proses fosforilasi pada residunya Ser473 dan Thr308 (p-AKT) (Islam *et al.*, 2023).

2.2.3 Hubungan Reseptor Kinase B terhadap Kanker

AKT mulanya ditemukan sebagai proto-ongkogen (gen normal yang berperan dalam tumbuh kembang dan kelangsungan hidup suatu sel). Migrasi sel dan aktivasi AKT yang tidak normal merupakan salah satu faktor menuju invasi sel dalam proses patofisiologi kanker, termasuk pada kanker usus besar. Beberapa penelitian terdahulu telah melaporkan AKT sebagai subjek penelitian dalam jalur pensinyalan transduksi PI3K dan menjadi target dalam pengobatan kanker. Pada penelitian Tian *et al.* (2024), AKT dan komponen p-AKT dideteksi perubahannya terhadap garis sel kanker kolorektal manusia. Penurunan kadar p-AKT menunjukkan bahwa poliferasi sel kanker terhambat dan deteksi AKT dilaporkan meningkatkan kelangsungan hidup sel dengan menghambat proses apoptosis (Tian *et al.*, 2024).

2.3 Tanaman *Ulva lactuca*



Gambar 3. Tanaman *Ulva lactuca* (van Ginneken dan de Vries, 2018)

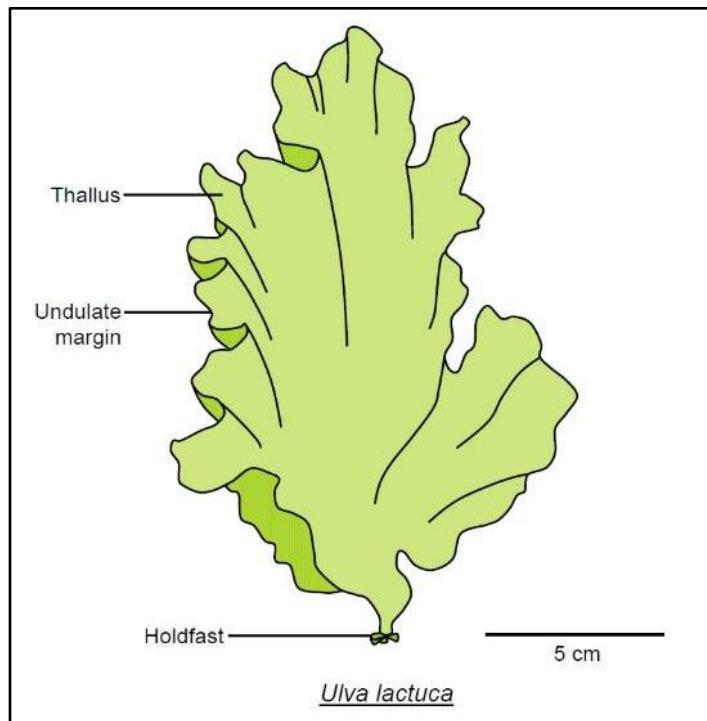
Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Viridiplantae
Divisi	: Chlorophyta
Subdivisi	: Chlorophytina
Kelas	: Ulvophyceae
Order	: Ulvales
Famili	: Ulvaceae
Genus	: Ulva
Spesies	: <i>Ulva lactuca</i>

(WoRMS, 2024)

Ulva lactuca termasuk kedalam kelompok alga hijau yang dapat tumbuh dan mudah dijumpai di daerah subtropis hingga tropis di seluruh dunia. Alga ini tumbuh dengan cara menempel pada substrat di dasar laut seperti yang terlihat pada Gambar 3 namun dapat juga ditemui mengapung pada permukaan air dan pesisir pantai karena sifatnya mudah terlepas dari substrat tersebut. Pada perairan Indonesia, *Ulva lactuca* banyak hidup di pesisir pantai bagian timur (Adiansyah *et al.*, 2024). Pada ekosistem laut, alga *Ulva lactuca* berperan sebagai produsen utama penyedia makanan bagi organisme kecil. Bagi dunia industri, alga hijau ini dimanfaatkan juga sebagai bahan dalam pembuatan beberapa industri pangan serta kosmetik dan farmasi (Adiansyah *et al.*, 2024).

2.3.1 Morfologi *Ulva lactuca*

Ilustrasi pada Gambar 4 menggambarkan *Ulva lactuca* sebagai alga yang memiliki bentuk daun seperti lembaran pedang melipat (*strap-shaped blades*) dengan permukaan lembut, tepian bergelombang tipis serta memiliki warna hijau terang (Adiansyah *et al.*, 2024).



Gambar 4. Morfologi *Ulva lactuca* (Cronodon, 2013)

Talus *Ulva lactuca* berupa lembaran sangat tipis hingga dapat ditembus cahaya matahari. Hal ini dikarenakan talusnya hanya setebal dua lapisan sel. Ukuran talusnya beragam dimulai dari 5-50 cm bahkan mencapai > 1 m (Cronodon, 2013). Dikarenakan bentuk talusnya yang bergelombang, alga ini disebut selada laut karena morfologisnya mirip dengan selada (Breure, 2014).

2.3.2 Kandungan Metabolit *Ulva lactuca*

Metabolit sekunder tanaman *Ulva lactuca* telah dilaporkan pada beberapa penelitian. Manjusha *et al.* (2016) melakukan skrining fitokimia sederhana pada ekstrak *Ulva lactuca* dalam berbagai pelarut. Hasil dari skrinning tersebut tertera pada Tabel 4. Penelitian lain melaporkan senyawa compound *Ulva lactuca* hasil menggunakan instrument GC-MS yang tercantum pada Tabel 5.

Tabel 4 Skrining fitokimia berbagai ekstrak *Ulva lactuca* (Manjusha *et al.*, 2016).

Pengujian	Metanol	Etil Asetat	Kloroform	Pertoleum Eter	Aseton	Heksana
Saponin	+	+	+	+	+	+
Flavonoid	-	-	-	+	+	+
Steroid	+	-	-	-	-	-
Tanin	+	-	-	-	-	-
Alkaloid	-	+	+	-	-	-
Terpenoid	-	+	+	+	+	+
Fenol	-	-	+	+	+	+

Tabel 5. Identifikasi senyawa berbagai ekstrak *Ulva lactuca*

No	Compound	Rumus Molekul	Golongan
Ekstrak methanol:heksana (1:1) <i>Ulva lactuca</i> (Mofeed <i>et al.</i>, 2021)			
1.	Benzoic acid, hydrazide	C ₇ H ₈ N ₂ O	Aldehid
2.	3-Ethyl-4-Methyl-1h-Pyrrole-2,5-Dione	C ₇ H ₉ NO ₂	Keton
3.	Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-	C ₁₄ H ₂₂ O	Fenolik
4.	Dihydroactinidiolide	C ₁₁ H ₁₆ O ₂	Keton
5.	Tricyclo [4.3.1.1(3,8)] undecane, 1-methoxy-	C ₁₂ H ₂₀ O	Hidrokarbon
6.	1,6,6-Trimethyl-7-(3-oxobut-1-enyl)-3,8-dioxatricyclo [5.1.0.0(2,4)] octan-5-one	C ₁₃ H ₁₆ O ₄	Keton
7.	9,10-Dimethyltricyclo [4.2.1.1(2,5)] decane-9,10-diol	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	Alkohol
8.	E-2-Tetradecen-1-ol	C ₁₄ H ₂₈ O	Alkohol
9.	Diisobutyl Phthalate	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	Ester
10.	Phytol	C ₂₀ H ₄₀ O	Terpen
11.	7,9-Di-tert-butyl-1-oxaspiro(4,5)deca-6,9-diene-2,8-dione	C ₁₇ H ₂₄	Keton
12.	1,2-Benzenedicarboxylic acid, diisooctyl ester (Diisooctyl phthalate)	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	Ester
Ekstrak etanol <i>Ulva lactuca</i> (Mohamed <i>et al.</i>, 2023)			
1.	Benzoic acid, hydrazide	C ₇ H ₈ N ₂ O	Aldehid
2.	Benzyl alcohol	C ₇ H ₈ O	Aromatik
3.	3-Ethyl-4-Methyl-1h-Pyrrole-2,5-Dione	C ₇ H ₉ NO ₂	Keton
4.	E-2-Tetradecen-1-ol	C ₁₄ H ₂₈ O	Alkohol
5.	Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-	C ₁₄ H ₂₂ O	Fenolik
6.	Hexadecanoic acid methyl ester	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	As. palmitat
7.	Heptadecane.2.6,10,15-tetramethyl	C ₂₁ H ₄₄	As. stearat
8.	Dodecan.2.7.10-trimethyl	C ₁₅ H ₃₂	Hidrokarbon
9.	Octadeconic acid methyl ester	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	As. lemak

2.3.3 Aktivitas Farmakologi *Ulva lactuca*

Berdarkan pada berbagai penelitian, tanaman *Ulva lactuca* memiliki manfaat dan aktivitas farmakologi yang beragam. *Ulva lactuca* dilaporkan mempunyai kemampuan antioksidan, antivirus, antibakteri, antiinflamasi, anti kanker usus besar dan anti kanker payudara, seperti yang tertera pada Tabel 6.

Tabel 6. Aktivitas Farmakologi *Ulva lactuca*

Aktivitas Farmakologi	Referensi
Antikanker usus besar (HCT-116)	(Archarya <i>et al.</i> , 2021)
Antioksidan dan antikanker darah (MOLT-3)	(Chidambararajan <i>et al.</i> , 2019)
Antikanker usus besar (Caco-2 dan HT-29)	(Gonzalez-Ballesterosa <i>et al.</i> , 2018)
Antikanker kulit (SKMEL), Antibakteri, antiinflamasi dan antioksidan	(Manjusha <i>et al.</i> , 2016)
Antivirus, Antimikroba, Antioksidan, dan Antikanker paru (PC-3 dan A-549)	(Maray <i>et al.</i> , 2023)
Antikanker usus besar (HCT-116) dan antikanker payudara (MCF-7)	(Mofeed <i>et al.</i> , 2021)
Antikanker usus besar (Caco-2)	(Mohamed <i>et al.</i> , 2023)
Antioksidan, antikanker usus besar (HCT-116), dan antimetastasis	(Monla <i>et al.</i> , 2021)

2.4 Pengembangan Obat dengan *In Silico*

Obat dapat dipelajari perkembangannya melalui berbagai pendekatan, salah satunya melalui pendekatan *in silico*. *In silico* adalah suatu pendekatan studi yang pada prinsipnya memanfaatkan kemajuan teknologi berbasis pada informasi yang tersedia pada basis data tertentu (Khaerunnisa *et al.*, 2020). Walaupun pada pengerjaannya dinilai lebih mudah dan praktis dalam mendesain obat, hasil pendekatan *in silico* termasuk *predicted result*, artinya diperlukan serangkaian pendekatan studi lain secara *wet lab* untuk membuktikannya (Santoso, 2022).

Pengembangan obat melalui *in silico* mengimplementasikan gabungan bidang ilmu komputer, biologi, fisika serta matematika yang menghasilkan data seputar bidang biologi. Dalam dunia kesehatan, metode pendekatan *in silico* sering dipakai dalam penelitian seperti dalam memahami dan mempelajari suatu penyakit, keunikan adaptasi, serta perkembangan obat (Santoso, 2022).

2.5 *Lipinski's Rule of Five*

Lipinski's rule of five atau lima aturan Lipinski adalah satu peraturan yang umum digunakan sebagai tahapan awal dalam menyeleksi kandidat ligan dari sekian banyak ligan yang dimiliki oleh suatu sampel. Melalui peraturan Lipinski, sekian ligan yang diperoleh tergolong dalam ligan yang tergolong stabil terhadap protein target (Chairunisa *et al.*, 2023). Lima aturan Lipinski berisikan berat molekul < 500 kDa, jumlah donor ikatan hydrogen <5, akseptor ikatan hydrogen <10, nilai log P <5 serta reaktifitas molar berada pada rentang 40-130 (Lipinski *et al.*, 2001). Berdasarkan analisis tersebut bahwa calon ligan yang melanggar terhadap aturan tersebut maka ligan tersebut menunjukkan permesiasi/penyerapan yang buruk dan tergolong pada bioavailabilitas obat yang kurang baik (Cavasotto, 2016).

2.6 *Network Pharmacology*

Kemajuan teknologi dalam proses penemuan obat telah melahirkan banyak pendekatan baru. Konsep pengembangan obat dengan berbagai target terhadap penyakit kompleks dapat menjadi jawaban yang efisien dalam pemilihan terapi yang efektif. Hopkins (2007) menciptakan istilah “*network pharmacology*” atau jejaring farmakologi sebagai pendekatan baru yang sistematis mengenai bagaimana menargetkan obat yang bekerja secara sinergis terhadap penyakit tertentu. Paradigma “satu penyakit-satu obat-satu target” digantikan oleh paradigm baru “satu penyakit-satu obat-beberapa target”. Sistem *network pharmacology* tersusun atas berbagai unsur diantaranya komponen bioaktif, protein target dan gen penyakit dalam bentuk saringan informasi (Praditapuspa *et al.*, 2024). Pendekatan tersebut hingga saat ini terus berkembang serta populer digunakan untuk memahami mekanisme kerja calon obat baru yang berasal dari tanaman (Noor *et al.*, 2022).

Network pharmacology menjadi pendekatan penunjang dalam modernitas penemuan obat yang berasal dari tanaman. Hal ini dikarenakan *network pharmacology* mampu menyusun model jarigan informasi secara sistematis dan memperkirakan target farmakologis dari komponen bioaktif tanaman terhadap penyakit tertentu dengan menggunakan kumpulan data secara komputasi.

Perancangan *network pharmacology* dapat menganalisis kapan dan dimana satu target dapat menekan karakteristik suatu penyakit, memprediksi efek samping obat, serta membantu molekul obat menemukan tempat berikatan dengan targetnya berbasis data. Hal ini sangat membantu perancangan obat sehingga mempunyai dasar ilmiah sebelum dilakukannya penelitian berbasis laboratorium. Beberapa basis data dan perangkat lunak yang berhubungan dengan *network pharmacology* diantaranya DrugBank, GeneCards, NetPath, PDB, PubChem, PubMed, STRING-DB, SwissTargetPrediction, Ucinet, dsb (Noor *et al.*, 2022).

2.7 Penambatan Molekul

Kemajuan teknologi dalam mempelajari struktur senyawa obat serta bagaimana obat berinteraksi secara mendetail, mendukung munculnya metode penambatan molekul (*molecular docking*) (Istyastono, 2023). Penambatan molekul adalah suatu metode yang mempelajari hal-hal mengenai interaksi molekul dan pengaruhnya melalui teknik komputasi. Beberapa literatur juga menyebutkan bahwa penambatan molekul termasuk dalam metode paling popular dan banyak digunakan dalam pengembangan desain obat terkini (Santoso, 2022).

Penambatan molekul dapat melihat gambaran atau formasi optimal molekul dalam berikatan dengan molekul lainnya melalui prinsip *lock and key*. Melalui metode ini, sisi aktif (*binding site*) pada molekul seperti senyawa obat (ligan) dapat diprediksi sehingga akan menjadi maksimal dalam berinteraksi atau berikatan dengan molekul target (reseptor) (Putra, 2022). Penambatan molekul juga dapat menggunakan prinsip *induced fit*. Prinsip ini mengemukakan interaksi antara dua molekul dengan berbeda ukuran yang memiliki kemampuan dalam penyesuaian bentuk dalam berikatan. Fokusnya adalah menggambarkan interaksi secara komputasi sehingga mendapatkan posisi pengikatan atau geometri terbaik serta menghitung energi interaksi yang lebih efektif dan efisien (Irawan *et al.*, 2024).

Penambatan molekul sangat membantu dalam kemajuan penemuan senyawa obat terbaru berbasis struktur (*structure based drug design*) (Istyastono, 2023). Hasil dari penambatan molekul adalah prediksi pengikatan, orientasi, kesesuaian, serta hubungan dan pengaruh antar molekul (Putra, 2022). Data hasil

tersebut perlu ditunjang dengan penelitian pendukung berbasis identifikasi dan optimasi, seperti analisis farmakofor, analisis dinamika molekuler, hingga sampai pada tahap pengujian praklinik (Khaerunnisa *et al.*, 2020).

2.7.1 Parameter Penambatan Molekul

Penambatan molekul memiliki parameter hitung diantaranya:

- Perubahan energi bebas (ΔG)

Penilaian penambatan ligan pada reseptor dapat dihitung melalui energi bebas Gibbs yang menyatakan besaran kespontanan interaksi. Afinitas ligan ditunjukkan oleh ΔG . Semakin negatif nilai ΔG maka menunjukkan afinitas ligan yang semakin tinggi (Pratama, 2016). Energi ini dapat dihitung melalui persamaan (II.I).

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (\text{II.I})$$

Keterangan :

ΔG = perubahan energi bebas

ΔH = perubahan entalpi

T = suhu/tempratur

ΔS = perubahan entropi

Berdasarkan pada eksperimental, perubahan energi bebas berhubungan langsung dengan K_i dalam memprediksi kemampuan senyawa. Rumus hubungan energi bebas dan K_i dapat dihitung dengan persamaan (II.II) (Muttaqin *et al.*, 2019).

$$\Delta G = -RT \ln K_i \quad (\text{II.II})$$

Keterangan :

ΔG = perubahan energi bebas

R = konstanta gas universal

T = suhu/tempratur

K_i = konstanta inhibisi

- Konstanta inhibisi (K_i)

Konstanta inhibisi merupakan kemampuan daya hambat ligan terhadap makromolekul target. K_i memiliki nilai yang sebanding dengan perolehan *binding affinity* suatu kompleks. Semakin negatif *binding affinity* maka semakin kuat interaksi ikatan ligan-reseptor sehingga semakin baik pula kemampuan daya hambat ligan terhadap makromolekul target. Rumus hitung konstanta inhibsi dapat diperoleh dari persamaan (II.III) (Rosyidah *et al.*, 2023).

$$K_i = \exp(\Delta G/RT) \quad (\text{II.III})$$

Keterangan :

K_i = Konstanta inhibisi

ΔG = perubahan energi bebas

R = konstanta gas universal

T = suhu/tempratur

c. Interaksi Ikatan

Interaksi ikatan molekul memiliki variasi kekuatan ikatan. Setiap jenisnya, bergantung kepada struktur dari suatu molekul. Beberapa jenis interaksi ikatan tersebut diantaranya adalah sebagai berikut (Patrick, 2013).

- Ikatan Hidrogen, ikatan ini terjadi antara heteroatom yang mempunyai elektron berlebih dengan atom hidrogen yang kekurangan elektron. Peristiwa ini menyebabkan gugus fungsi tersebut mempunyai dua peran yakni sebagai donor atau sebagai akseptor. Heteromolekul yang dimaksud biasanya berupa atom oksigen dan nitrogen. Ikatan hidrogen merupakan ikatan yang terkuat.
- Ikatan Hidrofobik, ikatan ini terjadi ketika air tidak mungkin melarutkan bagian hidrofobik suatu molekul. Akibatnya molekul air berinteraksi dengan molekul nonpolarnya sehingga menghasilkan lapisan air yang mengelilingi sisi hidrofobik. Ikatan ini melibatkan perpindahan lapisan molekul air yang mengelilingi sehingga terjadinya peningkatan entropi yang dihasilkan berkontribusi pada energi

pengikatan keseluruhan. Ikatan ini tergolong lemah akan tetapi tetap lebih kuat dibandingkan ikatan Van der Waals.

- Ikatan Van der Waals, ikatan ini terjadi pada molekul dengan distribusi elektronik didaerah netral dan nonpolar yang tidak merata. Dipol dalam satu molekul dapat menginduksi dipol tetangga dan membentuk ikatan interaksi. Ikatan ini terjadi jika kedua molekul dalam keadaan sangat dekat. Ikatan ini termasuk ikatan yang lemah dan tidak stabil.

2.8 Dinamika Molekul

Analisis dinamika molekuler merupakan metode yang memberi gambaran mengenai unit terkecil dalam suatu molekul (atom) bergerak dari waktu ke waktu yang didasarkan pada model fisika, menstimulasikan interaksi antara keduanya dalam kondisi yang mendekati fisiologi tubuh (Putra dan Junaidin, 2022). Dinamika molekul juga dideskripsikan sebagai metode yang mengukur besaran gaya antar molekul secara spesifik serta pergerakan molekul secara komputasi. Metode ini erat kaitannya dengan hukum Newton dan penyelesaian persamaannya pada tingkat atomik. Perhitungannya didasarkan pada posisi dan kecepatan atom dalam interval waktu yang kecil dengan keberulangan hingga mencapai ratusan kali (Muchtaridi *et al.*, 2018).

Dinamika molekul dapat diterapkan dalam mencari sampel ruang konfigurasi berbasis perhitungan energi. Dengan dilakukannya dinamika molekul dapat menjadi langkah penyempurnaan *pascadocking* terutama dalam perhitungan fleksibilitas protein dan keberadaan molekul air dengan lebih baik (Cavassotto, 2016). Melalui dinamika molekul, beragam proses biomolekuler dapat terbaca, seperti perubahan konformasi, pelipatan molekul serta mengungkap semua posisi atom dalam sistem molekul. Metode ini juga bermanfaat dalam memberi gambaran terhadap respon biomolekuler seperti perubahan/mutasi, fosforilasi, protonasi, perubahan ligan tetapi dalam tingkat atomik (Putra dan Junaidin, 2022).

2.8.1 Simulasi Dinamika Molekul

Simulasi dinamika molekul dilakukan dengan tujuan agar mengetahui kestabilan interaksi kompleks ligan-reseptor dari senyawa terbaik hasil *docking*

dalam keadaan semirip mungkin dengan suasana fisiologis tubuh dalam waktu tertentu (Dinata *et al.*, 2023). Dinamika molekul dalam simulasinya diterapkan ketiga Hukum Newton, diantaranya (Muchatridi *et al.*, 2018) :

1. Partikel tetap diam atau bergerak dalam kecepatan tetap, kecuali jika menerima gaya dari luar (eksternal) dengan resultan gaya tidak sama dengan nol.
2. Partikel dengan massa (m) menerima gaya (F) maka partikel mengalami percepatan sebesar (a). Hubungan ini dirumuskan dengan persamaan (II.IV).

$$a = \frac{F}{m} \quad (\text{II.IV})$$

3. Partikel yang memberikan gaya pada partikel lain sebesar F maka partikel lain akan memberikan gaya kepada partikel awal sebesar $-F$.

Simulasi dinamika molekul dilakukan menggunakan perhitungan fase *space trajectory* komputer terhadap molekul menggunakan hukum klasik pergerakan. Sebagai awalan, simulasi, sistem ditetapkan dengan energi yang konstan dengan titik awalan adalah Hamiltonian. Berdasarkan analisisnya, untuk mendapatkan *velocity* (kecepatan) dan posisi, digunakan integrasi dua kali dari waktu 0 ke waktu t pada persamaan turunan orde kedua (Muchtaridi *et al.*, 2018).

Menurut Putra dan Junaidin (2022) tahapan simulasi dinamika molekul terbagi menjadi enam tahapan, diantaranya:

a. Penyiapan Topologi

Tahap ini disebut juga parameterisasi dimana topologi disiapkan dengan medan gaya Amber yang dapat ditemui pada program GROMACS dan pembuatan koordinat ligan. Tahap ini bertujuan untuk menetapkan simulasi pada posisi yang konstan (Dewi *et al.*, 2019).

b. Penambahan Ion

Tahap ini dilakukan dengan penambahan molekul air (solvasi) dalam jumlah tertentu dan penambahan ion-ion yang sesuai (Elfita *et al.*, 2022).

c. Minimasi Energi

Tahap ini bertujuan untuk mengurangi kejadian bentrok dan kontak antar atom dalam sistem dengan cara meminimasi terhadap molekul air. Sehingga sistem dilonggarkan melalui mengurangi energy potensial pada sistem dalam penemenuhan persyaratan simulasi (Elfita *et al.*, 2022).

d. Ekuilibrasi

Tahap ini disebut *Equilibration* atau kesetimbangan dikarenakan pada kondisi ini sistem telah berubah mencapai suhu yang diinginkan dari suhu 0°K menjadi 300°K. Pada tahap ini dilakukan beberapa tahapan hingga akhirnya suhu dan tekanan sistem ligan-reseptor dan molekul air menjadi konstan (Zubair *et al.*, 2020). Tahap ini bertujuan untuk mendapatkan titik ekuilibrium (Muchtaridi *et al.*, 2018).

e. Simulasi Produksi

Tahap ini merupakan tahap utama dan paling penting dalam simulasi dinamika molekul. Pada tahap ini semua sistem telah siap untuk melakukan simulasi dan dilakukan dalam 10 langkah dan membutuhkan waktu yang cukup lama (Zubair *et al.*, 2020). Tahapan ini berisi pemastian variabel dan parameter hingga diperolehnya hasil (Muchtariadi *et al.*, 2018).

f. Analisis dan Visualisasi Hasil

Tahap ini menghasilkan output dan berkas *trajectory* yang dianalisis dengan parameter diantaranya RMSF, RMSD, dan perubahan jarak interaksi (Zubair *et al.*, 2020).

2.8.2 Parameter Simulasi Dinamika Molekul

Parameter yang dapat dihitung dalam simulasi dinamika molekul sebagai evaluasi dan penilaian hasil simulasi MD adalah sebagai berikut:

a. *Root-Mean-Square Deviation* (RMSD)

RMSD adalah perhitungan yang dapat dilakukan dalam geometri 3D molekul yang mengukur simpangan posisi atom pada rantai utama dan menggambarkan keakuratan kompleks yang diproduksi (Saudale, 2020). Nilai RMSD dapat dihitung melalui persamaan (II.V). Melalui nilai ini, pergerakan dan perubahan kompleks hasil simulasi MD dapat

tergambaran terhadap tiap perubahan waktu. RMSD biasanya disajikan dalam bentuk grafik hasil dari plot antara RMSD terhadap waktu simulasi (Muttaqin *et al*, 2019). Nilai RMSD mempunyai tiga kelompok kategori. Nilai $\text{RMSD} \leq 2.0\text{\AA}$ menunjukkan posisi protein yang sudah akurat; nilai $2.0 > \text{\AA} \geq 3.0$ menunjukkan posisi protein terdapat penyimpangan akan tetapi masih dapat diterima; sedangkan nilai $\text{RMSD} > 3.0 \text{ \AA}$ menunjukkan posisi hasil simulasi salah (Chairunisa *et al*, 2023). RMSD ini dihitung antara dua set koordinat atomik, dalam hal ini, satu untuk struktur kristalografi (X_c , Y_c , Z_c) dan yang lain untuk koordinat atomik yang diperoleh dari simulasi docking (X_d , Y_d , Z_d), penjumlahan diambil dari semua N atom yang dibandingkan, persamaannya adalah sebagai berikut (Dias and de Azeved, 2008)

$$\text{RMSD} = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (X_{ci} - X_{di})^2 + (Y_{ci} - Y_{di})^2 + (Z_{ci} - Z_{di})^2} \quad (\text{II.V})$$

b. *Root-Mean-Square Fluctuation* (RMSF)

RMSF adalah pengukuran dari deviasi konformasi partikel serta beberapa posisi referensi dengan perhitungan dilakukan terhadap tiap residu asam amino penyusun protein. Hal ini menggambarkan fluktuasi atau ketidakstabilan pergerakan posisi residu asam amino pada sisi aktif selama proses simulasi MD (Muttaqin *et al*, 2019). Nilai keterberimaan RMSF menunjukkan bahwa semakin kecil nilai RMSF menunjukkan ikatan antara ligan dan residu semakin baik dengan syarat nilai RMSF $\leq 2 \text{ \AA}$ (Dinata *et al.*, 2023).

c. *Molecular Mechanics/Poisson Boltzmann Surface Area* (MM/PBSA) dan *Molecular Mechanics/Generalized Born Surface Area* (MM/GBSA)

Metode ini memproyeksikan energi bebas antara ligan dan reseptor melalui energi mekanika molekuler dengan Poisson-Boltzmann ataupun Generalized Born dan solvasi permukaan (Genheden & Ryde, 2015). Tujuan dari energi ikatan adalah untuk mengetahui kekuatan ikatan antara suatu senyawa dengan suatu protein. Penilaian perubahan energi bebas

ikatan (ΔG_{bind}) untuk kompleks protein-ligan dapat mengidentifikasi senyawa yang menjanjikan dengan afinitas pengikatan yang lebih tinggi dari senyawa lainnya (Salo-Ahen *et al.*, 2021). ΔG_{bind} dinyatakan baik apabila diperoleh perhitungan energi yang rendah atau yang lebih negatif karena menunjukkan afinitas paling baik (Dinata *et al.*, 2023). Rumus perhitungannya dapat dilihat pada persamaan (II.VI) (Salo-Ahen *et al.*, 2021).

$$\Delta G_{bind} = G_{kompleks} - G_{protein} - G_{ligan} \quad (\text{II.VI})$$

2.9 Perangkat Lunak

Perangkat lunak menjadi alat utama dalam penelitian berbasis *in silico*. Sesuai dengan kemajuan teknologi memperoleh, menilai, dan menganalisis serta memproses data hingga mendapatkan hasil dalam *in silico* diperlukan perangkat lunak yang cukup kompleks (Santoso, 2022). Alat komputasi berperan penting dalam membantu mengidentifikasi serta mempelajari interaksi tingkat molekuler, mengakaracterisasi structural dan lokasi pengikatan, memperkirakan energi bebas serta mengoptimalkan senyawa secara cepat, efektif dan efisien dalam pengembangan obat (Cavasotto, 2016).

2.9.1 Avogadro

Avogadro merupakan perangkat lunak yang digunakan untuk menghasilkan visualisasi dari struktur kimia molekul dalam bentuk 3D. Penggunaan umum dari Avogadro adalah pembuatan struktur molekul, pemformatan berkas masukan, serta analisis output dari beragam program kimia komputasional lainnya. Selain itu, Avogadro juga dapat digunakan dalam pemilihan bentuk paling stabil dari molekul atau yang disebut juga dengan optimasi. Melalui Avogadro, penemuan struktur molekul yang paling stabil dapat membantu simulasi dalam AutoDock saat penambahan molekul dengan reseptor target (Hanwell *et al.*, 2012).

2.9.2 AutoDock

AutoDock merupakan perangkat lunak yang dapat menjalankan simulasi penambahan molekul dalam meramalkan konformasi molekul yang optimal dengan molekul target. AutoDock menjadi alat yang efektif untuk skrining virtual

berbasis komputer dalam penemuan prospek farmasi. Peningkatan kinerja AutoDock yang dikombinasikan dengan komputer berkecepatan tinggi memungkinkan simulasi yang jauh lebih besar. Hal ini dikarenakan seluruh pustaka senyawa dapat disaring terhadap target yang relevan. Medan gaya energi bebas dalam AutoDock didasarkan pada medan gaya dalam mekanika molekuler yang mencakup ikatan hidrogen, elektrostatik, desolvasi, entropi, dsb. Medan gaya AutoDock telah dikalibrasi terhadap basis data yang kompleks dengan struktur dan konstanta pengikatan yang telah diketahui sehingga memungkinkan program ini dalam memprediksi energi bebas pengikatan. Saat simulasi docking berlangsung, metode berbasis grid digunakan untuk evaluasi energi. Energi interaksi dihitung terlebih dahulu dan kemudian digunakan tabel pencarian dalam mengevaluasi interaksi ligan-protien (Cosconati *et al.*, 2010).

Salah satu algoritma yang diimplementasikan pada AutoDock adalah algoritma genetika. Algoritma genetika merupakan pendekatan yang mengikuti prinsip-prinsip teori evolusi Darwin terkait seleksi alam dan produksi. Algoritma ini menerapkan rangkaian operasi genetika pada populasi kandidat yang ditentukan kemudian dilibatkan dalam permasalahan optimasi. Algoritma genetika digunakan secara luas pada proses penambatan molekul antara ligan-reseptor (Fuhrmann *et al.*, 2010). Dengan menerapkan algoritma genetika, posisi penambatan yang optimal pada output dapat diperoleh. Pendekatan ini berperan dalam proses rekombinasi dan pencarian konformasi protein terbaik. Adapun parameter yang digunakan dalam pendekatan ini yaitu ukuran populasi, peluang *crossover* dan peluang mutasi (Setiawan dan Irawan, 2017). Jenis algoritma genetik yang sering digunakan dalam penelitian *docking* adalah Algoritma Genetika Lamarckian (*LGA/Lamarckian Genetic Algorithm*). Dengan menggunakan LGA, proses penambatan molekul menjadi semakin efisien dan membutuhkan tahapan yang tidak terlalu banyak (Fuhrmann *et al.*, 2010).

2.9.3 SWISS MODEL

Swiss-Model merupakan basis data yang memfasilitasi pembuatan model protein dalam bentuk struktur 3D. Pada Swiss-Model, setiap data yang disetorkan akan diolah secara otomatis dan menghasilkan output berisi informasi lengkap terkait protein tersebut. Anotasi dan indeks yang diberikan, mendukung efisiensi pengumpulan data dengan kualitas yang tinggi. Teknik permodelan yang ditawarkan oleh Swiss-Model, menyediakan akses mudah ke model 3D dan memperbesar jangkauan pengguna untuk penerapannya dalam aplikasi lanjutan pengolahan protein (Waterhouse, *et al.*, 2018).

2.9.4 DSV

DSV atau *Discovery Studio Visualizer* merupakan perangkat lunak yang digunakan dalam proses preparasi ligan dan reseptor ataupun digunakan saat memvisualisasikan hasil penambatan molekul. Pada proses preparasi ligan, ikatan protein yang masih berikatan dihapus dan kemudian membuang molekul air yang masih terkandung didalamnya. Hasil preparasi ini selanjutnya disimpan sebagai format pdb dan digunakan dalam simulasi penambatan molekul (Al Huda *et al.*, 2020). Setelah proses *docking* ligan dan reseptor selesai, hasilnya kemudian divisualisasikan menggunakan DSV kembali dan disimpan sebagai format pdb. Selanjutnya dilakukan analisis visualisasi hasil dan dipelajari interaksi pengikatan antara ligan yang digunakan dan reseptor target (Damayanti *et al.*, 2022).

2.9.5 GROMACS

GROMACS atau *Groningen Machine for Chemical Simulation* merupakan salah satu perangkat lunak yang digunakan dalam menjalankan simulasi dinamika molekul. GROMACS memberikan kinerja dan efisiensi dengan absolut tertinggi sehingga mencapai hasil yang maksimal. (Abraham *et al.*, 2015). Aplikasi ini berguna pada sistem biomolekul besar dikarenakan pengoprasiannya telah dioptimalkan untuk dapat melakukan komputasi yang memiliki kinerja tinggi dan dapat secara efisien melaksanakan proses simulasi pada sistem biomeluker besar sekalipun. Perangkat lunak ini juga dirancang *user-friendly* sehingga memudahkan mengatur dan menjalankan simulasi (Niranjan *et al.*, 2023).