

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Kanker

1. Kanker

Kanker adalah sekelompok penyakit kompleks yang ditandai oleh pertumbuhan sel yang tidak terkendali. Sel kanker dapat menyerang jaringan di sekitarnya dan menyebar ke bagian tubuh lain melalui proses yang dikenal sebagai metastasis. Penyakit ini terjadi akibat perubahan genetik pada sel normal yang mempengaruhi fungsi-fungsi regulasi seperti pembelahan, pertumbuhan, dan kematian sel. Mutasi pada gen tertentu, termasuk gen pengatur siklus sel dan gen penekan tumor, sering kali menjadi penyebab utama transformasi sel normal menjadi kanker (Hanahan dan Weinberg, 2011).

Hanahan dan Weinberg (2011) mengidentifikasi sepuluh ciri utama sel kanker yang memungkinkan sel-sel ini bertahan hidup, berkembang biak, dan menyebar secara tidak terkendali. Pemahaman mendalam tentang karakteristik ini membuka jalan bagi pengembangan terapi yang secara khusus menargetkan mekanisme yang mendukung keberlangsungan kanker. Salah satu karakteristik utama adalah kemampuan sel kanker untuk menghindari kematian sel terprogram atau apoptosis. Pada kondisi normal, apoptosis berfungsi sebagai mekanisme perlindungan tubuh terhadap sel-sel yang mengalami kerusakan DNA. Namun, sel kanker mampu menghindari mekanisme ini melalui mutasi genetik yang menonaktifkan jalur apoptosis. Pendekatan terapi yang dikembangkan untuk menargetkan proses ini melibatkan penggunaan *proapoptotic BH3 mimetics*, yang bertujuan mengembalikan fungsi apoptosis dan memicu kematian sel kanker.

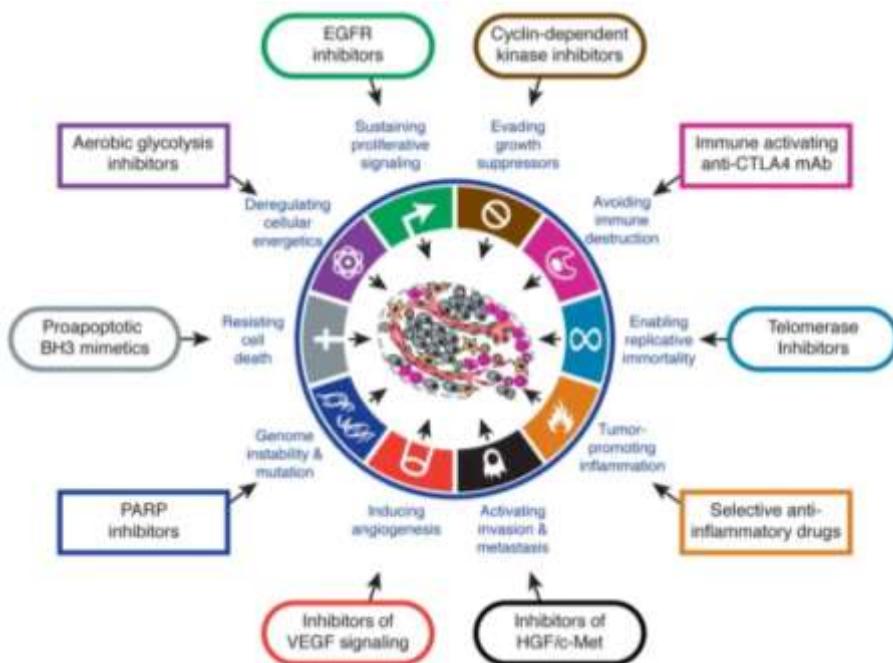
Selain itu, sel kanker mendukung pembentukan pembuluh darah baru melalui proses yang disebut angiogenesis. Pembentukan pembuluh darah ini penting untuk memastikan suplai oksigen dan nutrisi yang cukup bagi pertumbuhan tumor. Terapi inovatif seperti *inhibitors of VEGF signaling* dirancang untuk menghalangi sinyal yang merangsang angiogenesis, sehingga menghambat pertumbuhan tumor yang bergantung pada pasokan darah baru.

Karakteristik lainnya adalah kemampuan sel kanker untuk mempertahankan replikasi yang tak terbatas. Sel normal memiliki batasan replikasi yang ditentukan oleh panjang telomer, struktur

pelindung di ujung kromosom yang memendek setiap kali sel membelah. Namun, sel kanker mengaktifkan enzim telomerase untuk memperpanjang telomer, memungkinkan replikasi tanpa batas. Terapi seperti telomerase inhibitors dikembangkan untuk menghambat aktivitas telomerase, sehingga membatasi kemampuan sel kanker untuk terus berkembang biak. Sel kanker juga menunjukkan kemampuan untuk bermigrasi dan menyebar ke jaringan lain melalui proses metastasis. Proses ini memperburuk prognosis kanker karena menyebabkan penyebaran ke organ-organ vital. Penghambatan proses metastasis dapat dilakukan dengan menggunakan *inhibitors of HGF/c-Met*, yang menargetkan faktor-faktor yang mendorong invasi dan penyebaran sel kanker. Selanjutnya, sel kanker memiliki kemampuan untuk menghindari deteksi dan penghancuran oleh sistem imun tubuh. Mereka mengembangkan mekanisme untuk menekan respon imun yang seharusnya melawan pertumbuhan sel abnormal. Terapi modern seperti *immune checkpoint inhibitors*, misalnya *CTLA-4 monoclonal antibody*, bertujuan untuk mengembalikan kemampuan sistem imun dalam mengenali dan menyerang sel kanker (Hanahan dan Weinberg, 2011).

Peran inflamasi juga sangat signifikan dalam perkembangan kanker. Inflamasi kronis menciptakan lingkungan mikro yang mendukung pertumbuhan tumor. Beberapa strategi terapi menggunakan *anti-inflammatory drugs* untuk mengurangi inflamasi yang mempromosikan perkembangan sel kanker. Selain itu, sel kanker terus-menerus menerima sinyal proliferasi yang mendorong pembelahan sel secara tak terkendali. *EGFR inhibitors* dikembangkan untuk menghambat sinyal proliferasi ini, sehingga membatasi kemampuan sel kanker untuk terus tumbuh. Sel kanker juga memiliki kemampuan untuk mengabaikan mekanisme yang seharusnya menghentikan pertumbuhan sel yang tidak normal. Hambatan terhadap pertumbuhan dapat diatasi dengan *cyclin-dependent kinase inhibitors*, yang bekerja dengan menargetkan protein-protein penting dalam siklus sel. Sementara itu, ketidakstabilan genomik menjadi ciri khas lain dari sel kanker, di mana tingkat mutasi genetik yang tinggi memungkinkan mereka beradaptasi dengan cepat terhadap tekanan lingkungan, termasuk terapi. PARP inhibitors dikembangkan untuk mengganggu mekanisme perbaikan DNA yang digunakan sel kanker untuk bertahan. Terakhir, sel kanker mengubah metabolisme energi mereka untuk memenuhi kebutuhan pertumbuhan yang cepat. Mereka seringkali menggunakan glikolisis

aerobik, meskipun tersedia oksigen yang cukup untuk respirasi oksidatif. Hal ini memberikan keunggulan metabolismik bagi sel kanker. *Pengembangan aerobic glycolysis inhibitors* menjadi salah satu strategi untuk menargetkan jalur metabolisme abnormal ini (Hanahan dan Weinberg, 2011).



Gambar 1. Karakteristik sel kanker

2. Kanker Hati

Sari (2021) menyatakan bahwa kanker hati merupakan kanker dengan insidensi kematian ketiga terbesar di dunia. Jumlah kematian menunjukkan lebih dari satu juta kematian pertahun. Kematian akibat kanker hati diprediksi akan terus meningkat hingga tahun 2025.

Perkembangan kanker hati dimulai dengan kerusakan pada sel hati akibat infeksi virus hepatitis B atau C, konsumsi alkohol berlebihan, atau kondisi penyakit hati berlemak non-alkohol (NAFLD). Faktor-faktor ini menyebabkan peradangan kronis yang merusak jaringan hati dan mengubah DNA sel-sel hati. Ketika hati mengalami kerusakan berulang, proses regenerasi sel yang terjadi sering kali tidak sempurna, sehingga memicu mutasi genetik yang dapat mengarah pada proliferasi sel yang tidak terkendali, yang merupakan ciri khas kanker. Mutasi ini dapat mempengaruhi gen penekan tumor, seperti p53, atau proto-onkogen, yang mengontrol siklus sel dan pencegahan kanker (Llovet *et al.*, 2015).

Seiring berjalannya waktu, sel-sel yang bermutasi ini akan terus berkembang dan membentuk tumor. Tumor kanker hati dapat merangsang pembentukan pembuluh darah baru (angiogenesis) untuk memberi nutrisi dan oksigen pada sel kanker agar mereka dapat tumbuh lebih besar. Sel-sel kanker ini dapat berkembang lebih agresif dan menyebar ke bagian tubuh lainnya melalui aliran darah atau sistem limfatik dalam proses yang dikenal dengan metastasis. Proses metastasis ini meningkatkan kesulitan dalam pengobatan, karena tumor dapat terbentuk di organ lain yang jauh dari lokasi asal. Selain itu, penelitian juga menunjukkan bahwa pengobatan yang tertunda atau kurang efektif dapat memperburuk prognosis penderita kanker hati, yang seringkali didiagnosis pada stadium lanjut ketika gejala sudah muncul. Faktor-faktor risiko yang terlibat dalam kanker hati sangat berkaitan dengan gaya hidup dan paparan lingkungan, yang menjadikannya sebagai penyakit dengan tingkat kematian yang tinggi jika tidak ditangani dengan tepat waktu (ACS, 2023).

3. Obat kanker

Obat antikanker merupakan kelompok senyawa yang digunakan untuk terapi kanker dengan tujuan menghancurkan sel tumor tanpa merusak jaringan sehat. Namun, pengembangan obat ini sering menghadapi tantangan karena kurangnya selektivitas pada jenis kanker tertentu. Berikut adalah beberapa golongan utama obat kanker berdasarkan mekanisme kerjanya:

3.1 Alkilator. Agen alkilator, seperti *cyclophosphamide* dan *dacarbazine*, bekerja melalui pembentukan ikatan kovalen antara gugus alkil reaktif dengan guanin pada DNA. Mekanisme ini menghasilkan kerusakan struktur DNA, seperti pembentukan ikatan silang antar untai DNA, yang mengganggu proses replikasi. *Cyclophosphamide* sering digunakan dalam terapi kombinasi untuk limfoma dan kanker payudara (DeVita *et al.*, 2020). Namun, penggunaannya sering menimbulkan efek samping, seperti mielosupresi dan toksisitas ginjal.

3.2 Senyawa Logam Berat. Senyawa platinum seperti cisplatin dan carboplatin bekerja dengan membentuk ikatan silang antar guanin di DNA, menyebabkan kerusakan struktur DNA dan pembelahan sel terhenti. Obat-obatan ini efektif dalam terapi kanker ovarium, testis, dan paru-paru. Namun, resistensi terhadap platinum sering menjadi kendala dalam terapi, yang diduga disebabkan oleh peningkatan mekanisme perbaikan DNA sel kanker (Hanahan dan Weinberg, 2011).

3.3 Inhibitor Topoisomerase. Inhibitor topoisomerase menargetkan enzim topoisomerase I dan II, yang memiliki peran penting dalam penguraian superkoil DNA selama replikasi. Agen seperti doxorubicin dan etoposide bekerja dengan membentuk kompleks stabil antara enzim dan DNA, mencegah replikasi lebih lanjut. Akibatnya, sel kanker mengalami kerusakan DNA yang tidak dapat diperbaiki, mengarah pada apoptosis (Chabner dan Longo, 2016). Penggunaan doxorubicin banyak ditemukan pada terapi kanker payudara dan sarkoma jaringan lunak.

3.4 Agen Tubulin Aktif. Agen tubulin aktif seperti vinkristin dan vinblastin, yang termasuk golongan alkaloid *vinca*, bekerja dengan mengganggu pembentukan mikrotubulus selama mitosis. Mikrotubulus merupakan struktur penting dalam proses pembelahan sel, dan penghambatan ini menyebabkan sel tumor tidak dapat berkembang biak. Efek sitotoksik dari agen ini mempengaruhi sel yang membelah dengan cepat, termasuk sel kanker. Penggunaan vincristine banyak diaplikasikan dalam terapi limfoma dan leukemia akut (Bray *et al.* 2020).

3.5 Antimetabolit. Antimetabolit seperti metotreksat dan fluorouracil bekerja dengan menghambat jalur metabolisme esensial yang diperlukan untuk sintesis DNA. Metotreksat, misalnya, bertindak sebagai antagonis folat yang menghambat dihidrofolat reduktase, mengakibatkan gangguan pembentukan nukleotida purin. *Fluorouracil* digunakan secara luas untuk kanker kolorektal dan payudara (Chabner dan Longo, 2016).

3.6 Golongan Hormon. Hormon seperti estrogen, progesteron, dan testosteron sering kali berperan dalam memicu pertumbuhan beberapa jenis kanker, seperti kanker payudara dan prostat. Oleh karena itu, obat-obatan golongan hormon digunakan untuk menghambat efek hormon ini pada sel kanker. Salah satu jenisnya adalah antiestrogen, seperti tamoxifen, yang bekerja dengan menghambat reseptor estrogen sehingga mengurangi stimulasi pertumbuhan sel tumor. Selain itu, inhibitor aromatase, seperti letrozole, menghambat enzim aromatase yang bertanggung jawab dalam produksi estrogen, khususnya pada wanita pasca menopause. Untuk kanker prostat, digunakan antiandrogen, seperti flutamide, yang bertindak dengan menghambat reseptor androgen, sehingga mengurangi efek hormon testosteron pada sel kanker. Obat-obatan ini sangat efektif untuk kanker yang tergantung pada hormon dan

umumnya memiliki efek samping yang lebih ringan dibandingkan dengan kemoterapi sitotoksik (BCCOG, 2013).

3.7 Golongan Target Molekuler. Terapi target molekuler, seperti penghambat tirosin kinase dan antibodi monoklonal, difokuskan pada molekul spesifik yang terlibat dalam proliferasi dan angiogenesis sel kanker. Contohnya, bevacizumab, antibodi yang menargetkan VEGF, digunakan untuk mencegah pembentukan pembuluh darah baru pada tumor. Obat ini banyak diaplikasikan untuk kanker kolorektal dan paru-paru (Ferrara *et al.*, 2005).

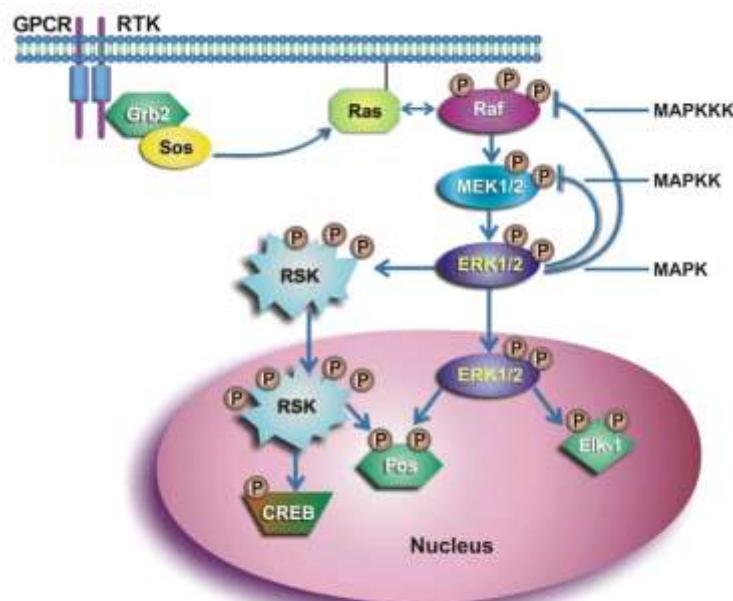
4. Target Molekul Kanker Hati

4.1 Jalur Molekuler. Kanker Hati Kanker hati atau *hepatocellular carcinoma* (HCC) melibatkan berbagai jalur sinyal yang mendorong proliferasi, kelangsungan hidup sel, dan metastasis. Jalur utama yang terlibat meliputi jalur sinyal PI3K/Akt, Ras/MAPK, Wnt/β-catenin, dan p53. Paparan faktor risiko seperti virus hepatitis B dan C, alkohol, dan aflatoksin menyebabkan inflamasi kronis yang memicu sirosis dan nodul displastik sebagai prasyarat HCC. Aktivasi reseptor tirosin kinase (RTK) seperti EGFR dan MET menyebabkan aktivasi PI3K/Akt dan Ras/MAPK, yang mempromosikan proliferasi dan kelangsungan hidup sel kanker (Llovet *et al.*, 2016). Mutasi tumor supresor PTEN yang merupakan regulator negatif PI3K memperkuat sinyal *pro-survival* melalui Akt dan BCL-XL, sedangkan aktivasi mTOR meningkatkan sintesis protein dan proliferasi sel (Villanueva *et al.*, 2015).

Jalur Wnt/β-catenin diaktifkan melalui mutasi pada CTNNB1, yang mencegah degradasi β-catenin dan menyebabkan aktivasi transkripsi gen yang terlibat dalam proliferasi (Guichard *et al.*, 2012). Selain itu, mutasi pada tumor supresor seperti p53 dan RB1 menyebabkan ketidakmampuan memperbaiki DNA yang rusak, memungkinkan proliferasi tak terkendali dan ketidakstabilan genom (Zucman-Rossi *et al.*, 2015). Stres oksidatif juga memicu aktivasi NRF2, yang meningkatkan ekspresi gen antioksidan untuk mendukung kelangsungan hidup sel kanker di lingkungan yang kaya reaktif oksigen spesies (Roessler *et al.*, 2015). Jalur ini berkontribusi pada resistensi terhadap apoptosis dan kemoterapi. Di tingkat metastasis, ekspresi berlebih dari c-Met dan HGF menginduksi migrasi dan invasi sel melalui aktivasi jalur MAPK dan PI3K/Akt, memperkuat kemampuan kanker untuk menyebar ke jaringan lain (Goyal *et al.*, 2017).

4.2 Peran Protein Target Terhadap Kanker Hati.

4.2.1. ERK1/2. *Extracellular signal-regulated kinase 1/2* (ERK1/2) merupakan bagian dari jalur *mitogen-activated protein kinase* (MAPK) yang memiliki peran penting dalam regulasi proliferasi dan kematian sel. Jalur sinyal Ras–Raf–MEK–ERK mengontrol berbagai proses seluler, termasuk proliferasi, diferensiasi, dan apoptosis (Mebratu dan Tesfaigzi, 2009). Aktivasi ERK1/2 memicu fosforilasi berbagai protein target, termasuk faktor transkripsi seperti Elk-1, yang meningkatkan ekspresi gen yang terlibat dalam pertumbuhan sel, seperti c-Fos. Dalam kondisi normal, jalur ini diatur dengan ketat, tetapi dalam berbagai jenis kanker, termasuk kanker hati (*hepatocellular carcinoma*), jalur ERK1/2 sering mengalami aktivasi yang berlebihan akibat mutasi pada onkogen Ras atau B-Raf. Hal ini menyebabkan proliferasi sel yang tidak terkendali dan resistensi terhadap apoptosis, yang merupakan karakteristik utama dari perkembangan kanker (Mebratu dan Tesfaigzi, 2009).



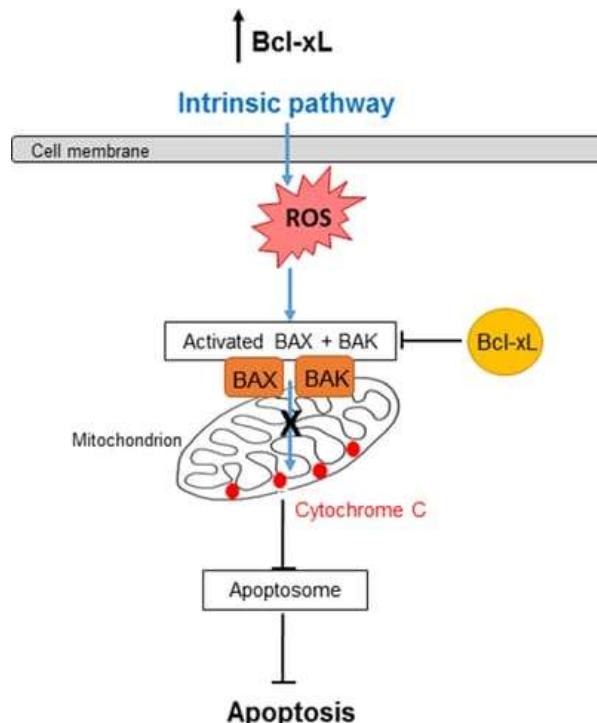
Gambar 2. Mekanisme ERK1/2 (Mebratu dan Tesfaigzi, 2009)

Gambar tersebut menggambarkan mekanisme aktivasi ERK1/2 dalam regulasi proliferasi sel, yang merupakan bagian dari jalur MAPK (*Mitogen-Activated Protein Kinase*). Proses ini dimulai dengan aktivasi reseptor tirosin kinase (RTK) atau reseptor yang terkait dengan protein G (GPCR) akibat adanya faktor pertumbuhan atau mitogen. Aktivasi ini memicu rekrutmen adaptor protein Grb2 dan guanine nucleotide

exchange faktor SOS, yang kemudian mengaktifkan Ras. Ras yang teraktivasi akan merekrut dan mengaktifkan Raf (MAPKKK) melalui fosforilasi di berbagai situs. Raf kemudian mengaktifkan MEK1/2 (MAPKK) dengan memfosforilasi dua residu serin, yang selanjutnya memfosforilasi ERK1/2 (MAPK) pada residu treonin dan tirosin (Mebratu dan Tesfaigzi, 2009).

ERK1/2 yang telah teraktivasi akan mentranslokasi ke nukleus, di mana ia berperan dalam fosforilasi dan aktivasi berbagai faktor transkripsi seperti CREB, Fos, dan Elk-1. Aktivasi faktor-faktor ini mengarah pada ekspresi gen yang mengontrol sintesis protein efektor, yang berperan dalam proliferasi dan kelangsungan hidup sel. Selain itu, fosforilasi ERK terhadap MEK dan Raf juga dapat berfungsi sebagai mekanisme umpan balik negatif untuk menghambat jalur ini, mencegah aktivasi yang berlebihan yang dapat menyebabkan pertumbuhan sel yang tidak terkendali. Secara keseluruhan, jalur Ras–Raf–MEK–ERK memainkan peran sentral dalam proliferasi dan kelangsungan hidup sel, yang jika mengalami disregulasi dapat berkontribusi terhadap perkembangan kanker, termasuk kanker hati. Oleh karena itu, jalur ini menjadi target utama dalam pengembangan terapi kanker, terutama melalui penggunaan inhibitor MEK atau ERK untuk menekan pertumbuhan tumor.

4.2.2. BCL-XL. BCL-XL (*B-cell lymphoma-extra large*) adalah salah satu isoform dari gen Bcl-x yang berperan sebagai penghambat apoptosis atau selamatnya sel dalam tubuh. Protein ini termasuk dalam keluarga Bcl-2, yang secara umum berfungsi mengatur keseimbangan antara sinyal hidup dan mati sel melalui pengaruhnya terhadap jalur apoptosis. Sebagai anggota keluarga Bcl-2, BCL-XL berfungsi untuk mengatur keseimbangan antara selamatnya dan matinya sel, terutama melalui pengaruhnya terhadap jalur apoptosis intrinsik. Secara mekanistik, BCL-XL bekerja dengan cara menghambat aktivasi protein pro-apoptotik seperti Bax dan Bak, yang biasanya berfungsi untuk meningkatkan permeabilitas membran mitokondria. Permeabilitas ini akan menyebabkan pelepasan sitokrom c ke dalam sitoplasma, yang selanjutnya mengaktifkan pembentukan apoptosom dan caspase-3, sehingga memicu apoptosis (Shamas-Din *et al.*, 2013).



Gambar 3. Mekanisme BCL-XL (Shamas-Din *et al.*, 2013)

Pada level molekuler, BCL-XL berfungsi untuk menghambat jalur apoptosis intrinsik dengan cara mengikat dan menginaktivasi protein pro-apoptotik seperti Bax dan Bak. Biasanya, Bax dan Bak berfungsi memicu permeabilitas membran mitokondria, yang menyebabkan pelepasan sitokrom c ke dalam sitoplasma. Sitokrom c ini akan bergabung dengan Apaf-1 untuk membentuk apoptosom yang kemudian mengaktifkan caspase-9 dan caspase-3. Aktivasi caspase-3 selanjutnya akan mengeksekusi proses apoptosis yang menyebabkan kematian sel. Namun, BCL-XL mencegah proses ini dengan menghalangi aktivasi Bax dan Bak, sehingga apoptosis tidak terjadi. Dalam konteks kanker, terutama kanker hati, ekspresi BCL-XL sering meningkat. Keberadaan BCL-XL yang berlebihan dalam sel kanker memberikan keuntungan bagi sel-sel tersebut untuk bertahan hidup meskipun ada kerusakan genetik atau paparan terhadap terapi yang seharusnya menyebabkan kematian sel. Dengan menghambat mekanisme apoptosis, BCL-XL memungkinkan sel kanker untuk terus berkembang, bahkan dalam kondisi yang tidak menguntungkan. Selain itu, *over ekspresi* BCL-XL juga berkontribusi terhadap resistensi terhadap berbagai jenis terapi, termasuk kemoterapi dan terapi radiasi. Hal ini terjadi karena sel kanker yang memiliki tingkat BCL-XL yang

tinggi cenderung lebih tahan terhadap sinyal kematian yang diinduksi oleh pengobatan tersebut, sehingga meningkatkan kemungkinan kegagalan terapi. Oleh karena itu, BCL-XL sering menjadi target yang menarik dalam penelitian terapi kanker. Penghambatan BCL-XL diharapkan dapat meningkatkan efektivitas terapi dengan membuat sel kanker lebih rentan terhadap apoptosis dan dengan demikian meningkatkan kemungkinan keberhasilan pengobatan (Shamas-Din *et al.*, 2013).

B. Jahe

1. Klasifikasi Tanaman Jahe

Tanaman ini banyak digunakan sebagai bumbu dapur sekaligus obat tradisional karena memiliki kandungan senyawa aktif seperti gingerol, shogaol, dan zingeron. Berikut adalah klasifikasi ilmiah jahe (Herawati dan Nyi, 2019) :

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Subkelas	: Zingiberidae
Ordo	: Zingiberales
Famili	: Zingiberaceae
Genus	: Zingiber
Spesies	: <i>Zingiber officinale</i>

2. Morfologi Tanaman Jahe

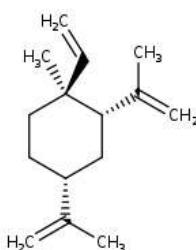
Jahe (*Zingiber officinale*) merupakan tanaman herba tahunan yang berasal dari kawasan Asia Tenggara dan termasuk dalam famili *Zingiberaceae*. Tanaman ini terkenal dengan rimpangnya yang beraroma khas dan sering digunakan dalam berbagai keperluan, mulai dari bumbu masakan hingga bahan obat tradisional. Rimpang jahe berbentuk tebal, berdaging, dan bercabang, dengan bagian luar berwarna coklat serta bagian dalam berwarna kuning hingga kuning pucat. Rimpang ini merupakan bagian utama yang digunakan karena mengandung berbagai senyawa bioaktif, seperti gingerol, shogaol, dan zingeron, yang diketahui memiliki manfaat antiinflamasi, antioksidan, dan antikanker. (Rahmani *et al.*, 2014).

Batang jahe sebenarnya adalah batang semu yang terbentuk dari pelepasan daun yang saling menutupi. Batang ini tumbuh tegak dengan ketinggian mencapai 50–100 cm, berwarna hijau dengan semburat kemerahan pada beberapa varietas. Daunnya berbentuk lanset atau linear-lanset dengan panjang sekitar 15–30 cm dan lebar 2–3 cm, berwarna hijau tua, serta memiliki tepi rata dan permukaan licin yang dilapisi lilin untuk mengurangi penguapan. Daun-daun ini tumbuh berselang-seling di sepanjang batang semu, mendukung proses fotosintesis untuk pertumbuhan tanaman. Meskipun jarang ditemukan, jahe juga memiliki bunga yang tumbuh dari batang khusus yang muncul langsung dari rimpang. Bunga ini tersusun dalam tandan berbentuk lonjong dengan panjang 5–10 cm. Kelopak bunga berwarna hijau pucat hingga kuning, sementara mahkota bunga biasanya berwarna ungu dengan bintik-bintik kuning. Tanaman ini jarang menghasilkan buah karena lebih sering berkembang biak secara vegetatif melalui rimpang. Jika berbuah, buahnya berbentuk kapsul kecil dengan biji, meskipun biji ini jarang dimanfaatkan (Rahmani *et al.*, 2014).

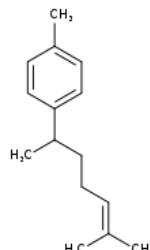
Jahe tumbuh optimal di daerah tropis dengan suhu sekitar 25–30°C, curah hujan tinggi, serta tanah yang subur, gembur, dan kaya bahan organik. Tanaman ini juga membutuhkan drainase yang baik karena tidak tahan terhadap genangan air. Dengan kemampuannya untuk beradaptasi di berbagai kondisi lingkungan tropis, jahe telah menjadi salah satu komoditas penting di bidang pertanian, kuliner, dan farmasi. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa jahe memiliki potensi besar dalam pencegahan dan pengobatan berbagai penyakit, menjadikannya bahan yang sangat berharga dalam pengembangan produk kesehatan modern (Rahmani *et al.*, 2014).

3. Senyawa Aktif Jahe

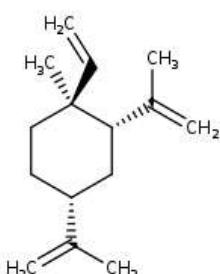
Senyawa aktif dalam jahe (*Zingiber officinale*) memiliki kandungan bioaktif yang sangat beragam, termasuk sesquiterpenoid seperti zingiberene, gingerol, shogaol, paradol, flavonoid seperti luteolin dan rutin, serta berbagai senyawa fenolik lainnya. Komponen ini telah terbukti memiliki aktivitas farmakologis yang luas, seperti anti-inflamasi, antikanker, antimikroba, dan aktivitas biologis lainnya. Oleh karena itu, jahe menjadi sumber yang sangat potensial untuk penelitian pengembangan obat, khususnya untuk target protein yang terkait dengan regulasi apoptosis pada kanker hati. Berikut daftar senyawa-senyawa jahe (*Zingiber officinale*) (Aleem *et al.*, 2020)

Tabel 1. Senyawa jahe golongan seskuiterpen (Aleem *et al.*, 2020)Struktur dan Nama Senyawa

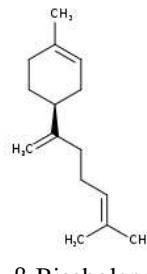
α-Copaene



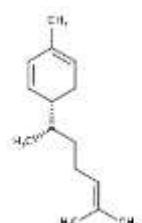
Curcumene (α-Curcumene)



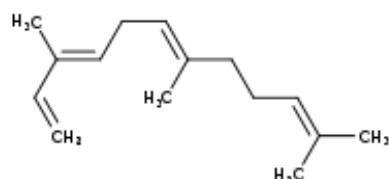
β-elemene



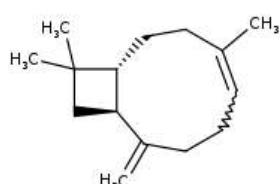
β-Bisabolene



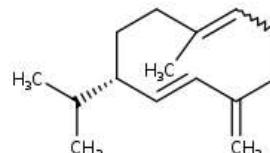
Zingiberene (α-Zingiberene)



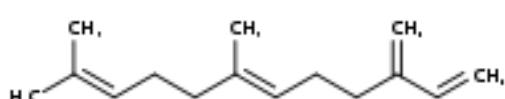
E,E-α-Farnesene



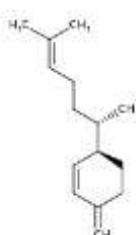
Caryophyllene (β-Caryophyllene)



Germacrene D



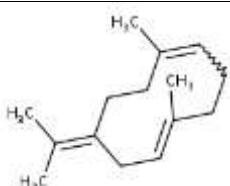
β-Farnesene, trans-β-Farnesene, (E)-beta-farnesene



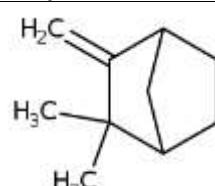
β-Sesquiphellandrene

Tabel 2. Senyawa jahe golongan monoterpena (Aleem et al., 2020)

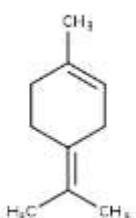
Struktur dan Nama Senyawa



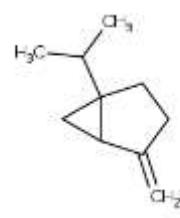
Germacrene B



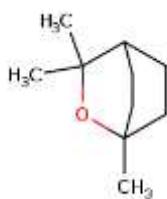
Camphene



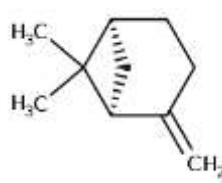
Terpinolene



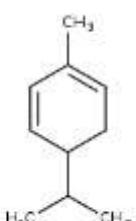
Sabinene



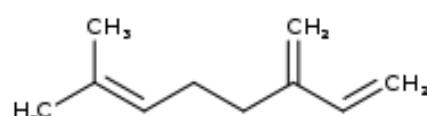
1,8-Cineole



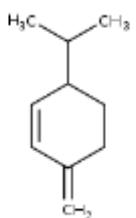
β-pinene



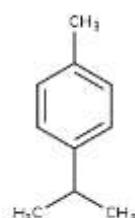
α-Phellandrene



β-Myrcene



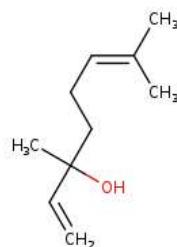
β-Phellandrene



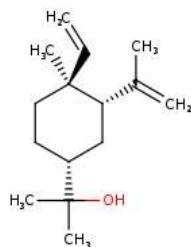
p-Cymene



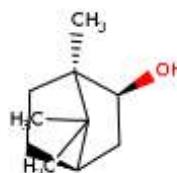
α-pinene

Tabel 3. Senyawa jahe golongan alkohol (Aleem *et al.*, 2020)**Struktur dan Nama Senyawa**

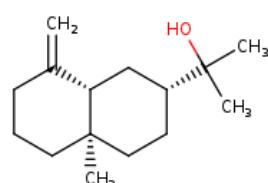
Linalool



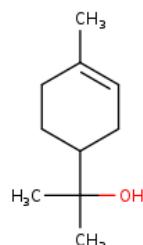
Elemol



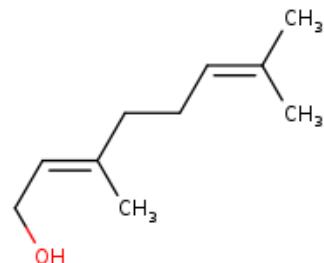
Borneol



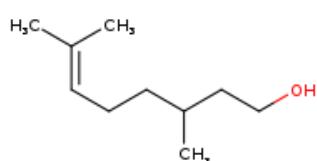
β-Eudesmol



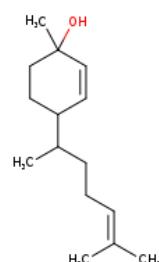
α-Terpineol



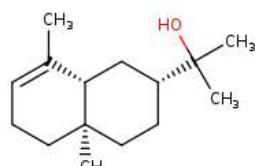
Geraniol



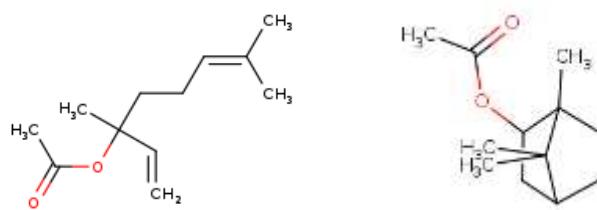
Citronellol



Zingiberenol



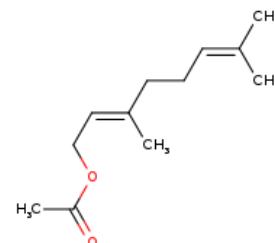
α-Eudesmol

Tabel 4. Senyawa jahe golongan ester (Aleem *et al.*, 2020)**Struktur dan Nama Senyawa**

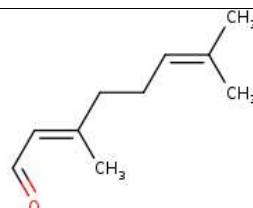
Linalyl acetate



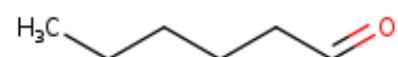
Bornyl acetate



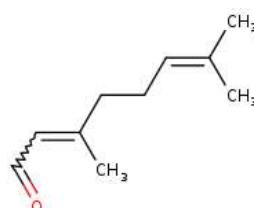
Geranyl acetate

Tabel 5. Senyawa jahe golongan aldehid (Aleem *et al.*, 2020)**Struktur dan Nama Senyawa**

Geranal/citral



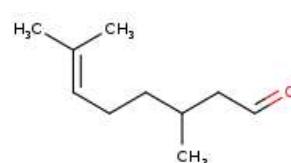
Hexanal



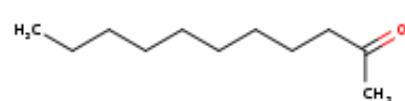
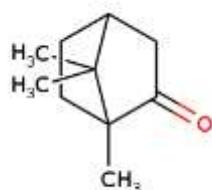
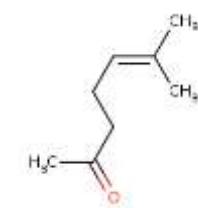
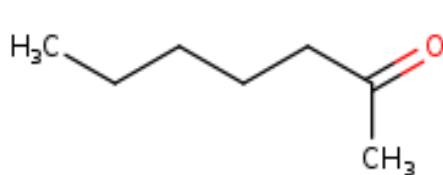
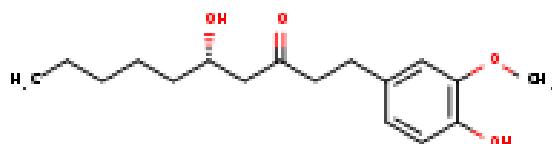
Neral



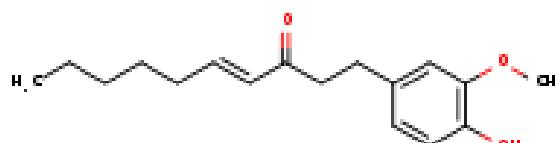
n-Octanal



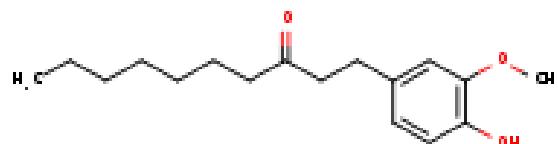
Citronellal

Tabel 6. Senyawa jahe golongan keton (Aleem *et al.*, 2020)**Struktur dan Nama Senyawa****Tabel 7. Senyawa jahe golongan fenolik (Aleem *et al.*, 2020)****Struktur dan Nama Senyawa**

([4]-, [6]-, [7]-, [8]-, [10]- gingerol, Methyl [4]-, Methyl [6]-gingerol)

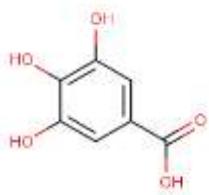


([4]-, [6]-, [8]-, [10]-, [12]-Shogaol, Methyl [6]-, Methyl 8]-shogaol)

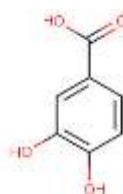


([6]-, [7]-, [8]-, [9]-, [10]-, [11]-, [13]- paradol, Methyl [6]-paradol)

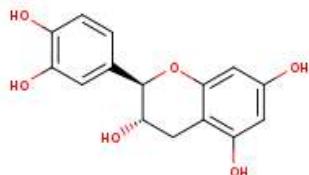
 Struktur dan Nama Senyawa



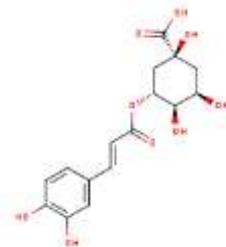
Gallic acid



Protocatechuic acid



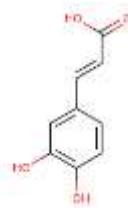
Catechin



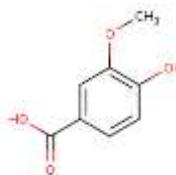
Chlorogenic acid



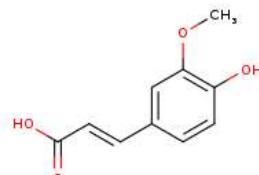
Epicatechin



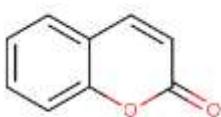
Caffeic acid



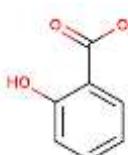
Vanillic acid



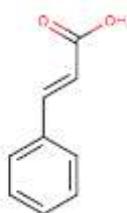
Ferulic acid



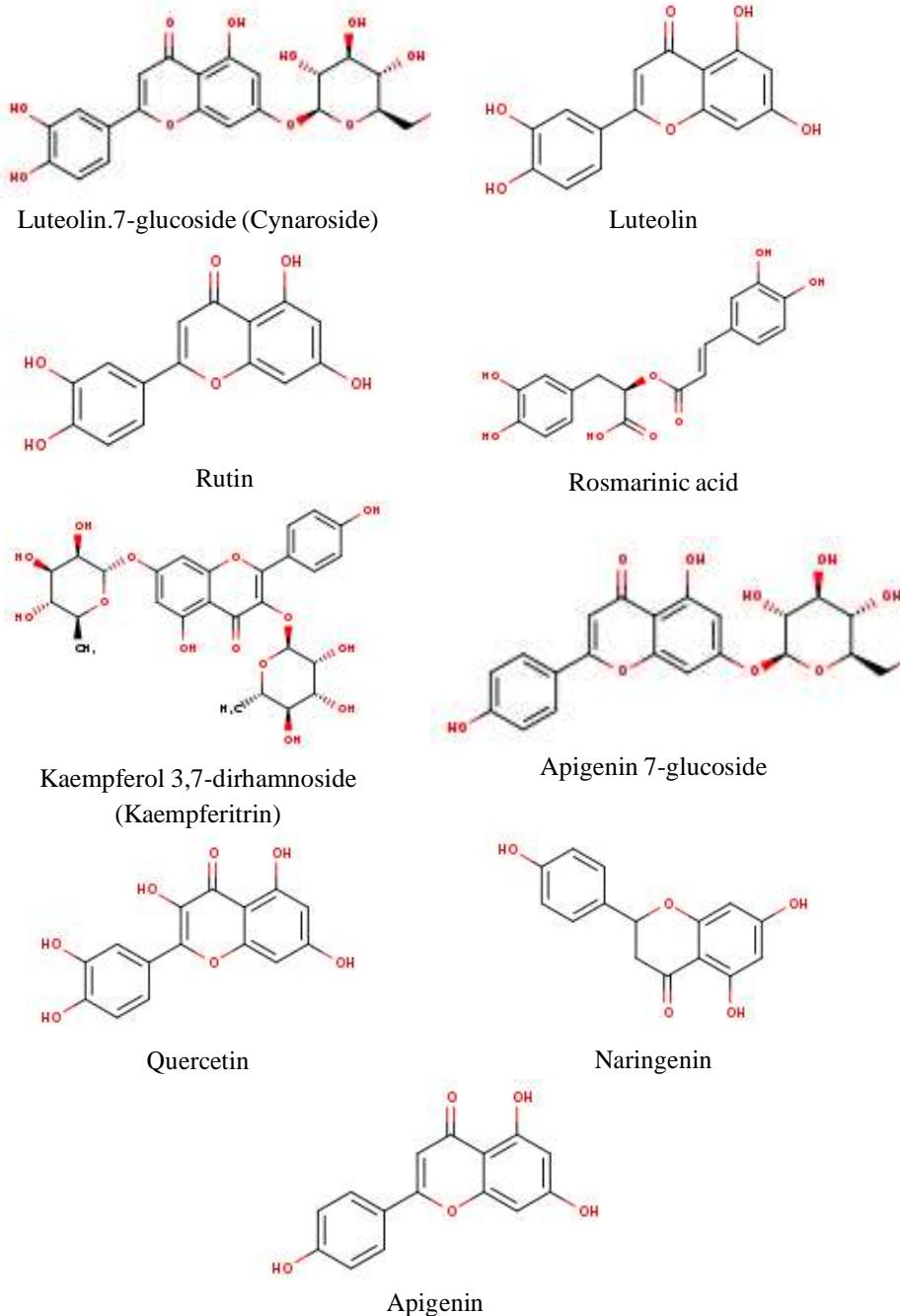
Coumarin



Salicylic acid



Cinnamic acid

Tabel 8. Senyawa jahe golongan flavonoid (Aleem *et al.*, 2020)**Struktur dan Nama Senyawa**

C. Penggunaan Komputer di Bidang Penemuan Obat

1. *Computer Aided Drug Design*

Penggunaan komputer di bidang penemuan obat melalui *Computer-Aided Drug Design* (CADD) telah menjadi pendekatan revolusioner dalam farmasi modern. Metode ini memanfaatkan kemampuan komputasi untuk memprediksi interaksi molekul-molekul kimia dengan target biologis, seperti protein atau enzim, yang terlibat dalam berbagai penyakit. Pendekatan ini mempermudah proses penemuan dan pengembangan obat dengan efisiensi yang lebih tinggi dibandingkan metode konvensional. Dalam CADD, analisis dilakukan berdasarkan informasi struktur molekul target (struktur protein atau reseptor) atau molekul ligan aktif. Dengan demikian, CADD tidak hanya mengurangi waktu dan biaya penelitian, tetapi juga meningkatkan akurasi dalam mengidentifikasi molekul yang memiliki potensi sebagai obat (Kitchen *et al.* 2004; Schneider dan Baringhaus, 2008).

CADD terdiri atas dua pendekatan utama, yaitu *Structure-Based Drug Design* (SBDD) dan *Ligand-Based Drug Design* (LBDD). SBDD digunakan ketika struktur tiga dimensi protein target diketahui, biasanya diperoleh melalui teknik kristalografi sinar-X atau spektroskopi NMR, serta disimpan dalam basis data seperti Protein Data Bank (PDB). Dengan memanfaatkan struktur tersebut, para peneliti dapat memprediksi bagaimana ligand berikatan pada situs aktif protein menggunakan teknik seperti molecular docking atau simulasi dinamika molekuler. Sebaliknya, LBDD digunakan ketika struktur target belum diketahui. Dalam pendekatan ini, hubungan struktur-aktivitas (SAR) dari molekul bioaktif yang telah diketahui digunakan untuk memprediksi senyawa baru dengan aktivitas serupa. Dengan kedua pendekatan ini, CADD mampu mendukung penelitian senyawa potensial untuk melihat efektivitasnya terhadap target biologis yang relevan, misalnya protein yang terlibat dalam kanker hati (Trott dan Olson, 2010; Meng *et al.*, 2011).

2. Penambatan Molekuler

Penambatan molekuler merupakan metode yang digunakan untuk memprediksi interaksi antara ligan dan target protein pada tingkat molekuler. Proses ini bertujuan untuk mempelajari bagaimana suatu molekul kecil, seperti senyawa bioaktif, berikatan pada situs aktif protein. Penambatan molekuler sangat penting dalam penemuan obat karena

dapat mengidentifikasi ligan potensial yang dapat menghambat atau mengaktifkan target protein tertentu (Chaudhary dan Mishra, 2016).

2.1 Konsep Dasar Penambatan Molekuler Penambatan molekuler (*molecular docking*) adalah metode komputasi yang digunakan untuk memprediksi interaksi antara molekul kecil (ligan) dan protein target pada tingkat molekuler. Teknik ini memungkinkan simulasi proses pengikatan ligan pada situs aktif protein, yang memberikan gambaran awal tentang potensi aktivitas biologis senyawa sebelum diuji secara eksperimental. Penambatan molekuler juga membantu mengevaluasi stabilitas dan kekuatan interaksi dengan mengukur energi pengikatan (*binding energy*). Nilai energi yang lebih negatif menunjukkan ikatan yang lebih stabil, yang mendukung efektivitas senyawa sebagai kandidat obat potensial (Trott dan Olson, 2010).

2.1.1. Binding Energy. *Binding energy* merupakan aspek penting dalam studi interaksi molekul, khususnya dalam penambatan molekul kecil seperti senyawa bioaktif pada protein target. Pembentukan energi binding dimulai ketika ligan mendekati situs aktif protein dan berinteraksi melalui berbagai gaya tarik menarik. Interaksi ini menginduksi perubahan konformasi baik pada ligan maupun protein, sehingga membentuk kompleks ligan-protein yang stabil. Penurunan energi bebas *Gibbs* dalam proses ini menunjukkan bahwa interaksi tersebut menguntungkan secara termodinamika (Sharma dan Misra, 2020). Simulasi penambatan molekuler sering digunakan untuk memperkirakan energi binding secara kuantitatif, dengan algoritma komputasi yang mengevaluasi energi potensial berbagai orientasi ligan hingga ditemukan *pose* dengan stabilitas tertinggi (Morris *et al.*, 2009).

Binding energy adalah ukuran stabilitas kompleks yang terbentuk antara ligan dan protein, yang dipengaruhi oleh beberapa jenis interaksi molekuler. Salah satunya adalah ikatan hidrogen, yang terjadi antara atom hidrogen pada ligan dan atom akseptor pada protein, memberikan kontribusi stabilitas yang signifikan. Interaksi elektrostatik antara gugus bermuatan pada ligan dan protein, serta interaksi hidrofobik antara molekul non-polar ligan dan protein, juga mempengaruhi stabilitas kompleks. Selain itu, gaya *van der Waals* dan energi entropi turut berkontribusi pada pembentukan energi binding, di mana pengurangan kebebasan rotasi dan translasi ligan diimbangi oleh pelepasan molekul air terstruktur. Semua interaksi ini berkontribusi pada energi total (ΔG),

yang jika bernilai negatif menunjukkan bahwa kompleks ligan-protein stabil dan menguntungkan secara termodinamika (Sharma dan Misra, 2020).

2.1.2. Interaksi Antara Ligan dan Protein. Dalam konteks penambatan molekuler, interaksi antara ligan dan protein biasanya terjadi melalui residu asam amino yang ada di situs aktif protein. Interaksi ini melibatkan berbagai mekanisme kimia, seperti ikatan hidrogen, interaksi elektrostatik, hidrofobik, dan lainnya. Ikatan hidrogen adalah interaksi elektrostatik yang terjadi antara atom hidrogen yang terhubung ke atom donor (seperti nitrogen atau oksigen) dengan atom akseptor (biasanya oksigen atau nitrogen lainnya). Ikatan ini berperan penting dalam spesifikasi dan stabilitas kompleks ligan-protein. Residu asam amino polar yang sering ditemukan pada situs aktif protein mendukung pembentukan ikatan hidrogen, dan jumlah ikatan ini dapat memperkuat stabilitas energi binding (Panigrahi dan Desiraju, 2007).

Interaksi hidrofobik terjadi ketika gugus non-polar pada ligan, seperti rantai hidrokarbon, berasosiasi dengan residu non-polar pada protein. Air di sekitar molekul non-polar dieliminasi untuk menurunkan energi bebas sistem, menghasilkan kompleks yang lebih stabil. Interaksi ini sangat penting untuk ligan dengan sifat lipofilik, terutama dalam lingkungan protein yang cenderung non-polar (Lodish *et al.*, 2020).

Gaya *van der Waals* adalah interaksi lemah yang muncul karena distribusi elektron yang tidak merata antara molekul ligan dan protein. Meskipun energinya kecil untuk setiap interaksi, jumlahnya yang banyak dapat memberikan kontribusi yang signifikan terhadap stabilitas kompleks (Israelachvili, 2011).

Interaksi elektrostatik terjadi antara gugus bermuatan positif pada protein atau ion logam dengan gugus bermuatan negatif pada ligan, atau sebaliknya. Jenis interaksi ini sangat penting dalam lingkungan protein yang dipengaruhi oleh faktor seperti pH atau ion-ion di sekitarnya (Rosenfeld *et al.*, 2009).

2.2 Karakteristik Senyawa yang Sesuai Sebagai Obat. Skrining senyawa atau menyeleksi senyawa dari jahe penting dilakukan untuk mengetahui senyawa-senyawa potensial apa saja yang dapat digunakan untuk penambatan molekuler. Menyeleksi senyawa potensial dari jahe dilakukan menggunakan *SwissADME*, sebuah alat berbasis web yang memungkinkan analisis parameter farmakokinetik dan kelayakan

obat suatu senyawa (Daina *et al.* 2017). Senyawa aktif dalam jahe dapat diperoleh dari basis data PubChem atau referensi literatur.

Daina *et al.*, (2017) menjelaskan bahwa *SwissADME* adalah alat berbasis web yang memungkinkan peneliti untuk mengevaluasi berbagai sifat molekul kecil yang relevan dengan pengembangan obat. Alat ini dapat memprediksi berbagai parameter farmakokinetik, termasuk kelarutan, permeabilitas, dan kecocokan obat, yang mendukung seleksi kandidat obat yang lebih efisien. Selain itu, *SwissADME* memberikan penilaian berdasarkan berbagai aturan dan model, seperti *Lipinski's Rule of Five*, yang memfasilitasi pemilihan molekul dengan potensi terapi yang lebih tinggi. *Druglikeness* adalah sifat yang menunjukkan kemungkinan suatu senyawa memiliki karakteristik yang sesuai untuk dikembangkan sebagai obat. Parameter ini didasarkan pada berbagai aspek fisikokimia dan farmakokinetik yang mempengaruhi absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi (ADME), dan toksisitas (ADMET) dalam tubuh.

2.2.1 Aturan Lipinski (*Lipinski's Rule of Five, Ro5*). Aturan ini dikembangkan oleh Christopher *et al.*, (2001) untuk menentukan apakah suatu senyawa memiliki potensi sebagai obat oral berdasarkan empat parameter utama yaitu berat molekul, LogP, jumlah donor hidrogen, dan jumlah akseptor hidrogen. Senyawa dengan berat molekul terlalu besar (>500 Da) memiliki permeabilitas membran yang buruk dan sulit diserap secara oral. Nilai $\text{LogP} > 5$ membuat senyawa terlalu lipofilik, mengurangi kelarutan dalam air, dan menyebabkan akumulasi dalam jaringan lemak. Jumlah donor hidrogen berperan dalam pembentukan ikatan hidrogen dengan protein target. Terlalu banyak donor hidrogen (>5) membuat senyawa terlalu polar dan mengurangi permeabilitas membran. Jumlah Akseptor Hidrogen (HBA) ≤ 10 juga mempengaruhi polaritas dan interaksi senyawa dengan protein target. Senyawa dengan $\text{HBA} > 10$ memiliki kelarutan dalam air yang tinggi tetapi permeabilitas membran yang buruk. Jika suatu senyawa melanggar lebih dari satu dari empat aturan ini, kemungkinan besar ia memiliki bioavailabilitas oral yang rendah.

2.2.2 Aturan Veber (*Veber's Rule*). Aturan ini dikembangkan oleh Veber *et al.*, (2002) untuk menilai kelayakan farmakokinetik suatu senyawa, terutama terkait permeabilitas dan bioavailabilitas oral. Terdapat dua parameter untuk menilai aturan ini, yaitu TPSA dan *Rotatable Bonds*. TPSA (*Topological Polar Surface Area*) mengukur

luas permukaan polar senyawa yang dapat membentuk ikatan hidrogen. TPSA $>140 \text{ \AA}^2$ menandakan senyawa terlalu polar untuk menembus membran sel, yang mengurangi absorpsi oral. *Rotatable Bonds* menunjukkan fleksibilitas molekul. Semakin banyak ikatan rotasi, semakin sulit molekul mengadopsi konformasi yang sesuai dengan situs aktif protein.

2.2.3 Aturan Ghose (Ghose Filter). Aturan ini dikembangkan oleh Ghose *et al.*, (1999) untuk menentukan apakah suatu senyawa memiliki sifat farmakokimia yang cocok sebagai obat oral. Kriteria Ghose adalah berat molekul antara 160–480 Da, LogP antara -0.4 hingga 5.6, jumlah atom antara 20–70, koefisien molar refraktivitas antara 40–130. Aturan ini membantu mengidentifikasi molekul yang secara struktural dan fisikokimia sesuai dengan senyawa obat yang sudah ada di pasaran.

2.2.4 Aturan Egan. Egan *et al.*, (2000) mengusulkan parameter untuk memprediksi bioavailabilitas oral berdasarkan dua faktor utama $\text{TPSA} \leq 132 \text{ \AA}^2$, $\text{LogP} \leq 5.88$. Jika suatu senyawa berada dalam rentang ini, kemungkinan besar ia memiliki permeabilitas yang baik melalui membran sel dan absorpsi oral yang tinggi.

2.2.5 Aturan Muegge. Aturan ini dikembangkan oleh Muegge *et al.* (2001) untuk menyaring senyawa berdasarkan farmakokimia yang umum ditemukan pada obat-obatan. Kriteria utamanya yaitu berat molekul antara 200–600 Da, LogP antara -2 hingga 5, $\text{TPSA} \leq 150 \text{ \AA}^2$, jumlah atom antara 10–70.

2.3 Preparasi makromolekul dan ligan. Preparasi makromolekul dan ligan adalah langkah kunci dalam penambatan molekuler (*molecular docking*). Proses ini bertujuan memastikan bahwa struktur protein (makromolekul) dan senyawa aktif (ligan) berada dalam kondisi optimal untuk simulasi interaksi. Preparasi yang tepat memungkinkan identifikasi situs pengikatan ligan pada protein target dan prediksi afinitas pengikatan dengan tingkat akurasi yang tinggi (Chen *et al.*, 2021).

Aplikasi VegaZZ menjadi alat yang esensial dalam tahap ini. VegaZZ menyediakan fitur untuk manipulasi struktur molekul, termasuk penghapusan elemen yang tidak relevan, penambahan atom hidrogen, perhitungan muatan parsial, hingga minimisasi energi. Proses ini sangat penting untuk memastikan hasil simulasi yang relevan secara biologis dan mendukung validitas penelitian (Rush *et al.*, 2005).

2.3.1 Preparasi Makromolekul.

Preparasi makromolekul melibatkan manipulasi struktur protein yang diperoleh dari *Protein Data Bank* (PDB). Tahapan utama dalam proses ini meliputi penghapusan molekul tak relevan dan penambahan atom hidrogen. Protein dari PDB sering mengandung molekul air, ion logam, atau ligan asli yang tidak relevan untuk studi penambatan molekuler. Molekul air yang tidak membentuk jembatan hidrogen dalam situs aktif dihapus, sedangkan molekul yang relevan dipertahankan karena dapat mempengaruhi interaksi protein-ligan (Chen *et al.*, 2021). VegaZZ mempermudah proses ini dengan fitur otomatisasi untuk memilih elemen yang dihapus atau dipertahankan.

Struktur protein dalam PDB juga biasanya tidak menyertakan atom hidrogen pada residu polar. Hidrogen ini penting untuk menjaga stabilitas interaksi, terutama dalam pembentukan ikatan hidrogen. VegaZZ menyediakan fitur otomatis untuk menambahkan atom hidrogen sesuai kondisi fisiologis, seperti pH netral (Rush *et al.*, 2005).

2.3.2 Preparasi Ligan.

Preparasi ligan melibatkan manipulasi struktur senyawa aktif agar stabil dan kompatibel dengan simulasi penambatan molekuler. Tahapan utamanya adalah pembuatan atau pengunduhan struktur ligan, penambahan atom hidrogen dan perhitungan muatan parsial, minimisasi energi ligan

Struktur kimia ligan dapat diunduh dari basis data seperti PubChem atau dibuat menggunakan perangkat lunak seperti MarvinSketch. Format awal, seperti SMILES, kemudian dikonversi menjadi struktur tiga dimensi dengan bantuan VegaZZ (Krishnan dan Rupp, 2012).

Hidrogen ditambahkan untuk melengkapi residu polar dan memastikan ligan stabil. Sama seperti makromolekul, muatan parsial dihitung menggunakan metode *Gasteiger charges* untuk mendistribusikan muatan pada atom secara akurat. Perhitungan ini sangat penting untuk memastikan interaksi elektrostatik selama docking (Gasteiger dan Marsili, 1980). VegaZZ digunakan untuk melakukan minimasi energi pada struktur ligan. Proses ini mengoptimasi konformasi ligan hingga mencapai kondisi energi minimum. Minimasi dilakukan sebanyak 10.000 iterasi untuk memastikan struktur ligan stabil dan siap untuk penambatan (Rush *et al.*, 2005).

2.4 Validasi Metode.

Validasi metode adalah langkah penting dalam proses penambatan molekuler untuk memastikan bahwa

pendekatan yang digunakan mampu mereplikasi interaksi antara ligan asli dan protein target. Validasi ini dilakukan untuk mengevaluasi akurasi dan keandalan metode *docking* yang diterapkan. Dalam penelitian ini, validasi mencakup pengaturan *gridbox*, perhitungan parameter minimasi energi, serta analisis *Root Mean Square Deviation* (RMSD) dari hasil penambatan molekuler.

2.4.1 Gridbox Makromolekul. *Gridbox* adalah ruang tiga dimensi yang menentukan wilayah protein tempat ligan dapat berinteraksi selama simulasi docking. Pengaturan *gridbox* penting untuk memastikan bahwa situs aktif protein (*active site*) terakomodasi dengan baik dalam simulasi penambatan molekuler. X, Y, Z (*Center*) merupakan koordinat pusat *gridbox* dalam tiga dimensi. Nilai ini menunjukkan lokasi pusat dari situs aktif protein target berdasarkan hasil kristalografi struktur protein yang tersedia di *Protein Data Bank* (PDB). X, Y, Z (*Size*) merupakan dimensi *gridbox* dalam satuan *angstrom* (Å). Nilai ini menentukan ukuran ruang simulasi di sekitar pusat situs aktif. Semakin besar *gridbox*, semakin luas area pencarian, tetapi waktu komputasi akan meningkat (Morris *et al.*, 2009). Pengaturan *gridbox* memastikan bahwa seluruh area situs aktif tercakup, sehingga ligan dapat mengeksplorasi berbagai kemungkinan posisi dan orientasi untuk berinteraksi dengan protein target. *Gridbox* yang terlalu kecil dapat menyebabkan simulasi gagal menangkap interaksi penting, sementara *gridbox* yang terlalu besar dapat meningkatkan waktu komputasi tanpa memberikan manfaat tambahan (Trott dan Olson, 2009).

2.4.2 Minimasi Energi. Minimasi energi adalah proses yang dilakukan untuk mengoptimasi struktur molekul agar mencapai kondisi dengan energi paling rendah. Proses ini mengurangi konflik sterik dan memastikan konformasi molekul stabil sebelum simulasi penambatan molekuler dilakukan. Terdapat tiga parameter minimasi energi, yaitu *Number of Steps for Update* merupakan jumlah langkah yang diperbarui dalam setiap iterasi, *Total Number of Steps* merupakan jumlah total iterasi untuk mencapai energi minimum, dan *Stop if Energy Difference is Less Than* merupakan ambang batas perubahan energi antara dua iterasi. Parameter ini diadopsi dari perangkat lunak yang digunakan (seperti VegaZZ dan AutoDock Vina) dan disesuaikan berdasarkan penelitian sebelumnya serta kebutuhan spesifik penelitian. Nilai-nilai ini memastikan bahwa optimasi dilakukan secara efisien tanpa memakan waktu komputasi yang berlebihan. Minimasi energi dilakukan untuk

memastikan bahwa struktur protein tidak mengandung konflik sterik yang dapat mengganggu simulasi, dan ligan berada dalam konformasi stabil sehingga dapat berinteraksi dengan protein secara optimal (Morris *et al.*, 2009)..

2.4.3 Validasi dengan RMSD. Validasi penambatan molekuler dilakukan dengan menghitung nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) antara ligan asli (hasil kristalografi) dan ligan hasil *docking*. RMSD mengukur seberapa dekat konformasi hasil simulasi dengan ligan asli.

$\text{RMSD} \leq 2.0 \text{ \AA}$ artinya metode penambatan molekuler dianggap valid dan akurat. Sedangkan $\text{RMSD} > 2.0 \text{ \AA}$ artinya metode kurang valid, dan perlu dilakukan optimasi lebih lanjut (Trott dan Olson, 2009).

2.5 Analisis Hasil Penambatan Molekuler. Hasil penambatan molekuler memberikan informasi penting tentang interaksi antara ligan (senyawa aktif) dan protein target (makromolekul). Salah satu parameter utama yang dianalisis adalah energi pengikatan (*binding energy*), yang menunjukkan seberapa kuat afinitas ligan terhadap protein target. *Binding energy* dihitung dalam satuan kilokalori per mol (kcal/mol) dan berasal dari gabungan berbagai kontribusi energi, seperti energi elektrostatik, energi *van der Waals*, energi hidrofobik, dan lainnya. Nilai *binding energy* yang lebih negatif menandakan afinitas yang lebih kuat antara ligan dan protein, sehingga interaksi dianggap lebih stabil (Trott dan Olson, 2009).

Binding energy dihitung oleh perangkat lunak docking seperti AutoDock Vina melalui algoritma optimasi. Proses ini mensimulasikan berbagai posisi ligan di dalam situs aktif protein, mengevaluasi energi yang dihasilkan, dan memilih konformasi dengan energi paling rendah. Perhitungan ini mencakup simulasi interaksi elektrostatik antara atom bermuatan, gaya *van der Waals*, serta kontribusi energi hidrofobik dari lingkungan molekul. Dengan demikian, *binding energy* memberikan gambaran kuantitatif tentang potensi ligan sebagai inhibitor atau aktivator protein target (Morris *et al.*, 2009).

Selain *binding energy*, analisis Penambatan juga mencakup identifikasi interaksi spesifik antara ligan dan protein. Interaksi ini meliputi ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, dan ikatan ionik. Ikatan hidrogen, misalnya, terbentuk antara gugus polar ligan dengan residu polar pada protein, seperti gugus hidroksil pada ligan yang berinteraksi dengan residu serin atau tirosin pada protein target. Interaksi hidrofobik

terjadi antara gugus non-polar ligan, seperti gugus alkil atau fenil, dengan residu hidrofobik pada protein, seperti *leucine* atau *isoleucine*. Identifikasi interaksi ini dilakukan dengan perangkat lunak visualisasi seperti PyMOL atau *Discovery Studio*, yang memungkinkan peneliti melihat residu protein mana yang berperan dalam interaksi dengan ligan (Morris *et al.*, 2009).

3. PyRx dan AutoDock Vina

AutoDock Vina dan PyRx bekerja saling melengkapi dalam memfasilitasi simulasi penambatan molekuler. AutoDock Vina adalah mesin perhitungan utama yang melakukan simulasi, sementara PyRx bertindak sebagai antarmuka pengguna grafis yang menyederhanakan proses tersebut. Dengan menggunakan PyRx, peneliti dapat dengan mudah mempersiapkan file protein dan ligan, mengatur parameter simulasi, dan menjalankan AutoDock Vina tanpa menulis skrip atau melakukan pengaturan teknis yang rumit. Selain itu, PyRx menyediakan fitur visualisasi yang memungkinkan peneliti untuk mengamati interaksi spesifik antara ligan dan protein secara langsung. Ini menjadikan PyRx sebagai alat yang sangat berguna, terutama bagi peneliti yang ingin fokus pada analisis hasil docking tanpa terbebani dengan aspek teknis simulasi (Dallakyan dan Olson, 2015).

3.1 Mekanisme AutoDock Vina dalam Penambatan Molekuler. AutoDock Vina adalah perangkat lunak yang banyak digunakan dalam simulasi penambatan molekuler untuk memprediksi interaksi antara ligan (senyawa kecil) dan protein target. Salah satu aspek utama yang dianalisis dalam proses penambatan molekuler ini adalah *binding energy*, yang menggambarkan seberapa kuat interaksi antara ligan dan protein target. AutoDock Vina menggunakan algoritma optimasi dan pencarian yang efisien untuk mengeksplorasi berbagai posisi dan orientasi ligan dalam situs aktif protein. Dalam *pre-docking*, struktur 3D protein dan ligan disiapkan dengan mengkonversi format file yang sesuai, serta menentukan situs aktif yang menjadi tempat ligan akan berikatan. Penentuan *grid box* juga sangat penting dalam tahap ini, karena box ini membatasi ruang tempat AutoDock Vina akan mencari posisi ligan yang optimal (Trott dan Olson, 2009).

Setelah tahap persiapan, proses penambatan molekuler dimulai. AutoDock Vina mengevaluasi berbagai kemungkinan posisi ligan di dalam situs aktif protein dengan mengoptimalkan rotasi dan translasi ligan. Penilaian dilakukan berdasarkan beberapa komponen energi,

seperti energi *van der Waals*, energi elektrostatik, interaksi hidrofobik, dan ikatan hidrogen. Semua energi ini digabungkan menjadi satu nilai dalam bentuk *scoring function*, yang memungkinkan AutoDock Vina memilih posisi ligan dengan energi terendah. Posisi ini menunjukkan interaksi yang paling stabil antara ligan dan protein target. Setelah itu, *post-docking* dilakukan dengan menilai hasil simulasi berdasarkan nilai *binding energy* yang diperoleh serta *Root Mean Square Deviation* (RMSD) untuk mengevaluasi kesesuaian hasil simulasi dengan struktur kristal ligan yang diketahui (Trott dan Olson, 2009).

3.2 Mekanisme PyRx dalam Mempermudah Proses Penambatan.

PyRx adalah platform perangkat lunak yang menyediakan antarmuka grafis (GUI) untuk memudahkan penggunaan AutoDock Vina dalam simulasi penambatan molekuler. PyRx dirancang untuk memungkinkan peneliti melakukan simulasi docking tanpa perlu menulis skrip atau memahami pengaturan teknis yang kompleks. Pada tahap awal, pengguna dapat mengimpor struktur protein dan ligan ke dalam PyRx, yang mendukung berbagai format file seperti .pdb atau .mol2. Selanjutnya, PyRx memfasilitasi pembuatan *grid box* yang menentukan area pencarian untuk ligan selama simulasi. Pengguna juga dapat mengatur parameter lain yang diperlukan, seperti ukuran dan lokasi *grid box*, serta jenis perangkat lunak penambatan molekuler yang akan digunakan (AutoDock Vina atau perangkat lain) (Dallakyan dan Olson, 2015).

Setelah tahap persiapan selesai, PyRx menjalankan simulasi penambatan molekuler menggunakan AutoDock Vina di latar belakang. Proses ini mencakup pencarian posisi ligan yang optimal di dalam situs aktif protein, serta perhitungan *binding energy* untuk setiap konformasi yang diuji. Setelah simulasi selesai, PyRx memberikan hasil yang mencakup posisi terbaik ligan di situs aktif, bersama dengan nilai *binding energy* yang dihitung oleh AutoDock Vina. PyRx juga menyediakan alat untuk visualisasi hasil, memungkinkan peneliti untuk menganalisis interaksi antara ligan dan protein, seperti ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik. Hasil ini kemudian dapat digunakan untuk memilih konformasi ligan dengan potensi paling tinggi dalam pengembangan terapi. (Dallakyan dan Olson, 2015).

4. Kriteria Pemilihan ID PDB / Protein Data Bank

Resolusi Kristalografi merupakan kriteria penting dalam pemilihan struktur protein dari PDB. Struktur dengan resolusi $\leq 2.5 \text{ \AA}$

dianggap memiliki detail atomik yang cukup tinggi untuk analisis interaksi molekuler yang akurat (Carugo dan Argos, 1997). Resolusi yang lebih baik ($< 2.0 \text{ \AA}$) memberikan kejelasan pada situs aktif dan kantong pengikatan protein. Sebaliknya, resolusi yang buruk ($> 3.0 \text{ \AA}$) cenderung menghasilkan prediksi yang kurang akurat, terutama dalam penentuan posisi atom (Petros *et al.*, 2000).

Keberadaan ligan atau ko-kristal juga menjadi pertimbangan utama. Struktur protein yang memiliki ligan terikat (*co-crystal ligand*) di situs aktifnya sangat diutamakan karena menyediakan referensi untuk memvalidasi posisi pengikatan dan memprediksi interaksi baru dengan molekul uji (Klebe, 2006). Kehadiran ligan referensi ini dapat mempermudah proses simulasi dan memperkuat prediksi *binding affinity* terhadap senyawa uji.

Kelengkapan struktur dan keutuhan rantai protein sangat penting dalam pemilihan ID PDB. Protein dengan rantai yang terpotong, bagian yang hilang, atau mutasi artifisial di wilayah esensial, terutama pada sisi aktif, sebaiknya dihindari. Struktur yang utuh memastikan integritas analisis interaksi ligan-protein dan mengurangi risiko kesalahan dalam simulasi dinamika molekuler (Headd *et al.*, 2012).

Homologi dan kesamaan organisme juga menjadi faktor penentu dalam pemilihan struktur protein. Protein yang berasal dari organisme target (misalnya manusia untuk aplikasi klinis) lebih disukai untuk memastikan kesesuaian biologis dan fungsional. Jika tidak tersedia, model homologi dengan kemiripan sekuens minimal 90% dapat digunakan sebagai alternatif yang valid (Kopp dan Schwede, 2004).

Keberadaan data eksperimental tambahan seperti koordinasi ion logam, mutasi, atau modifikasi pasca-translasi juga menjadi faktor penting dalam pemilihan ID PDB. Data ini memperkuat akurasi model karena beberapa protein memerlukan ion logam (seperti Zn atau Mg) atau fosforilasi untuk mempertahankan aktivitas biologisnya (Laskowski *et al.* 2018). Kehadiran informasi tambahan ini membantu dalam menyesuaikan kondisi simulasi yang realistik dan relevan terhadap fungsi biologis protein.

Validasi dan statistik struktur perlu diperhatikan dengan memilih protein yang memiliki nilai R-free dan R-work ≤ 0.25 . Nilai ini menunjukkan tingkat kecocokan antara model kristalografi dengan data eksperimen yang digunakan untuk menyusunnya. Model dengan nilai ini

menunjukkan akurasi tinggi dan rendahnya bias, sehingga lebih dapat diandalkan untuk analisis interaksi ligan.

Pemilihan protein target sebelum melakukan analisis penambatan molekuler adalah langkah penting untuk memahami mekanisme interaksi antara ligan dan protein yang terlibat dalam kanker hati. Protein target yang dipilih harus sesuai dengan jalur molekuler yang berperan penting, seperti apoptosis, yang merupakan mekanisme alami untuk menghancurkan sel kanker. Data mengenai protein target ini dapat diakses melalui *Protein Data Bank* (PDB) di situs www.rcsb.org (Krishnan dan Rupp, 2012).

Luo *et al* (2015) menyatakan bahwa penentuan struktur protein umumnya menggunakan metode kristalografi sinar-X, karena memberikan informasi atomik dengan resolusi tinggi. Dalam penelitian ini, protein yang dipilih berasal dari *Homo sapiens* agar relevan dengan kondisi fisiologis manusia dan mendukung simulasi molekuler yang lebih akurat

Protein BCL-XL (kode PDB: 4QVX) dan ERK1/2 (kode PDB: 2OJJ) dipilih berdasarkan penelitian terdahulu yang relevan dengan kanker (Luo *et al.*, 2015; Sathishkumar *et al.*, 2012).

Tabel 9. Data protein Target Molekuler Kanker Hati

Kode PDB	ERK1/2 2OJJ	BCL-XL 4QVX
Sumber	<i>Homo sapiens</i>	<i>Homo sapiens</i>
Ligan Asli	(S)-phenylglycinol	A-1155463
Resolusi	2,4 Å	2,1 Å

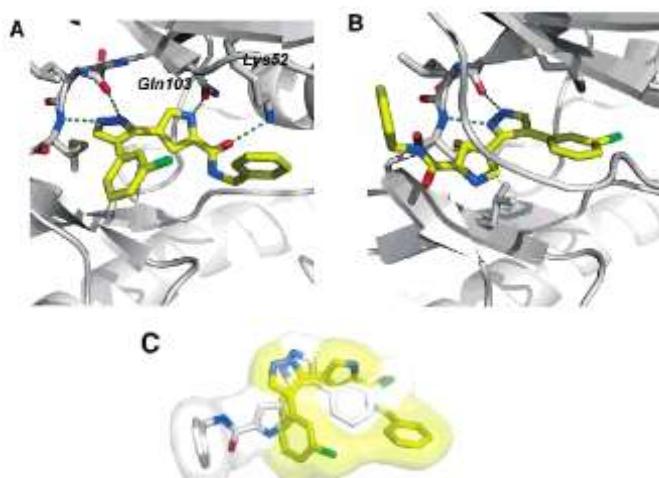
5. ERK1/2

Artikel "*Structure-Guided Design of Selective Pyrazolylpyrrole ERK Inhibitors*" oleh Aronov *et al.* (2007) memberikan kontribusi besar dalam pengembangan inhibitor spesifik untuk protein kinase ERK2 dengan memanfaatkan pendekatan berbasis struktur. ERK2, yang merupakan bagian dari jalur *mitogen-activated protein kinase* (MAPK), merupakan target penting dalam terapi kanker karena perannya dalam mengatur proliferasi, diferensiasi, dan kelangsungan hidup sel. Penelitian ini bertujuan untuk merancang inhibitor dengan selektivitas tinggi terhadap ERK2, dengan memanfaatkan data struktur kristal dan teknik komputasi untuk memandu desain senyawa yang efektif.

Penelitian ini mengidentifikasi *binding pocket* pada domain katalitik ERK2 sebagai lokasi utama interaksi molekul inhibitor. *Binding pocket* ini mengandung residu-residu penting seperti Lys52, Glu69,

Asp149, dan Leu173, yang memainkan peran kunci dalam stabilisasi pengikatan inhibitor. Residue Asp149 misalnya, terlibat dalam pembentukan ikatan hidrogen atau ionik dengan senyawa inhibitor, sementara Leu173 menyediakan lingkungan hidrofobik yang mendukung interaksi non-polar. Interaksi ini menghasilkan pengikatan yang kuat dan stabil, sehingga meningkatkan efisiensi inhibitor. Para peneliti juga mengeksplorasi dua model pengikatan utama dari kerangka *pyrazolylpyrrole*, yang berinteraksi dengan *binding pocket* secara berbeda. Salah satu model pengikatan melibatkan interaksi langsung dengan residu-residu kunci di sekitar situs aktif ERK2, sementara model lainnya lebih mengandalkan interaksi hidrofobik yang didukung oleh residu non-polar. Analisis struktur ini memberikan wawasan tentang bagaimana desain molekul dapat disesuaikan untuk meningkatkan afinitas dan spesifisitas terhadap ERK2 (Aronov *et al.*, 2007).

Sebagai bagian dari proses optimasi, senyawa *pyrazolylpyrrole* dimodifikasi untuk memperkenalkan substituen yang dirancang untuk berinteraksi lebih efektif dengan residu di *binding pocket*. Senyawa hasil optimasi, yang disebut 6p, menunjukkan afinitas pengikatan yang tinggi terhadap ERK2. Dalam studi struktur kristal senyawa ini, ditemukan bahwa 6p membentuk interaksi yang sangat kuat dengan residu Asp149, Lys52, dan Glu69. Selain itu, senyawa ini juga memanfaatkan interaksi *van der Waals* dengan residu hidrofobik seperti Leu173, yang berkontribusi pada stabilitas kompleks inhibitor-protein (Aronov *et al.* 2007)



Gambar 4. Karakterisasi Struktural Pengikatan Senyawa 5g terhadap ERK2 dan JNK3 (Aronov *et al.* 2007)

Gambar A (Senyawa 5g terikat dengan ERK2)

- Kuning : Senyawa inhibitor 5g yang terikat di situs aktif ERK2.
- Hijau : Residu penting di ERK2 yang berinteraksi dengan inhibitor, seperti Val37 dan Lys52.
- Garis putus-putus : Menunjukkan ikatan hidrogen antara senyawa 5g dan residu kunci ERK2.

Gambar B (Senyawa 5g terikat dengan JNK3)

- Putih : Senyawa inhibitor 5g dengan model pengikatan di situs aktif JNK3.
- Hijau : Residu di JNK3 yang berinteraksi dengan inhibitor.
- Garis putus-putus : Ikatan hidrogen yang terbentuk antara senyawa 5g dan residu kunci JNK3.

Gambar C (*Overlay binding* model 5g dalam ERK2 dan JNK3)

- Kuning : Posisi dan orientasi senyawa 5g saat terikat dengan ERK2.
- Putih : Posisi dan orientasi senyawa 5g saat terikat dengan JNK3.

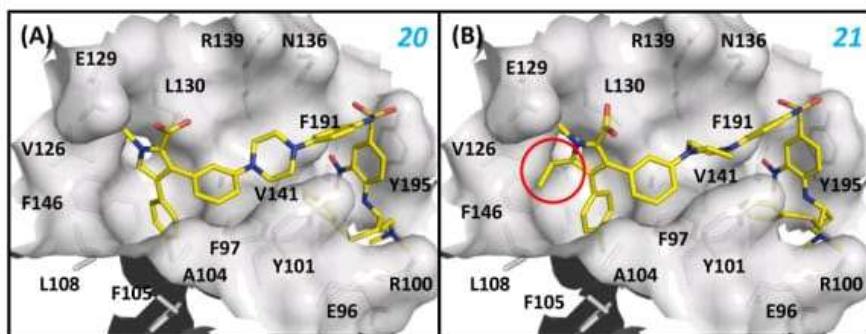
6. BCL-XL

Zhou *et al.*, (2012) membahas tentang pengembangan inhibitor molekul kecil untuk menargetkan protein anti-apoptosis Bcl-2 dan BCL-XL, yang sering diekspresikan berlebihan pada sel kanker sehingga menyebabkan resistensi terhadap pengobatan. Penelitian ini menggunakan pendekatan berbasis struktur untuk mendesain inhibitor yang berinteraksi dengan kantong pengikatan (*binding pocket*) pada BCL-XL, terutama *Site 1*, yang merupakan area hidrofobik yang berinteraksi dengan residu asam amino Y105, L109, dan M112. Artikel ini menjelaskan bahwa *binding pocket* BCL-XL terdiri dari dua kantong utama, yaitu *Site 1* dan *Site 2*, yang menjadi fokus utama dalam desain inhibitor. *Site 1* adalah kantong yang dalam dan hidrofobik, sedangkan *Site 2* lebih dangkal dan lebih terbuka terhadap pelarut. Penelitian berfokus pada *Site 1* karena sifatnya yang lebih stabil dan mendalam, sehingga memberikan peluang yang lebih besar untuk pengikatan molekul kecil dengan afinitas tinggi (Zhou *et al.*, 2012)

Pada *site 1*, residu-residu asam amino penting yang berperan dalam interaksi adalah Y105 (Tirosin), L109 (Leusin), dan M112 (Metionin), yang semuanya bersifat hidrofobik. Berdasarkan struktur

kristal kompleks BCL-XL dengan peptida BH3 dari protein BAD, residu-residu ini membentuk farmakofor tiga dimensi dengan pola tertentu yaitu dua cincin aromatik dan satu kelompok hidrofobik. Pola ini digunakan untuk memandu desain molekul yang dapat mengimitasi interaksi alami antara BCL-XL dan peptida BH3. Dalam desain awal, peneliti menemukan bahwa *Site 1* memainkan peran kunci dengan menarik interaksi molekul melalui tiga residu hidrofobik ini, yang berada dalam jarak 5,5–7,4 Å satu sama lain (Zhou *et al.*, 2012).

Molekul yang dirancang meniru susunan ini dengan memasukkan struktur yang menyerupai residu-residu tersebut. Selain itu, *site 2* juga dimanfaatkan untuk meningkatkan afinitas pengikatan, tetapi fungsinya lebih sebagai pendukung, karena molekul yang hanya menargetkan *site 1* sudah menunjukkan potensi besar. Dalam studi ini, senyawa awal hanya menargetkan *Site 1* dan memiliki afinitas lemah (Ki sekitar 78–138 μ M). Namun, fokus senyawa ini dihubungkan dengan fragmen yang dapat mengisi *site 2*, seperti fragmen dari ABT-737 (sebuah inhibitor BCL-XL yang sudah dikenal), afinitas pengikatan meningkat fokus hingga *subnanomolar* (Ki < 1 Nm). Hal ini menunjukkan pentingnya desain molekul yang secara simultan dapat mengikat kedua *site* untuk menghasilkan interaksi yang lebih stabil. Struktur kristal X-ray yang diperoleh untuk senyawa-senyawa ini mengonfirmasi bahwa interaksi di *site 1* terjadi secara spesifik melalui residu Y105, L109, dan M112. Senyawa yang dirancang benar-benar masuk ke kantong hidrofobik *Site 1* dan mengisi ruang tersebut dengan baik, sehingga meningkatkan interaksi non-kovalen seperti ikatan hidrofobik dan *van der Waals*. Penelitian ini menekankan bahwa focus pada residu asam amino spesifik di *binding pocket* adalah strategi kunci untuk menghasilkan inhibitor yang sangat kuat (Zhou *et al.*, 2012).



Gambar 5. Interaksi di *Binding Pocket* Protein BCL-XL: Analisis Situs Pengikatan Hidrofobik (Zhou *et al.*, 2012)

Garis-garis dalam gambar menunjukkan berbagai jenis interaksi molekuler antara senyawa (20 dan 21) dengan residu asam amino di situs pengikatan protein BCL-XL. Garis kuning merepresentasikan interaksi hidrofobik atau *gaya van der Waals* dengan residu seperti Y101, F97, V141, dan L130, yang berfungsi menstabilkan senyawa di dalam kantong hidrofobik (*Site 1*). Garis putih menunjukkan kontak jarak dekat antara molekul dan residu seperti V126, F105, dan L108, yang juga mendukung ikatan melalui interaksi non-kovalen. Lingkaran merah pada senyawa 20 menyoroti gugus etil tambahan yang dirancang untuk meningkatkan afinitas pengikatan dengan mengisi ruang kosong di kantong hidrofobik, sehingga memperkuat interaksi hidrofobik dan stabilitas kompleks. Label residu dengan huruf dan angka, seperti Y101 (Tirosin), F97 (Fenilalanin), dan V141 (Valin), menandakan posisi kunci di *Site 1* yang bersifat hidrofobik dan berperan penting dalam membentuk farmakofor. Visualisasi ini secara keseluruhan menunjukkan bagaimana senyawa berinteraksi dengan residu spesifik untuk meniru pengikatan alami dan mendukung desain inhibitor dengan afinitas tinggi terhadap protein BCL-XL (Zhou *et al.*, 2012).

D. Landasan Teori

Kanker hati atau *hepatocellular carcinoma* (HCC), merupakan salah satu jenis kanker primer dengan angka kejadian dan tingkat kematian yang tinggi. Berdasarkan data GLOBOCAN 2020, HCC menyumbang 905.677 kasus baru secara global, dengan jumlah kematian mencapai 830.180, menjadikannya penyebab kematian akibat kanker tertinggi kedua setelah kanker paru-paru. Di Indonesia, kanker hati tercatat memiliki 21.392 kasus baru dengan tingkat kematian sebesar 20.588, yang menunjukkan prevalensi tinggi dan tantangan dalam pengobatan yang efektif. Faktor risiko utama meliputi infeksi virus hepatitis B dan C, konsumsi alkohol, serta penyakit hati berlemak non-alkohol (NAFLD), yang memicu kerusakan DNA dan mutasi genetik (ACS, 2023). Jalur molekuler seperti PI3K/Akt, Ras/MAPK, dan Wnt/β-catenin berkontribusi dalam perkembangan kanker hati. Jalur MAPK, melalui aktivasi ERK1/2, diketahui mendorong proliferasi dan kelangsungan hidup sel kanker, sedangkan protein BCL-XL mencegah apoptosis melalui mekanisme penghambatan protein pro-apoptosis seperti Bax dan Bak (Mebratu dan Tesfaigzi, 2009). Pendekatan terapi konvensional untuk HCC melibatkan reseksi bedah, transplantasi hati,

dan terapi sistemik seperti sorafenib dan lenvatinib. Sorafenib bekerja sebagai inhibitor multikinase yang menghambat jalur angiogenesis dan proliferasi tumor. Namun, efektivitas sorafenib sering kali dibatasi oleh resistensi obat, efek samping seperti diare, hipertensi, dan ruam kulit, serta biayanya yang tinggi. Lenvatinib, meskipun memiliki kemanjuran serupa dengan sorafenib, juga menghadapi kendala serupa. Dengan demikian, diperlukan alternatif terapi yang lebih aman, terjangkau, dan efektif (Hanahan dan Weinberg, 2011; ACS, 2023).

Jahe (*Zingiber officinale*) merupakan salah satu bahan alam yang memiliki potensi besar sebagai agen antikanker. Rimpang jahe mengandung berbagai senyawa aktif seperti 6-gingerol, 6-shogaol, paradol, dan zingeron yang telah terbukti memiliki aktivitas antikanker. Senyawa 6-gingerol, misalnya, diketahui mampu menekan ekspresi protein anti-apoptosis BCL-XL, meningkatkan apoptosis, dan menghambat proliferasi sel kanker melalui jalur MAPK/ERK1/2 (Shukla dan Singh, 2007). Selain itu, 6-shogaol, yang merupakan derivat dari 6-gingerol, memiliki potensi antikanker yang lebih kuat. Penelitian menunjukkan bahwa 6-shogaol dapat menghambat jalur MAPK/ERK1/2, menginduksi apoptosis intrinsik, dan meningkatkan ekspresi protein pro-apoptosis seperti Bax (Hu *et al.*, 2012). Paradol, meskipun tidak seefektif 6-shogaol, juga memiliki kemampuan untuk menghambat BCL-XL dan jalur MAPK/ERK1/2, sehingga menghambat pertumbuhan dan proliferasi sel kanker hati (Dugasani *et al.*, 2010).

Penambatan molekuler (*molecular docking*) merupakan pendekatan komputasi yang digunakan untuk memprediksi interaksi antara senyawa aktif dengan protein target pada tingkat molekuler. Teknik ini memungkinkan analisis mekanisme interaksi senyawa seperti 6-gingerol dan 6-shogaol dengan protein target seperti ERK1/2 dan BCL-XL. Penambatan molekuler dilakukan dengan cara memodelkan ikatan senyawa aktif pada situs aktif protein target, mengevaluasi nilai energi pengikatan (*binding energy*), dan mengidentifikasi interaksi spesifik seperti ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik. Energi pengikatan yang lebih negatif menunjukkan interaksi yang lebih stabil, yang dapat menjadi indikasi potensi biologis senyawa tersebut. Selain itu, teknik ini juga dapat digunakan untuk memvalidasi metode berdasarkan perhitungan *Root Mean Square Deviation* (RMSD) yang menunjukkan tingkat akurasi prediksi. Dengan menggunakan perangkat lunak seperti AutoDock Vina dan PyRx, penambatan molekuler dapat

dilakukan dengan efisien untuk mengevaluasi berbagai senyawa aktif jahe dan menentukan senyawa mana yang memiliki potensi paling tinggi sebagai inhibitor protein target yang relevan dengan kanker hati (Trott dan Olson, 2009; Morris *et al.*, 2009).

Dengan memanfaatkan pendekatan penambatan molekuler, penelitian ini bertujuan untuk menganalisis interaksi senyawa aktif jahe dengan protein target BCL-XL dan ERK1/2, sehingga dapat memberikan wawasan lebih mendalam mengenai mekanisme molekuler yang mendasari aktivitas antikanker jahe. Penelitian ini juga mendukung pengembangan terapi berbasis bahan alami yang lebih aman dan terjangkau, serta berkontribusi dalam inovasi farmasi untuk pengobatan kanker hati. Hal ini menjadi langkah awal yang penting dalam eksplorasi potensi jahe sebagai agen terapeutik yang efektif untuk kanker hati (Hossain *et al.*, 2022).

E. Hipotesis

1. Senyawa dari tanaman jahe memiliki nilai energi ikatan yang lebih baik terhadap protein BCL-XL dan ERK1/2 dibandingkan ligan asli, sehingga berpotensi sebagai antikanker hati.
2. Persentase kemiripan ikatan asam amino antara ligan uji dari jahe dengan ligan asli pada BCL-XL dan ERK1/2 cukup tinggi, sehingga mendukung aktivitasnya sebagai antikanker hati.