

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker kolorektal merupakan salah satu penyebab utama morbiditas dan mortalitas di dunia. Berdasarkan laporan *Global Cancer Observatory* (GLOBOCAN), kanker kolorektal menempati peringkat ketiga kanker tersering dan peringkat kedua penyebab kematian akibat kanker secara global (Sung et al., 2021). Peningkatan prevalensi kanker kolorektal berkaitan dengan perubahan gaya hidup, pola makan tinggi lemak, obesitas, dan gangguan mikrobiota usus. Selain itu, perkembangan kanker kolorektal dipengaruhi oleh akumulasi mutasi genetik dan gangguan mekanisme apoptosis yang memungkinkan sel abnormal bertahan dan bereplikasi tanpa kontrol (Al Kamzari dan Constantinou, 2025).

Salah satu molekul yang berperan penting dalam resistensi apoptosis adalah Survivin, anggota keluarga *Inhibitor of Apoptosis Protein* (IAP). Survivin berfungsi menghambat aktivasi caspase dan terlibat dalam regulasi pembelahan sel melalui perannya dalam *Chromosomal Passenger Complex* (CPC) (Wheatley dan Altieri, 2019). Pada jaringan normal dewasa, Survivin hampir tidak diekspresikan, namun terekspresi tinggi pada berbagai sel kanker termasuk kanker kolorektal. Overekspresi Survivin memberikan keuntungan proliferasi dan meningkatkan resistensi terhadap kemoterapi serta radioterapi, sehingga menjadikannya target terapi yang menjanjikan (Wang dan Greene, 2024).

Seiring meningkatnya minat terhadap terapi berbasis bahan alam, polisakarida sulfat dari anggur laut (*Caulerpa racemosa*) menarik perhatian karena aktivitas biologisnya yang luas, termasuk antioksidan, imunomodulator, antiinflamasi, dan antikanker. Polisakarida sulfat ini terutama tersusun atas unit monosakarida seperti galaktosa, glukosa, dan manosa yang tersulfatasi. Gugus sulfat bermuatan negatif dan banyaknya gugus hidroksil memungkinkannya untuk berinteraksi dengan protein bermuatan atau *pocket* interaksi tertentu pada target kanker seperti Survivin. Penelitian menunjukkan bahwa polisakarida sulfat dapat menurunkan ekspresi protein antiapoptosis dan meningkatkan aktivasi caspase, sehingga memiliki potensi sebagai agen antikanker berbasis bahan alam (Magdugo et al., 2020).

Pendekatan *in silico* seperti *molecular docking* merupakan metode efisien untuk mengevaluasi interaksi senyawa dengan target molekuler. Pendekatan ini memungkinkan prediksi *binding affinity*, orientasi *ligand* dan identifikasi residu kunci tanpa memerlukan biaya besar seperti eksperimen *in vitro* maupun *in vivo* (Sliwoski et al., 2016). Dalam penelitian ini digunakan struktur tiga dimensi Survivin yang memiliki resolusi tinggi dan mencakup BIR (*Baculoviral IAP Repeat*) domain, yaitu *pocket* yang relevan untuk pengikatan inhibitor seperti YM155 (Ahmadi et al., 2025). Tiga turunan monosakarida sulfat D-galactose-6-sulfate, D-glucose-6-sulfate, dan D-mannose-6-sulfate dipilih sebagai representasi fragmentasi penyusun polisakarida sulfat anggur laut (*Caulerpa racemosa*). Evaluasi interaksi ketiga molekul ini dengan

pocket Survivin diharapkan dapat memberikan Gambaran awal mengenai potensi modulasi fungsi antiapoptosis Survivin oleh senyawa alami tersebut.

Berdasarkan uraian tersebut, diperlukan penelitian untuk menilai kemampuan tiga monosakarida sulfat dalam berinteraksi dengan Survivin serta membandingkannya dengan inhibitor referensi seperti YM155. Penelitian ini diharapkan memberikan dasar ilmiah bagi pengembangan terapi alternatif berbasis bahan alam yang lebih aman dan selektif, khususnya dalam penanganan kanker kolorektal.

1.2 Teori

1.2.1 Kanker Kolorektal

Kanker kolorektal merupakan pertumbuhan abnormal yang berasal dari sel epitel kelenjar mukosa kolon-rektum (*intestinal epithelial cells*) yang mengalami perubahan genetik progresif akibat interaksi faktor genetik, inflamasi kronis, dan paparan lingkungan seperti diet tinggi lemak, konsumsi daging merah, obesitas, dan disbiosis mikrobiota usus (Al Kamzari dan Constantinou, 2025). Patogenesis kanker ini mengikuti tahapan *adenoma-carcinoma sequence* yang ditandai oleh mutasi pada gen APC, KRAS, dan TP53 serta aktivasi jalur Wnt/ β -catenin dan PI3K/AKT, yang mengarah pada proliferasi tidak terkontrol (Liu et al., 2025). Gangguan apoptosis turut memperburuk proses keganasan, terutama akibat overekspresi Survivin yang menekan aktivasi caspase dan mempertahankan pembelahan sel, sehingga sel lebih resisten terhadap kematian sel (Wheatley dan Altieri, 2019).

Kanker kolorektal merupakan kanker dengan insidensi dan mortalitas tinggi secara global. Berdasarkan *Global Cancer Observatory* (GLOBOCAN) Tahun 2020, penyakit ini menempati urutan ketiga kanker tersering dan kedua penyebab kematian akibat kanker di seluruh dunia (Sung et al., 2021). Insidensinya meningkat secara signifikan terutama di wilayah Asia dan negara berkembang akibat westernisasi pola makan, peningkatan obesitas, serta gaya hidup menetap (Pardamean et al., 2023). Di Indonesia dan negara Asia Tenggara lainnya, tren peningkatan kanker kolorektal pada kelompok usia lebih muda menunjukkan pola yang sejalan dengan peningkatan global dan regional di Asia, sehingga kanker kolorektal menjadi masalah kesehatan masyarakat yang terus berkembang (Xia et al., 2025).

Penatalaksanaan kanker kolorektal meliputi pembedahan, kemoterapi (misalnya 5-FU, oxaliplatin, irinotecan), radioterapi, imunoterapi, dan terapi target seperti inhibitor EGFR dan VEGF (Al Kamzari dan Constantinou, 2025). Meskipun efektif, terapi ini sering menyebabkan efek samping berupa toksisitas sistemik, neuropati, imunosupresi, serta resistensi obat yang dipicu oleh perubahan molekuler pada sel kanker, termasuk peningkatan Survivin yang berperan dalam resistensi kemoterapi dan radioterapi (Wheatley dan Altieri, 2019). Oleh karena itu, Survivin semakin dipertimbangkan sebagai target terapi molekuler, kemudian berbagai senyawa alami seperti polisakarida sulfat sedang dievaluasi potensinya untuk menghambat Survivin serta meningkatkan apoptosis sel kanker.

1.2.2 Survivin (BIRC5)

Survivin (BIRC5) adalah protein antiapoptosis yang termasuk dalam keluarga *Inhibitor of Apoptosis Protein* (IAP). Protein ini memiliki satu domain fungsional utama yaitu *Baculoviral IAP Repeat* (BIR) domain, yang tersusun atas *heliks α* , *β -sheet*, dan *loop* fleksibel yang secara keseluruhan membentuk *pocket* pengikatan penting bagi aktivitas biologisnya (Wheatley dan Altieri, 2019). *Heliks α* berperan menjaga stabilitas konformasi protein, *β -sheet* memberikan stabilitas struktural pada inti domain, sedangkan *loop* berfungsi sebagai elemen pengenalan penting yang memungkinkan interaksi selektif dengan protein mitosis lainnya. Elemen-elemen ini membentuk BIR domain Survivin yang menjadi pusat fungsinya dalam pembelahan sel. Alih-alih menghambat caspase secara langsung, Survivin berperan sebagai regulator apoptosis dengan memodulasi interaksi antara XIAP (*X-linked Inhibitor of Apoptosis Protein*) dan SMAC/DIABLO sehingga memperkuat kelangsungan hidup sel. Selain itu, Survivin menjalankan fungsi penting dalam mitosis sebagai bagian dari *Chromosomal Passenger Complex* (CPC), termasuk dalam menstabilkan *spindle*, memastikan keterikatan kinetokor yang benar, serta mengatur progresi mitosis. Ekspresinya sangat rendah pada sel dewasa normal namun meningkat tajam pada jaringan embrionik dan sel kanker, menjadikannya regulator penting proliferasi dan viabilitas sel (Wang dan Greene, 2024).

Survivin menekan aktivitas caspase melalui beberapa mekanisme molekuler yang saling berhubungan. Pertama, Survivin membentuk kompleks dengan XIAP dan menstabilkannya, sehingga XIAP dapat secara langsung mengikat serta menghambat caspase-3 dan caspase-7, serta mencegah aktivasi caspase-9 pada apoptosom. Kedua, Survivin berinteraksi dengan HBXIP untuk membentuk kompleks Survivin-HBXIP yang mengikat pro-caspase-9 dan menghambat aktivasinya pada jalur intrinsik apoptosis (Wheatley dan Altieri, 2019). Survivin berperan penting dalam mempertahankan kelangsungan hidup sel kanker melalui fungsinya dalam *Chromosomal Passenger Complex* (CPC), yaitu menstabilkan *mitotic spindle* dan memastikan segregasi kromosom berlangsung akurat sehingga mencegah aktivasi apoptosis akibat kerusakan mitosis. Selain itu, Survivin turut mendukung ketahanan sel dengan berinteraksi dengan regulator apoptosis seperti XIAP dan Smac/DIABLO, serta mengalami fosforilasi (misalnya pada Thr34 dan Ser20) yang meningkatkan aktivitas antiapoptosisnya. Pada kanker kolorektal, Survivin diekspresikan tinggi terutama pada subpopulasi *colorectal cancer stem cells* (CR-CSCs), yang berhubungan dengan sifat tumor yang lebih agresif, peningkatan resistensi terhadap terapi, serta prognosis yang lebih buruk pada pasien (Nihayah dan Wanandi, 2025).

Overekspresi Survivin adalah salah satu ciri molekuler penting pada kanker kolorektal. Tingginya ekspresi Survivin pada sel epitel kolon yang bermaligansi berkaitan dengan peningkatan proliferasi, penghambatan apoptosis, dan perkembangan tumor yang lebih agresif (Nihayah dan Wanandi, 2025). Survivin memfasilitasi ketahanan sel kanker terhadap stres lingkungan dan berkontribusi terhadap resistensi terhadap kemoterapi maupun radioterapi melalui perannya dalam mempertahankan integritas mitosis dan memodulasi jalur apoptosis. Survivin tidak

menghambat caspase secara langsung, tetapi mempertahankan kelangsungan hidup sel dengan menstabilkan XIAP serta menghambat pelepasan SMAC/DIABLO yang biasanya mempromosikan aktivasi caspase. Pada kanker kolorektal, peningkatan ekspresi Survivin terbukti berhubungan dengan metastasis yang lebih agresif, stadium penyakit yang lebih lanjut, dan prognosis yang lebih buruk (Wang dan Greene, 2024). Oleh karena itu, Survivin menjadi salah satu target molekuler utama dalam pengembangan terapi kanker kolorektal.

Dalam penelitian berbasis *in silico*, struktur tiga dimensi Survivin yang umum digunakan diperoleh dari *Protein Data Bank* (PDB) dengan ID: 1F3H, yaitu struktur dimer Survivin yang diselesaikan menggunakan kristalografi sinar-X dengan resolusi tinggi 2.0 Å. Struktur ini mencakup BIR domain lengkap, termasuk *heliks α* , *β -sheet*, dan *loop* yang membentuk *pocket* tempat inhibitor seperti YM155 berikatan (Ahmadi et al., 2025). Karena stabil, lengkap, dan merepresentasikan bentuk fisiologis Survivin, model 1F3H menjadi pilihan ideal untuk analisis *in silico*. BIR domain pada 1F3H menyediakan situs pengikatan yang relevan untuk mengevaluasi potensi *ligand*, termasuk polisakarida sulfat anggur laut (*Caulerpa racemosa*), dalam menghambat fungsi antiapoptosis Survivin.

1.2.3 Polisakarida Sulfat Anggur Laut (*Caulerpa racemosa*)

Anggur laut (*Caulerpa racemosa*) merupakan alga hijau laut dari divisi Chlorophyta yang banyak ditemukan di perairan tropis dan dikenal sebagai sumber penting senyawa bioaktif. Salah satu komponen utamanya adalah polisakarida sulfat, yaitu polisakarida kompleks yang memiliki gugus sulfat bermuatan negatif yang memungkinkan interaksi kuat dengan protein bermuatan positif melalui ikatan elektrostatik dan hidrogen (Wijaya et al., 2025). Polisakarida sulfat dari Anggur laut (*Caulerpa racemosa*) umumnya tersusun dari unit monosakarida seperti galaktosa, glukosa, dan manosa, dengan gugus sulfat yang terikat pada posisi tertentu sehingga memengaruhi struktur tiga dimensinya dan menentukan aktivitas biologisnya (Magdugo et al., 2020). Dalam sistematika (taksonomi) tumbuhan, kedudukan tanaman *Caulerpa racemosa* diklasifikasikan sebagai berikut (Pattarach et al., 2025):

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Chlorophyta
Kelas	: Ulvophyceae
Ordo	: Bryopsidales
Famili	: Caulerpaceae
Genus	: <i>Caulerpa</i>
Spesies	: <i>Caulerpa racemosa</i>

Polisakarida sulfat dari anggur laut (*Caulerpa racemosa*) diketahui memiliki berbagai aktivitas biologis penting, termasuk antioksidan, antiinflamasi, imunomodulator, dan antikanker (Akter et al., 2024). Mekanisme antikankernya melibatkan kemampuan polisakarida ini dalam meningkatkan apoptosis, menghambat proliferasi sel tumor, dan mengganggu jalur pensinyalan yang terlibat dalam progresi kanker. Sejumlah penelitian menunjukkan bahwa polisakarida sulfat

mampu menurunkan ekspresi protein antiapoptosis seperti Bcl-2 dan Survivin, meningkatkan aktivasi caspase, serta menghambat jalur PI3K/AKT dan MAPK yang berperan penting dalam kelangsungan hidup sel kanker (Li et al., 2020). Menariknya, polisakarida sulfat dari alga laut termasuk *Caulerpa* juga diketahui tidak bersifat toksik terhadap sel normal, bahkan menunjukkan efek protektif melalui peningkatan aktivitas antioksidan dan pemeliharaan integritas membran sel normal (Akter et al., 2024). Dengan mekanisme selektif tersebut menghambat sel kanker namun relatif aman bagi sel sehat polisakarida sulfat dianggap memiliki potensi tinggi sebagai kandidat senyawa antikanker berbasis bahan alam.



Gambar 1. Anggur Laut (*Caulerpa racemosa*) (Pattarach et al., 2025)

Dalam konteks kanker kolorektal, polisakarida sulfat dari anggur laut (*Caulerpa racemosa*) menarik untuk dikaji karena dapat berinteraksi dengan protein target seperti Survivin yang berperan penting dalam resistensi apoptosis sel kanker. Pada penelitian ini digunakan tiga turunan monosakarida sulfat, yaitu D-galactose-6-sulfate, D-glucose-6-sulfate, dan D-mannose-6-sulfate. Ketiga molekul ini dipilih karena merupakan unit penyusun utama polisakarida sulfat dari anggur laut sehingga dapat mewakili fragmentasi struktural polisakarida tersebut dalam analisis *in silico*. Selain itu, polisakarida sulfat dari anggur laut diketahui memiliki gugus sulfat bermuatan negatif dan banyak gugus hidroksil yang memungkinkan terbentuknya ikatan hidrogen, interaksi elektrostatik, dan afinitas terhadap residu bermuatan pada protein, termasuk Survivin (Magdugo et al., 2020). Dengan mengevaluasi ketiga unit penyusunnya, penelitian ini bertujuan mengidentifikasi fragmen yang memiliki afinitas paling tinggi, sehingga dapat memberikan gambaran awal mengenai potensi pengikatan polisakarida sulfat terhadap Survivin dalam konteks kanker kolorektal.

1.2.4 YM155 sebagai Inhibitor Survivin

YM155 (*Sepantronium bromide*) adalah senyawa kecil yang dikembangkan sebagai inhibitor Survivin, salah satu protein antiapoptosis penting yang banyak diekspresikan pada berbagai keganasan. YM155 bekerja terutama melalui mekanisme supresi transkripsi Survivin, di mana senyawa ini menurunkan ekspresi

mRNA dan protein Survivin secara signifikan melalui penghambatan aktivitas faktor transkripsi yang mengatur promotor BIRC5. Selain menekan ekspresi Survivin, YM155 juga memicu aktivasi caspase serta kerusakan DNA, sehingga meningkatkan kerentanan sel kanker terhadap apoptosis (Cheng et al., 2016). Mengingat Survivin berperan besar dalam mempertahankan kelangsungan hidup sel kanker dan stabilitas mitotic spindle, penurunan Survivin oleh YM155 menyebabkan sel kanker lebih rentan mengalami kematian sel.

YM155 telah banyak dikaji sebagai agen antikanker pada berbagai jenis kanker, termasuk leukemia, kanker payudara, kanker prostat, melanoma, serta kanker pada saluran pencernaan. Penurunan Survivin oleh YM155 terbukti dapat menghambat proliferasi, meningkatkan aktivasi caspase, serta memicu apoptosis melalui jalur intrinsik dan ekstrinsik. YM155 juga dilaporkan mampu menekan migrasi sel kanker, memperlambat progresi siklus sel pada fase G2/M, serta meningkatkan sensitivitas terhadap kemoterapi maupun radioterapi, sehingga memberikan kontribusi terhadap penghambatan pertumbuhan tumor (Cheng et al., 2016).

Dalam penelitian *in silico*, YM155 digunakan sebagai kontrol positif karena senyawa ini telah terbukti secara eksperimental menurunkan Survivin dan memicu apoptosis. Struktur YM155 yang relatif kecil serta memiliki gugus bermuatan memungkinkan terbentuknya interaksi hidrogen, elektrostatik, dan gaya non-kovalen lainnya dengan domain fungsional Survivin (Cheng et al., 2016). Oleh karena itu, pose ikatan YM155 dapat dijadikan acuan dalam mengevaluasi potensi tiga monosakarida sulfat dari anggur laut (*Caulerpa racemosa*) sebagai kandidat inhibitor Survivin.

1.2.5 Studi *In silico* dalam Penemuan Obat Antikanker

Studi *in silico* merupakan pendekatan berbasis komputasi yang digunakan untuk menganalisis interaksi molekuler, memprediksi aktivitas farmakologis, dan menyaring kandidat obat secara cepat. Dalam penemuan obat modern, pendekatan ini memainkan peran penting karena mampu memprediksi perilaku senyawa pada tingkat molekuler tanpa eksperimen laboratorium tahap awal. Proses komputasional ini memungkinkan identifikasi senyawa yang berpotensi aktif dan mengurangi jumlah kandidat yang diuji secara *in vitro* atau *in vivo*, sehingga mempercepat pengembangan obat dan menurunkan biaya penelitian (Sliwoski et al., 2016).

Dalam bidang onkologi, studi *in silico* sangat bermanfaat karena banyak target molekuler kanker seperti enzim, reseptor, dan protein regulator apoptosis memiliki struktur kristalografi yang telah tersedia pada *Protein Data Bank*. Dengan demikian, analisis komputasi dapat digunakan untuk mempelajari interaksi antara senyawa bioaktif dan target kanker tertentu, memprediksi *binding affinity*, serta memetakan residu asam amino yang terlibat. Selain itu, pendekatan ini mampu mengidentifikasi inhibitor potensial terhadap protein yang berperan dalam proliferasi dan resistensi terapi, termasuk Survivin pada kanker kolorektal (Sliwoski et al., 2016).

Pada penelitian ini, studi *in silico* digunakan untuk mengevaluasi potensi tiga monosakarida sulfat dari polisakarida sulfat anggur laut (*Caulerpa racemosa*)

sebagai inhibitor Survivin. Pendekatan komputasional ini memungkinkan peneliti memprediksi bagaimana *ligand* berinteraksi dengan *pocket* BIR Survivin, menghitung energi pengikatan, serta membandingkannya dengan inhibitor yang telah divalidasi secara eksperimental seperti YM155. Hasil analisis *in silico* memberikan gambaran awal mengenai potensi antikanker suatu senyawa alami sebelum diuji secara biologis, sehingga menjadi langkah penting dalam pengembangan terapi berbasis bahan alam (Sliwoski et al., 2016).

1.2.6 Prinsip *Molecular Docking*

Molecular docking merupakan metode komputasi yang digunakan untuk memprediksi orientasi, posisi, dan konformasi terbaik dari suatu *ligand* ketika berinteraksi dengan protein target. Prinsip dasar teknik ini adalah mencari pose pengikatan yang paling stabil berdasarkan energi bebas pengikatan, di mana nilai energi yang semakin rendah menunjukkan interaksi yang semakin kuat dan stabil. Metode ini banyak dimanfaatkan dalam penemuan obat modern karena mampu menyaring kandidat senyawa potensial secara cepat dan efisien sebelum dilakukan pengujian eksperimental yang lebih mahal dan memakan waktu (Ma et al., 2024).

Proses *docking* melibatkan dua komponen inti, yaitu *search algorithm* dan *scoring function*. *Search algorithm* bertugas mengeksplorasi berbagai kemungkinan orientasi dan rotasi *ligand* di dalam *pocket* protein untuk menemukan pose interaksi yang optimal. Sementara itu, *scoring function* menghitung stabilitas setiap pose berdasarkan parameter energi, seperti ikatan hidrogen, interaksi elektrostatik, gaya van der Waals, dan energi sterik. Kombinasi keduanya memungkinkan sistem untuk memperkirakan kekuatan interaksi *ligand*-protein secara kuantitatif (Ma et al., 2024).

Dalam penelitian ini, *molecular docking* digunakan untuk mengevaluasi afinitas dan pola interaksi antara tiga monosakarida sulfat dari polisakarida anggur laut (*Caulerpa racemosa*) dan protein Survivin. *Pocket* pengikatan pada BIR domain Survivin terdiri atas residu polar dan bermuatan positif, sehingga memungkinkan terbentuknya ikatan hidrogen dan interaksi elektrostatik dengan *ligand* bermuatan negatif seperti monosakarida sulfat. YM155 digunakan sebagai kontrol positif karena telah terbukti secara eksperimental berikatan dengan BIR domain Survivin dan menghambat fungsinya, sehingga hasil *docking ligand* penelitian dapat dibandingkan dengan senyawa inhibitor yang sudah terverifikasi (Cheng et al., 2016).

1.3 Tujuan dan Manfaat

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi pola interaksi, jenis ikatan, dan residu kunci yang terlibat dalam pengikatan polisakarida sulfat anggur laut (*Caulerpa racemosa*) terhadap Survivin menggunakan analisis *in silico*, serta untuk menentukan potensi polisakarida sulfat anggur laut (*Caulerpa racemosa*) sebagai agen terapi kanker kolorektal berdasarkan analisis *in silico*. Penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi ilmiah serta menambah wawasan dan pengetahuan peneliti maupun masyarakat luas mengenai potensi polisakarida sulfat anggur laut

(*Caulerpa racemosa*) sebagai kandidat terapi pada kanker kolorektal, serta melatih kemampuan peneliti dalam melakukan penelitian eksperimental dan menjadi acuan bagi penelitian-penelitian selanjutnya yang berfokus pada pengembangan bahan alami untuk terapi antikanker.

BAB II METODOLOGI PENELITIAN

2.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini merupakan penelitian *in silico* yang dilakukan pada bulan April hingga Juli 2024. Seluruh tahapan komputasional meliputi preparasi struktur *ligand* dan protein, *molecular docking*, serta analisis interaksi dilakukan menggunakan perangkat komputer pribadi peneliti dengan memanfaatkan perangkat lunak *PyRx* yang memuat beberapa perangkat seperti *AutoDock Vina* dan *Open Babel*, *PyMol* dan *BIOVIA Discovery Studio Visualizer*. Basis data struktur 3D diperoleh dari *PubChem* dan *Protein Data Bank* (PDB).

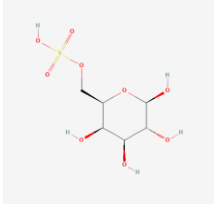
2.2 Bahan dan Perangkat Penelitian

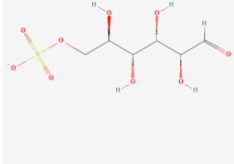
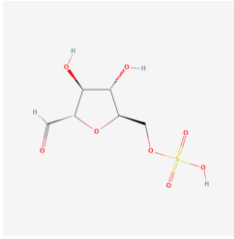
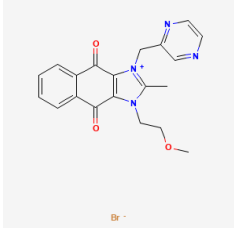
2.2.1 Data Senyawa (*Ligand*)

Data senyawa yang digunakan dalam penelitian ini merupakan tiga jenis monosakarida sulfat penyusun polisakarida sulfat dari sampel anggur laut (*Caulerpa racemosa*), yaitu D-galactose-6-sulfate, D-glucose-6-sulfate, dan D-mannose-6-sulfate. Ketiga struktur senyawa tersebut diperoleh dari basis data *PubChem* dalam format *Structure Data File* (SDF) yang kemudian diunduh dan disiapkan sebagai *ligand* untuk proses *molecular docking*. Anggur laut (*Caulerpa racemosa*) tersusun atas unit-unit gula berikatan sulfat pada posisi C-6, sehingga ketiganya relevan untuk dianalisis secara individual. Selain itu, kontrol positif digunakan senyawa YM155 yang terbukti sebagai inhibitor Survivin (Cheng et al., 2016).

Struktur 3D *ligand* kemudian dikonversi menggunakan *Open Babel* untuk memastikan konformasi energi rendah sebelum digunakan dalam simulasi *Docking*. Proses ini mencakup penambahan hidrogen polar, pengaturan muatan parsial, dan minimisasi energi guna meningkatkan akurasi prediksi interaksi. Selanjutnya, *ligand* disimpan dalam format PDBQT yang kompatibel dengan *AutoDock Vina* sehingga dapat dianalisis interaksinya dengan protein Survivin. Representasi struktur tunggal dari setiap monosakarida sulfat memungkinkan penelitian ini memprediksi kemampuan masing-masing unit gula dalam berinteraksi dengan protein Survivin pada level molekuler.

Tabel 1. Data Senyawa (*Ligand*)

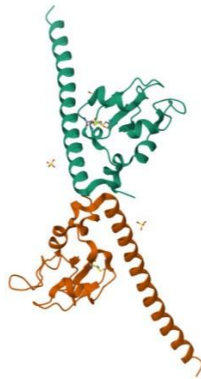
No.	Nama	Gambaran 2D	ID	Formula	Sumber
1.	D-galactose-6-sulfate		42628615	C ₆ H ₁₂ O ₉ S	<i>PubChem</i>

2.	D-glucose-6-sulfate		21123007	$C_6H_{11}O_9S^-$	PubChem
3.	D-mannose-6-sulfate		101110136	$C_6H_{10}O_8S$	PubChem
4.	YM155 (Kontrol)		11178236	$C_{20}H_{19}BrN_4O_3$	PubChem

2.2.2 Data Protein Target

Protein target yang digunakan dalam penelitian ini adalah Survivin, yaitu anggota famili *Inhibitor of Apoptosis Protein* (IAP) yang berperan penting dalam penghambatan kematian sel terprogram serta regulasi proliferasi pada berbagai jenis kanker, termasuk kanker kolorektal. Struktur tiga dimensi Survivin diperoleh dari basis data *Protein Data Bank* (PDB) dengan kode identitas 1F3H, yang merupakan struktur kristal Survivin manusia dalam bentuk dimer dan telah banyak digunakan sebagai model standar dalam analisis interaksi *ligand*. Struktur ini dipilih karena memiliki resolusi tinggi (2.0 Å) dan menyediakan informasi lengkap mengenai BIR domain serta *pocket* fungsional yang relevan untuk pengikatan *ligand*. File protein diunduh dalam format PDB dan digunakan sebagai reseptor dalam analisis *molecular docking*. Sebelum proses *docking*, struktur protein mengalami tahap preparasi, termasuk penghapusan molekul air, ion, serta *ligand* bawaan (jika ada), penambahan hidrogen polar, dan penetapan muatan atom agar sesuai dengan kebutuhan input *AutoDock Vina*. Penggunaan Survivin sebagai protein target memungkinkan evaluasi spesifik terhadap kemampuan interaksi dan potensi modulasi aktivitas antiapoptosis oleh turunan monosakarida sulfat dari anggur laut (*Caulerpa racemosa*), sehingga dapat memberikan gambaran mengenai kemungkinan mekanisme antikanker melalui pendekatan komputasi.

Tabel 2. Protein Target

No.	Nama	Gambaran 3D	ID PDB	Sumber
1.	Survivin		1F3H	RCSB PDB

2.2.3 Perangkat Keras

Perangkat keras yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebuah komputer pribadi yang berfungsi sebagai platform utama untuk menjalankan seluruh proses komputasional, mulai dari preparasi *ligand* dan protein, penentuan *grid box*, hingga simulasi *molecular docking* dan visualisasi hasil. Komputer yang digunakan memiliki spesifikasi minimal prosesor Intel Core i5 atau setara, dilengkapi dengan RAM 8 GB untuk memastikan kelancaran pemrosesan model tiga dimensi dan perhitungan energi ikatan yang dihasilkan oleh perangkat lunak *Docking*. Selain itu, perangkat keras dilengkapi dengan kapasitas penyimpanan yang memadai untuk mengelola file struktur protein, *ligand*, serta file keluaran dari proses *Docking*. Sistem operasi yang digunakan adalah Windows 10/11 yang kompatibel dengan perangkat lunak *PyRx* 0.8 yang memuat beberapa perangkat seperti *AutoDock Vina* dan *Open Babel*, *PyMol* 3.1 dan *BIOVIA Discovery Studio Visualizer* 2025. Ketersediaan perangkat keras dengan spesifikasi tersebut memungkinkan pelaksanaan analisis *in silico* secara optimal dan efisien sehingga seluruh tahap pemodelan molekuler dapat dilakukan tanpa hambatan teknis yang berarti.

2.2.4 Perangkat Lunak

Penelitian *in silico* ini menggunakan beberapa perangkat lunak yang berfungsi dalam tahapan preparasi struktur, simulasi *molecular docking*, serta analisis visual interaksi *ligand*-protein. Perangkat lunak utama yang digunakan adalah *PyRx* 0.8, yang mengintegrasikan *AutoDock Vina* sebagai mesin *Docking* sehingga memudahkan proses pemilihan *ligand*, penetapan parameter *Grid box*, dan pelaksanaan *Docking* secara otomatis. Selain itu, digunakan *Open Babel* untuk mengonversi format file *ligand*, melakukan energi minimisasi, dan memastikan konformasi molekul berada pada keadaan stabil sebelum di *Docking*. Untuk analisis visual dan interpretasi interaksi *ligand* dengan residu pada protein target, penelitian ini memanfaatkan *PyMol* 3.1 dan *BIOVIA Discovery Studio Visualizer* 2025, yang menyediakan

tampilan 2D dan 3D dari ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, serta berbagai gaya molekul lainnya. Adapun UCSF Chimera digunakan secara opsional untuk pembersihan struktur protein, penambahan atom hidrogen, dan pemeriksaan orientasi molekul dalam ruang tiga dimensi. Seluruh perangkat lunak tersebut berjalan pada sistem operasi Windows sehingga memungkinkan proses komputasi dilakukan secara optimal dan terintegrasi dalam satu workflow pemodelan molekuler.

2.3 Prosedur Penelitian

2.3.1 Preparasi *Ligand*

Preparasi *ligand* dilakukan sesuai prinsip pemodelan molekuler standar. Struktur 3D *ligand* (D-galactose-6-sulfate, D-glucose-6-sulfate, dan D-mannose-6-sulfate) serta YM155 diperoleh dari *PubChem* dalam format SDF dan dikonversi/dioptimasi menggunakan *Open Babel* dengan minimisasi energi menggunakan *Merck Molecular Force Field* (MMFF94) untuk mencapai konformasi energi-rendah yang lebih representatif secara fisik. Langkah ini mencakup penambahan atom hidrogen polar, penentuan muatan parsial, dan definisi ikatan rotasi sehingga *ligand* siap diekspor ke format PDBQT untuk *AutoDock Vina*. Minimasi energi dan pengaturan muatan penting karena *scoring function* dan *search algorithm* pada *AutoDock Vina* mempertimbangkan fleksibilitas *ligand* dan kontribusi energi non-kovalent (misalnya hidrogen bonding, elektrostatis, van der Waals) dalam perhitungan *binding affinity*. Untuk monosakarida sulfat, perhatian khusus diberikan pada status protonasi dan muatan sulfat karena sangat memengaruhi interaksi elektrostatis dengan residu protein (Forli et al., 2016).

2.3.2 Preparasi Protein Survivin

Protein target yang digunakan pada penelitian ini adalah Survivin dengan kode PDB 1F3H, yaitu struktur kristal Survivin manusia dalam bentuk dimer yang banyak digunakan sebagai model reseptor dalam studi *molecular docking*. File protein diunduh dari *Protein Data Bank* dalam format PDB, kemudian dipersiapkan menggunakan UCSF Chimera dan *AutoDock Tools*. Tahap preparasi meliputi penghapusan molekul air, ion, dan *ligand* bawaan, penambahan hidrogen polar, serta penetapan muatan Gasteiger agar sesuai dengan standar *AutoDock Vina*. Pemeriksaan struktur pada BIR domain dilakukan untuk memastikan tidak terjadi distorsi setelah preparasi. Protein yang telah diproses kemudian disimpan dalam format PDBQT sebagai input untuk proses *docking*, sesuai pedoman preparasi reseptor yang dianjurkan dalam metode *AutoDock* (Forli et al., 2016).

2.3.3 Penentuan *Grid box*

Penentuan *Grid box* merupakan proses penting dalam *molecular docking* karena menentukan ruang tiga dimensi tempat *ligand* bergerak dan mencari posisi ikatan

paling stabil pada reseptor. Pada penelitian ini digunakan pendekatan blind *docking*, yaitu halaman pencarian diperluas untuk mencakup hampir seluruh permukaan protein Survivin (PDB ID: 1F3H) tanpa membatasi interaksi hanya pada satu *pocket* tertentu. Pendekatan ini dipilih untuk memberikan peluang yang sama bagi *ligand* dalam menemukan lokasi interaksi paling energetik, sekaligus memastikan bahwa ikatan tidak hanya terfokus pada satu *cavity* spesifik (Forli et al., 2016).

Grid box diatur dengan memaksimalkan ukuran (*size x, y, z*) sehingga mencakup keseluruhan struktur protein, termasuk BIR domain yang diketahui terlibat dalam regulasi antiapoptosis. Pengaturan ini memungkinkan *ligand* mengeksplorasi seluruh sisi protein selama proses *docking*, kemudian *software* akan menentukan pose dengan afinitas terbaik berdasarkan energi ikatan terendah. Pemilihan *blind docking* relevan digunakan pada penelitian eksploratif berbasis inhibitor baru, terutama ketika analisis ingin memastikan apakah *ligand* mampu mencapai dan berikatan pada *pocket* aktif yang sama dengan kontrol pembanding (Forli et al., 2016).

2.3.4 Molecular Docking

Proses *molecular docking* dilakukan menggunakan perangkat lunak PyRx 0.8, yang mengintegrasikan *AutoDock Vina* sebagai mesin pencarian pose dan penilaian afinitas ikatan. Proses ini bertujuan memprediksi posisi, orientasi, serta kekuatan interaksi *ligand* dan protein target berdasarkan prinsip bahwa kompleks yang stabil memiliki energi bebas pengikatan yang rendah. Pada tahap ini, *ligand* monosakarida sulfat yang telah dioptimasi sebelumnya dan protein Survivin (PDBQT hasil preparasi 1F3H) dimasukkan ke dalam PyRx untuk proses simulasi. *AutoDock Vina* menggunakan algoritma pencarian global dan lokal secara interatif untuk mengeksplorasi berbagai konformasi *ligand* di dalam *grid box* sehingga mencakup hampir seluruh permukaan protein Survivin (*blind docking*) (Forli et al., 2016).

Software kemudian memberikan skor energi dalam satuan kcal/mol sebagai representasi *binding affinity*. *Scoring function* Vina mempertimbangkan kontribusi energi non-kovalen seperti ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, gaya van der Waals, dan interaksi elektrostatis sehingga mampu memprediksi pose pengikatan yang paling stabil. Parameter *docking* seperti *exhaustiveness* disesuaikan untuk meningkatkan ketelitian pencarian konformasi, sementara jumlah *mode* ditetapkan untuk menghasilkan beberapa pose alternatif sebagai dasar analisis komparatif. Hasil *docking* berupa daftar pose *ligand* beserta nilai energi pengikatan kemudian diekspor untuk dianalisis lebih lanjut melalui visualisasi dua dan tiga dimensi. Prinsip dan mekanisme *docking* ini sesuai dengan pedoman pemodelan molekuler yang menekankan integrasi algoritma pencarian konformasi dan *scoring function* dalam memprediksi interaksi *ligand reseptor* secara komputasional (Forli et al., 2016).

2.3.5 Analisis Interaksi Ligand-Protein

Analisis interaksi *ligand*-protein pada penelitian ini dilakukan dengan menilai tiga parameter utama, yaitu nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*), energi

pengikatan (*Binding Affinity*), serta pola interaksi residu dan ikatan hidrogen yang terbentuk antara *ligand* dan protein Survivin. Pose hasil *docking* dengan RMSD = 0.00 Å ditetapkan sebagai pose terbaik dan digunakan sebagai dasar evaluasi, karena nilai RMSD bernilai nol menandakan konformasi referensi yang paling stabil dan paling representatif sebagai mode ikatan *ligand* pada *pocket* protein (Eberhardt et al., 2021).

Selanjutnya, nilai *binding affinity* digunakan untuk menentukan tingkat kestabilan interaksi *ligand*, di mana nilai energi yang lebih negatif diinterpretasikan sebagai *binding affinity* yang lebih kuat secara termodinamika. Analisis pola interaksi dilakukan dengan mengidentifikasi residu yang berikatan dengan *ligand* dan mencatat terbentuknya ikatan non-kovalen, terutama ikatan hidrogen dengan jarak <3.5 Å, karena jenis ikatan ini berperan penting dalam kestabilan kompleks *ligand*-protein. Visualisasi interaksi dilakukan menggunakan *BIOVIA Discovery Studio Visualizer*, yang digunakan untuk mengamati posisi *ligand* dalam *pocket* Survivin serta memetakan ikatan hidrogen, elektrostatik, hidrofobik, dan van der Waals yang terbentuk (Forli et al., 2016).

Sebagai bagian dari proses validasi, hasil *docking ligand* uji dibandingkan dengan *ligand* kontrol berupa YM155 (*Sepantronium bromide*), yaitu inhibitor Survivin yang telah banyak digunakan dalam studi *in silico* dan *in vitro*. Pembandingan ini tidak bertujuan agar *ligand* uji meniru seluruh pola interaksi YM155, karena secara struktural YM155 merupakan molekul aromatik kompleks dengan interaksi multivalen, sedangkan tiga monosakarida sulfat memiliki struktur yang lebih kecil dan sifat kimia yang berbeda. Oleh karena itu, validasi dilakukan untuk menilai apakah *ligand* uji tetap dapat memasuki *pocket* BIR domain, berinteraksi dengan residu-residu yang relevan secara fungsional, serta menunjukkan nilai energi pengikatan yang masih kompetitif. Dalam teori *docking*, hasil dianggap relevan meskipun pola interaksi *ligand* uji berbeda dari *ligand* kontrol, selama interaksi tersebut berada dalam area *pocket* fungsional dan membentuk jaringan ikatan yang stabil (Forli et al., 2016).

Dengan demikian, interpretasi hasil *docking* dianggap positif apabila ketiga monosakarida sulfat mampu membentuk interaksi yang stabil di dalam *pocket* BIR Survivin, meskipun pola ikatannya tidak identik dengan YM155, dan menghasilkan nilai energi pengikatan yang mendukung kemungkinan modulasi fungsi antiapoptosis Survivin. Perbedaan pola interaksi antara *ligand* uji dan *ligand* kontrol justru diharapkan, karena struktur kimia yang berbeda dapat menghasilkan orientasi dan jalur ikatan alternatif yang berpotensi berkontribusi terhadap aktivitas biologis senyawa dalam konteks kanker kolorektal.

2.3.6 Visualisasi Interaksi *Ligand-Protein*

Visualisasi interaksi *ligand-protein* dilakukan untuk memahami orientasi keempat *ligand* D-galactose-6-sulfate, D-glucose-6-sulfate, D-mannose-6-sulfate, dan *ligand* kontrol YM155 di dalam *pocket* BIR domain Survivin serta mengidentifikasi jenis dan kekuatan interaksi non-kovalen yang terbentuk. Tahap visualisasi dilakukan

menggunakan *BIOVIA Discovery Studio Visualizer*, yang menyediakan representasi dua dan tiga dimensi dari kompleks *ligand-protein* sehingga memudahkan evaluasi posisi *ligand*, jarak ikatan, serta karakteristik geometrinya. Proses ini meliputi pemetaan interaksi penting seperti ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, elektrostatik, dan gaya van der Waals yang berkontribusi terhadap stabilitas kompleks. Ikatan hidrogen digunakan sebagai indikator utama kekuatan dan arah interaksi spesifik, sedangkan interaksi hidrofobik dan van der Waals membantu mempertahankan orientasi *ligand* di dalam *pocket* BIR domain (Lenda et al., 2025).

Analisis visual merupakan bagian esensial dari validasi hasil *docking*. Menurut PLIP (*Protein-Ligand Interaction Profiler*), setiap jenis interaksi non-kovalen memiliki kontribusi kimiawi yang unik terhadap stabilitas kompleks, sehingga visualisasi tidak hanya membantu mengonfirmasi pose hasil *docking*, tetapi juga mengidentifikasi residu-residu kunci Survivin yang berperan dalam pengikatan *ligand*. Dengan demikian, visualisasi interaksi *ligand-protein* memberikan gambaran menyeluruh mengenai kualitas dan relevansi biologis pose terbaik dari ketiga monosakarida sulfat maupun *ligand* kontrol YM155 yang diprediksi secara komputasional (Lenda et al., 2025).

2.4 Teknik Pengumpulan dan Analisis Data

Teknik pengumpulan data pada penelitian ini dilakukan secara komputasional melalui keluaran perangkat lunak PyRx 0.8 yang mengintegrasikan *AutoDock Vina*. Data utama yang dikumpulkan mencakup nilai energi pengikatan (*Binding Affinity*) untuk setiap pose *ligand*, orientasi *ligand* di dalam *pocket* BIR domain Survivin, serta file output dalam format PDBQT yang memuat koordinat atom dan konformasi *ligand* hasil prediksi. Nilai energi yang dihasilkan kemudian diseleksi berdasarkan stabilitas energi terendah dan konsistensi posisi *ligand* di dalam *grid box* yang telah ditetapkan. Prinsip bahwa *AutoDock Vina* menghasilkan sejumlah pose terurut berdasarkan energi bebas ikatan dan bahwa pose paling stabil direpresentasikan oleh nilai energi paling negatif selaras dengan teori *docking* komputasional yang menekankan evaluasi kestabilan energi sebagai dasar pemilihan pose terbaik (Forli et al., 2016).

Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis melalui visualisasi interaksi menggunakan *BIOVIA Discovery Studio Visualizer* untuk memetakan interaksi non-kovalen antara *ligand* dan protein Survivin. Tahap ini mencakup identifikasi ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, elektrostatik, dan gaya van der Waals, serta analisis keterlibatan residu-residu penting pada BIR domain dalam proses pengikatan *ligand*. Hasil visualisasi kemudian ditafsirkan secara deskriptif untuk menentukan relevansi biologis orientasi *ligand* dan kontribusi kimiawi dari tiap interaksi terhadap stabilitas kompleks. Pendekatan ini sesuai dengan prinsip *interaction profiling* yang menyatakan bahwa pemetaan interaksi non-kovalen merupakan langkah penting dalam validasi *docking* karena memungkinkan identifikasi residu kunci dan penilaian kualitas pose secara struktural (Lenda et al., 2025).