

IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT DAN SIMULASI MOLECULAR DOCKING EKSTRAK *n*-HEKSAN RIMPANG *Z. officinale* TERHADAP RESEPTOR OSTEOARTRITIS

Nurur Rohman, Andri Tilaqza*, Denis Mery Mirza**#

*Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang, **Pusat Studi Integrasi Kedokteran Islam, Bioinformatika, dan Obat Tradisional Indonesia (PSIKIBiOTI)

ABSTRAK

Pendahuluan: Osteoarthritis (OA) merupakan penyakit degeneratif sendi yang ditandai oleh kerusakan kartilago, inflamasi, dan penurunan fungsi sendi. Penggunaan obat antiinflamasi nonsteroid (OAINS) maupun terapi sulih hormon masih memiliki keterbatasan akibat efek samping jangka panjang, sehingga diperlukan alternatif terapi yang lebih aman. Jahe Emprit (*Zingiber officinale* var. *Amarum*) diketahui mengandung berbagai metabolit sekunder yang berpotensi sebagai agen antiosteoarthritis melalui modulasi reseptor estrogen beta (ER- β) dan penghambatan enzim *cyclooxygenase-2* (COX-2).

Metode: Penelitian ini merupakan studi deskriptif eksploratif berbasis *in silico*. Ekstrak *n*-heksan rimpang *Z. officinale* dianalisis menggunakan *Gas Chromatography–Mass Spectrometry* (GC-MS) untuk mengidentifikasi senyawa metabolit. Senyawa non-terpenoid dengan *similarity index* >80% dipilih untuk simulasi *molecular docking* terhadap protein target ER- β (3OLS) dan COX-2 (5KIR) menggunakan PyRx, kemudian dievaluasi interaksi molekuler serta sifat fisikokimianya berdasarkan Aturan Lima Lipinski.

Hasil dan Pembahasan: Analisis GC-MS mengidentifikasi 87 senyawa metabolit, dengan tujuh senyawa non-terpenoid dipilih sebagai ligan uji. Hasil *molecular docking* menunjukkan bahwa (E,E)-pseudoionone memiliki afinitas pengikatan terbaik terhadap ER- β ($\Delta G = -6,8$ kkal/mol) dan COX-2 ($\Delta G = -7,2$ kkal/mol), sedangkan Benzoic acid, 2-hydroxy-, methyl ester menunjukkan persentase kemiripan interaksi tertinggi terhadap COX-2 (66,67%). Interaksi dengan residu kunci pada kedua protein mengindikasikan potensi aktivitas fitoestrogenik dan antiinflamasi. Seluruh senyawa uji juga memenuhi kriteria Aturan Lima Lipinski yang menunjukkan karakteristik fisikokimia yang mendukung pengembangan sebagai kandidat obat oral.

Kesimpulan: Ekstrak *n*-heksan rimpang *Z. officinale* berpotensi sebagai sumber senyawa bioaktif untuk terapi osteoarthritis melalui mekanisme penghambatan COX-2. Hasil analisis GC-MS menunjukkan adanya 87 senyawa yang mana 7 di antaranya adalah senyawa non-terpenoid dan senyawa (E,E)-pseudoionone memiliki afinitas pengikatan terbaik terhadap ER- β dan COX-2.

Kata kunci: *Cyclooxygenase-2*, *Molecular Docking*, Osteoarthritis, Reseptor Estrogen Beta, *Z. officinale*.

#Denis Mery Mirza (denismerymirza@unisma.ac.id)

Jl. M.T. Haryono 193, Kota Malang, 65144

METABOLITE COMPOUND IDENTIFICATION AND MOLECULAR DOCKING SIMULATION OF THE *n*-HEXANE EXTRACT OF *Z. officinale* RHIZOME AGAINST OSTEOARTHRITIS RECEPTORS

Nurur Rohman, Andri Tilaqza*, Denis Mery Mirza**#

*Faculty of Medicine, Universitas Islam Malang, **Center for the Integration of Islamic Medicine, Bioinformatics, and Indonesiann Traditional Medicine (CIIMBITM)

ABSTRACT

Introduction: Osteoarthritis (OA) is a degenerative joint disease characterised by cartilage damage, inflammation and reduced joint function. The use of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and hormone replacement therapy still has limitations due to long-term side effects; therefore, safer alternative therapies are required. Emprit ginger (*Zingiber officinale* var. *Amarum*) is known to contain various secondary metabolites that have the potential to act as anti-osteoarthritis agents through the modulation of the oestrogen receptor beta (ER- β) and the inhibition of the *cyclooxygenase-2* (COX-2) enzyme.

Methods: This study is an exploratory descriptive study conducted in *silico*. The *n*-hexane extract of *Z. officinale* rhizome was analysed using *Gas Chromatography–Mass Spectrometry* (GC-MS) to identify metabolites. Non-terpenoid compounds with a *similarity index* >80% were selected for molecular docking simulations against the target proteins ER- β (3OLS) and COX-2 (5KIR) using PyRx; their molecular interactions and physicochemical properties were then evaluated based on Lipinski's Five Rules.

Results and Discussion: GC-MS analysis identified 87 metabolites, with seven non-terpenoid compounds selected as test ligands. Molecular docking results showed that (E,E)-pseudoionone exhibited the highest binding affinity for ER- β ($\Delta G = -6.8$ kcal/mol) and COX-2 ($\Delta G = -7.2$ kcal/mol), whilst 2-hydroxybenzoic acid methyl ester exhibited the highest percentage of interaction similarity with COX-2 (66.67%). Interactions with key residues in both proteins indicate potential phytoestrogenic and anti-inflammatory activity. All test compounds also met the criteria of Lipinski's Five Rules, demonstrating physicochemical characteristics supportive of their development as candidates for oral medication.

Conclusion: The *n*-hexane extract of *Z. officinale* rhizome has potential as a source of bioactive compounds for the treatment of osteoarthritis via a COX-2 inhibitory mechanism. GC-MS analysis revealed the presence of 87 compounds, seven of which were non-terpenoid compounds, and the compound (E,E)-pseudoionone exhibited the highest binding affinity for ER- β and COX-2.

Keywords: cyclooxygenase-2, molecular docking, estrogen receptor beta, osteoarthritis, *Z. officinale*.

#Denis Mery Mirza (denismerymirza@unisma.ac.id)

Jl. M.T. Haryono 193, Kota Malang, 65144

PENDAHULUAN

Osteoarthritis (OA) adalah jenis radang sendi yang paling sering menyerang, khususnya bagi mereka yang sudah memasuki usia senja atau lansia, sehingga dapat dikategorikan sebagai penyakit degeneratif (Hunter & Bierma-Zeinstra, 2019). Secara patologis, osteoarthritis ditandai dengan kerusakan kartilago, penebalan tulang subkondral, pembentukan osteofit, serta peradangan ringan pada sinovium. Berdasarkan data WHO (2019), sekitar 528 juta orang di dunia menderita OA, angka ini menunjukkan peningkatan sebesar 113% sejak tahun 1990. Di Indonesia, prevalensi osteoarthritis diperkirakan mencapai 24,7% dari total populasi, dengan prevalensi 5% pada usia 61 tahun menurut data Riskesdas (Cui *et al.*, 2020).

Beberapa tatalaksana osteoarthritis meliputi kombinasi terapi non-farmakologis seperti edukasi dan manajemen berat badan, serta terapi farmakologis yang melibatkan penggunaan analgesik, obat antiinflamasi non-steroid (OAINS), dan terapi hormon (Bannuru *et al.*, 2019). Penggunaan obat antiinflamasi non-steroid bekerja memblokir sintesis prostaglandin dengan cara menghambat enzim COX-1 dan COX-2 dan faktor-faktor lain yang menyebabkan rasa sakit dan inflamasi. Penggunaan obat antiinflamasi harus dimulai dengan dosis rendah dan dapat dinaikkan hingga dosis maksimal (Hida & Fatoni, 2025). Selain penggunaan obat antiinflamasi osteoarthritis dapat diterapi dengan menggunakan estrogen, terutama estrogen reseptor beta (ER- β), karena ER- β cenderung menekan COX-2, sedangkan aktivasi COX-2 dapat meningkatkan produksi estrogen lokal yang kemudian memengaruhi aktivitas reseptor estrogen (Harris *et al.*, 2024). Meskipun Terapi Sulih Hormon (TSH) terbukti efektif dalam mengurangi gejala osteoarthritis pada wanita pascamenopause, risiko jangka panjang seperti kejadian tromboemboli, stroke, dan keganasan pada jaringan reproduksi membatasi penggunaannya (Abdi *et al.*, 2021).

Studi tentang potensi metabolit sekunder dari sumber daya lokal seperti Jahe Emprit (*Zingiber officinale* var. *Amarum*) masih sangat terbatas. *Z. officinale* diketahui mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti gingerol, shogaol, dan zingerone yang memiliki khasiat antioksidan, serta zingiberene yang bersifat antiinflamasi dan imunomodulator (Mao *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2021). Namun, identifikasi spesifik tentang kandungan senyawa fitoestrogen dalam *Z. officinale* dan interaksinya dengan protein target

estrogen belum banyak dilaporkan terutama untuk senyawa golongan non terpenoid. Senyawa non terpenoid, terutama golongan polifenol terbukti dapat menghambat jalur persinyalan pro-inflamasi (seperti NF- κ B) dan menurunkan mediator katabolik (seperti MMP-13) yang berperan dalam degradasi sendi (Simani *et al.*, 2025). Senyawa non-terpenoid memiliki potensi sebagai terapi osteoarthritis melalui mekanisme multi-target, yakni dengan menghambat jalur inflamasi NF- κ B/MAPK, mengaktifkan sistem antioksidan Nrf2/HO-1, menekan ekspresi enzim perusak matriks (MMP-13 dan ADAMTS-5), dan mencegah apoptosis kondrosit. Mekanisme tersebut berperan dalam mengurangi inflamasi sinovial, pengurangan stres oksidatif, dan perlindungan kartilago articular sehingga dapat memperlambat progresivitas osteoarthritis (Liu *et al.*, 2024; Wang *et al.*, 2025).

Dari penjelasan di atas menunjukkan bahwa belum adanya penelitian yang secara khusus mengidentifikasi kandungan metabolit sekunder pada *Z. officinale* dan potensinya untuk berinteraksi dengan enzim terapeutik seperti COX-2. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi profil senyawa metabolit dalam *Z. officinale* dengan menggunakan instrumen *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS) dan mengevaluasi potensi antiinflamasi melalui simulasi *in silico molecular docking* terhadap protein 3OLS (reseptor estrogen beta) dan 5KIR (reseptor COX). Metode GC-MS digunakan karena ketepatan dalam memisahkan dan mengidentifikasi struktur metabolit volatil (Al-Harrasi *et al.*, 2021).

METODE

Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan studi deskriptif eksploratif berbasis *in silico* yang dilakukan secara eksperimental di laboratorium. Metode yang digunakan meliputi *untargeted metabolite profiling* dengan GC-MS dan simulasi *molecular docking*. Kegiatan penelitian dilaksanakan pada November-Desember 2025 di Laboratorium Bahan Alam Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang dan Laboratorium Riset Terpadu Universitas Brawijaya.

Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan *Ultrasonic Water Bath*, *rotary evaporator* (Heidolph Hei-VAP Core), instrumen GC-MS (Shimadzu QP2010 SE), timbangan analitik, serta perangkat gelas laboratorium. Perangkat keras yang digunakan adalah laptop Axioo Hype 5 (AMD Ryzen™ 5 5500U), Avogadro, PyRx 0.8 (AutoDock Vina),

Biovia Discovery Studio Visualizer 2021, serta akses web SwissADME dan Protein Data Bank (RCSB).

Bahan yang digunakan Serbuk simplisia rimpang Jahe Emprit (*Zingiber officinale* var. Amarum) dari UPT Materia Medika Batu, *n*-Heksan (SmartLab), dan protein target 3OLS serta 5KIR yang diperoleh dari rcsb.org (Puzianowska-Kuznicka *et al.*, 2021).

Prosedur Pembuatan Ekstrak

Sebanyak 30 g serbuk rimpang *Z. officinale* diekstraksi dengan 450 mL *n*-heksana (rasio 1:15) menggunakan ultrasonic bath (3 × 10 menit, 30°C). Ekstrak disaring untuk memperoleh fraksi cair. Residu diekstraksi ulang dua kali dengan masing-masing 150 mL *n*-heksana. Seluruh fraksi cair digabungkan dan diuapkan dengan *rotary evaporator*, kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental (Mao *et al.*, 2019).

Analisis Metabolite Profiling (GC-MS)

Identifikasi senyawa menggunakan Shimadzu ULTRA GC-MS QP2010 SE Single Quadrupole. Fase diam menggunakan fenil metil siloksan dan fase gerak gas Helium dengan suhu kolom 250°C. Mode injeksi bersifat *splitless* dengan total aliran 173,8 mL/min. Suhu sumber ion diatur pada 200°C dan suhu interface pada 270°C. Identifikasi senyawa dilakukan dengan membandingkan spektrum massa ligan dengan database Wiley9.lib. Program suhu oven diatur mulai dari 50°C hingga mencapai suhu akhir 282°C (Al-Harrasi *et al.*, 2021).

Penentuan Protein Target dan Preparasi Ligan Uji

Struktur kristal diperoleh dari Protein Data Bank yaitu 3OLS (sebagai model reseptor beta) dan 5KIR (sebagai model *cyclooxygenase-2*). File

diolah dengan menghapus molekul air dan ligan bawaan, kemudian ditambahkan hidrogen polar menggunakan AutoDock Tools (Morris *et al.*, 2009). Senyawa hasil GC-MS dipilih dengan kriteria *similarity* 80% dan relevansi farmakologis. Struktur 3D diperoleh dari PubChem, kemudian dioptimasi geometrinya menggunakan force field MMFF94 pada perangkat lunak Avogadro hingga mencapai energi konvergen (Hanwell *et al.*, 2012).

Validasi dan Simulasi Molecular Docking

Proses *docking* dilakukan menggunakan PyRx 0.8 dengan mesin AutoDock Vina. Validasi metode dilakukan melalui teknik *redocking* ligan alami ke kantong aktif masing-masing protein (3OLS dan 5KIR). Parameter keberhasilan validasi ditentukan berdasarkan nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) <2 Å (Forli *et al.*, 2016). Simulasi dilakukan terhadap seluruh senyawa uji untuk mendapatkan nilai *binding affinity* (kkal/mol).

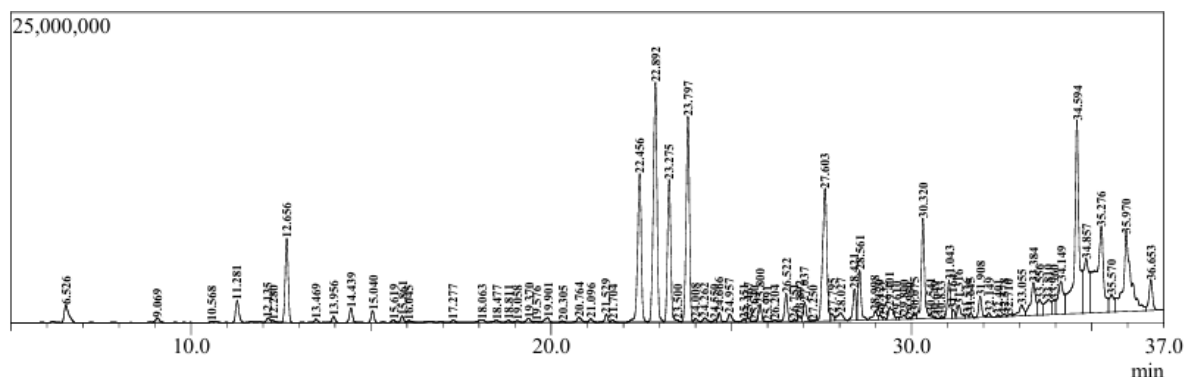
Visualisasi dan Analisis Data

Hasil docking divisualisasikan menggunakan Biovia Discovery Studio Visualizer 2021. Analisis mencakup pemetaan interaksi non-kovalen seperti ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, dan interaksi pi. Data disajikan dalam bentuk tabel afinitas pengikatan serta gambar interaksi 2D dan 3D untuk mengevaluasi potensi fitoestrogenik *Z. officinale* terhadap 3OLS dan 5KIR (Baksi *et al.*, 2021).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Senyawa Menggunakan GC-MS

Hasil analisis GC-MS ekstrak *n*-Heksan *Z. officinale* ditunjukkan pada **Gambar 1** yang menunjukkan bahwa hasil analisis GC-MS ekstrak *n*-Heksan *Z. officinale* menghasilkan sebanyak 87 senyawa yang terdeteksi.



Gambar 1. Hasil kromatogram ekstrak *n*-heksan *Z. officinale*

Hasil analisis GC-MS ekstrak *n*-Heksan *Z. officinale* kemudian dianalisis menggunakan MS berdasarkan spektra massa dengan library Wiley9.lib. Setelah diketahui nama-nama senyawa

yang terdeteksi, kemudian dipilih senyawa yang memiliki % *similarity* >80% untuk diketahui aktivitas farmakologinya. Yang didapatkan hasil pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Hasil GC-MS ekstrak *n*-Heksan *Z. officinale*

Nama Senyawa	R. Time	m/z	Area	SI (%)
.alpha.-terpinolene	9.077	71	431652	94
borneol	11.280	95	3265223	93
benzoic acid, 2-hydroxy-, methyl ester	12.284	120	122056	89
decanal	12.656	57	5560114	95
6-octen-1-ol, 3,7-dimethyl-	13.469	69	322330	94
trans-geraniol	14.440	69	2902909	96
citral	15.040	69	3566681	94
germacrene-d	18.809	161	129965	91
geranyl acetate	19.060	69	220991	94
benzaldehyde, 4-hydroxy-3-methoxy-	19.580	151	60844	84
dodecanal	19.905	57	294057	95
trans-caryophyllene	20.313	69	56294	90
valencene (cas)	20.751	161	360029	87
.beta.-farnesene	21.529	69	1104253	92
aromadendrene	21.706	69	71681	90
hedycaryol	24.545	59	186578	90
d-nerolidol	24.663	69	485448	86
farnesol	24.947	69	626993	88
(E,E)-pseudoionone	25.635	69	97636	88
nerolidol	25.798	69	1278317	86
3-methyl-hepta-1,6-dien-3-ol	25.994	71	113725	82
gossonorol	27.239	135	85259	80
2-butanone, 4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-	27.599	137	18954236	93
1,5,9,13-tetradecatetraene	29.953	67	40601	82
(-)-epicamphor	32.400	69	94989	80
6,11-dimethyl-2,6,10-dodecatrien-1-ol	33.557	69	775300	85

Keterangan: Retention Time (R.Time), Rasio massa terhadap muatan (m/z), Similarity Index (SI).

Pemilihan Senyawa yang Digunakan

Pada penelitian ini digunakan senyawa non-terpenoid dari hasil identifikasi GC-MS untuk membuktikan bahwa adanya senyawa non-terpenoid yang tertarik dengan menggunakan

pelarut *n*-Heksan dan dapat memiliki aktifitas farmakologi untuk penderita osteoarthritis. Senyawa non-terpenoid yang digunakan ditunjukkan pada **Tabel 2** yaitu.

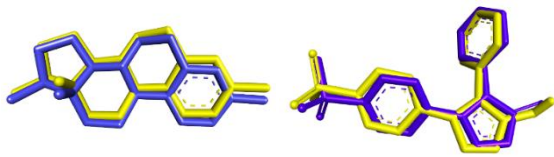
Tabel 2. Senyawa terpilih yang digunakan

Nama Senyawa	R. Time	m/z	Area	SI (%)
benzoic acid, 2-hydroxy-, methyl ester	12.284	120	122056	89
decanal	12.656	57	5560114	95
benzaldehyde, 4-hydroxy-3-methoxy-	19.580	151	60844	84
dodecanal	19.905	57	294057	95
(E,E)-pseudoionone	25.635	69	97636	88
3-methyl-hepta-1,6-dien-3-ol	25.994	71	113725	82
2-butanone, 4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-	27.599	137	18954236	93

Keterangan: Retention Time (R.Time), Rasio massa terhadap muatan (m/z), Similarity Index (SI).

Validasi Metode Penambatan

Visualisasi perbandingan *overlay* antara struktur native ligan sebelum dan sesudah redocking pada masing-masing protein target ditunjukkan pada **Gambar 2**



3OLS (Estradiol) 5KIR (Rofecoxib)
Gambar 2 *Overlay Native Ligand* sebelum (kuning) dan Estradiol Sesudah (biru) dilakukan *redocking*

Berdasarkan data interaksi molekuler, Senyawa-senyawa ini bekerja dengan meniru peran 17 beta-estradiol yang berikatan dengan reseptor estrogen untuk memicu respon biologis yang bersifat protektif terhadap sel tulang rawan (Xing *et al.*, 2022). Visualisasi menunjukkan bahwa sebagian besar senyawa uji menempati kantong

aktif yang sama dengan ligan alami melalui keterlibatan residu kunci seperti GLU305, ARG346, HIS475 pada 3OLS dan ILE517, PHE518, HIS90, TYR355, ALA527 pada 5KIR.

Interaksi ini diharapkan dapat menghambat proses inflamasi dan degradasi kartilago pada penderita osteoarthritis melalui jalur persinyalan hormon (Hunter & Bierma-Zeinstra, 2019). Penemuan ini memvalidasi penggunaan *Z. officinale* sebagai kandidat nutrasetika alami dalam manajemen kesehatan sendi jangka panjang (Baksi *et al.*, 2021).

Analisis Interaksi Spesifik pada Protein 3OLS

Pada protein target 3OLS digunakan positif estradiol menunjukkan nilai *Binding affinity* sebesar -11,4 kkal/mol dengan interaksi pada residu kunci GLU305, ARG346, dan HIS475. Dari berbagai senyawa metabolit *Z. officinale* yang diuji terhadap 3OLS, ditemukan bahwa (E,E)-pseudoionone (-6,8 kkal/mol), 2-butanone, 4-(4hydroxy-3-methoxyphenyl)- (-6,2 kkal/mol) dan dodecanal (-5,5 kkal/mol) menunjukkan afinitas pengikatan yang paling kuat dibandingkan senyawa lainnya yang di tunjukkan pada **Tabel 3**.

Tabel 3. Penambatan Molekul Senyawa *Z. officinale* Terhadap 3OLS

Ligan	<i>Binding affinity</i>	Residu Asam Amino	Persamaan Interkasi
Estradiol	-11.4	Ikatan Hydrogen: GLU305, ARG346, HIS475 Ikatan Pi-Pi T-shaped: PHE356 Ikatan Alkyl: ALA302, LEU343 Ikatan Pi-Alkyl: ILE373, ILE376	10/10 (100%)
Benzaldehyde, 4-hydroxy-3-methoxy-	-5.2	Ikatan Hydrogen: GLY472, HIS475 Ikatan Alkyl: ALA302 , MET336, LEU476 Pi-Alkyl: ILE373, ILE376	4/10 (40%)
Benzoic acid, 2-hydroxy-, methyl ester	-5.4	Ikatan Pi-Sigma: LEU339 Ikatan Pi-PI T-shaped: PHE356 Ikatan Pi-Alkyl: ALA302, LEU343	3/10 (30%)
Dodecanal	-5.5	Ikatan Hydrogen: HIS475 Ikatan Alkyl: LEU298, ALA302, LEU339 Ikatan Pi-Alkyl: LEU301, LEU343, PHE356	4/10 (40%)
Decanal	-5	Ikatan Alkyl: LEU301, ALA302, LEU339, MET340, ILE373 Ikatan Pi-alkyl: LEU298, LEU343, PHE356, PHE377	5/10 (50%)
2-butanone, 4-(4hydroxy-3-methoxyphenyl)-	-6.2	Ikatan Hydrogen: HIS475 Ikatan karbon Hydrogen: LEU298, GLU305 Ikatan Pi-Pi T-shaped: PHE356 Ikatan Alkyl: LEU343 Ikatan Pi-Alkyl: LEU302, ALA302	4/10 (40%)
3-methyl-hepta-1,6-dien-3-ol	-4.7	Ikatan Hydrogen: GLY473, HIS475 Ikatan Alkyl: ILE373, ILE376	3/10 (30%)
(E,E)-pseudoionone	-6.8	Ikatan Hydrogen: HIS475, LEU476 Ikatan Alkyl: LEU298, ALA302, LEU339 Ikatan Pi-alkyl: LEU343, PHE356	5/10 (50%)

Keterangan: (ΔG) menunjukkan nilai energi bebas, residu asam amino yang dicetak tebal menunjukkan memiliki kesamaan dengan *native ligand*, dan % *Similarity* menunjukkan jumlah kesamaan residu asam amino dengan *native ligand*.

Tingginya afinitas ini didukung oleh pembentukan interaksi hidrofobik yang ekstensif, seperti HIS475, menunjukkan adanya potensi aktivitas fitoestrogenik yang signifikan (Baksi *et al.*, 2021). Interaksi hidrogen dengan residu GLU305, ARG346, dan HIS475 berperan penting dalam aktivitas estrogenik. Mekanisme bersama dengan residu asam amino GLU305, HIS475, dan gugus fungsional dari ARG346 berinteraksi langsung membentuk ikatan hidrogen dengan

gugus hidroksil (-OH) senyawa estrogen (seperti 17 β -estradiol) atau senyawa fitoestrogen (seperti genistein) (Nilsson, 2022).

Analisis Interaksi Spesifik pada Protein 5KIR

Pada protein target 5KIR, kontrol positif Refocoxib menunjukkan nilai *Binding affinity* sebesar -10,0 kkal/mol dengan stabilitas interaksi pada residu ILE517 dan PHE518 yang didapatkan hasil pada **Tabel 4**.

Tabel 4. Penambatan Molekul Senyawa *Z. officinale* Terhadap 5KIR

Ligan	<i>Binding affinity</i>	Residu Asam Amino	Persamaan Interaksi
Rofecoxib	-10	Ikatan Hydrogen: ILE517, PHE518 Ikatan Carbon Hydrogen: HIS90, TYR355, ALA527 Ikatan Pi-sigma: SER353 Ikatan Pi-Alkyl: VAL349, LEU352, VAL523	9/9 (100%)
Benzaldehyde, 4-hydroxy-3-methoxy-	-5.8	Ikatan Hydrogen: TYR355, PHE518 Ikatan Carbon Hydrogen: GLN192 Ikatan Pi-sigma: SER353 Ikatan Alkyl: VAL523 Ikatan Pi-Alkyl: LEU352	5/9 (55,56%)
Benzoic acid, 2-hydroxy-, methyl ester	-6.2	Ikatan Carbon Hydrogen: SER353, ALA527 Ikatan Pi-sigma: VAL523 Ikatan Alkyl: LEU352 Ikatan Pi-Alkyl: VAL349, TYR355	6/9 (66,67%)
Dodecanal	-5.3	Ikatan Alkyl: LEU352, PHE518, VAL523 Ikatan Pi-alkyl: VAL349, ALA527, LEU531	5/9 (55,56%)
Decanal	-5.2	Ikatan Alkyl: HIS90, ARG513, ALA516, VAL523 Ikatan Pi-alkyl: LEU352, TRP387, PHE518, ALA527	5/9 (55,56%)
2-butanone, 4-(4hydroxy-3-methoxyphenyl)-	-6.9	Ikatan Carbon Hydrogen: GLN192, GLY526 Ikatan Alkyl: LEU352, VAL523 Ikatan Pi-alkyl: ALA516, PHE518	3/9 (33,33%)
3-methyl-hepta-1,6-dien-3-ol	-4.9	Ikatan Hydrogen: MET522 Ikatan Alkyl: LEU352, VAL523	2/9 (22,22%)
(E,E)-pseudoionone	-7.2	Ikatan Hydrogen: ILE517, PHE518 Ikatan Alkyl: VAL349, LEU352, ALA527 Ikatan Pi-alkyl: TYR385, TRP387	5/9 (55,56%)

Keterangan: (ΔG) menunjukkan nilai energi bebas, residu asam amino yang dicetak tebal menunjukkan memiliki kesamaan dengan *native ligand*, dan % *Similarity* menunjukkan jumlah kesamaan residu asam amino dengan *native ligand*.

Selain itu, senyawa (E,E)-pseudoionone (-7,2 kkal/mol), 2-butanone, 4-(4hydroxy-3-methoxyphenyl)- (-6,9 kkal/mol), dan Benzoic acid, 2-hydroxy-, methyl ester (-6,2 kkal/mol) juga menunjukkan potensi pengikatan yang kuat pada 5KIR. Secara umum, senyawa metabolit *Z. officinale* menunjukkan persentase persamaan interaksi yang lebih tinggi pada 5KIR dibandingkan 3OLS, dengan nilai tertinggi mencapai 66,67% pada senyawa Benzoic acid, 2-hydroxy-, methyl ester. Hal ini mengindikasikan bahwa metabolit *Z.*

officinale memiliki selektivitas yang lebih baik terhadap enzim *cyclooxygenase-2* yang secara klinis lebih menguntungkan untuk terapi osteoarthritis karena minimnya efek samping proliferaif pada jaringan reproduksi (Rietjens *et al.*, 2017). Secara keseluruhan, pengaruh senyawa *Z. officinale* terhadap ER- β dan COX-2 menunjukkan bahwa ekstrak *n*-Heksan memiliki potensi farmakologis yang luas. Interaksi hidrogen dengan residu kunci pada kedua protein target memberikan dasar molekuler bagi aktivitas antiosteoporosis,

antikanker, dan antiinflamasi. Dengan dukungan data *docking* ekstrak *n*-heksan *Z. officinale* dapat dipertimbangkan sebagai kandidat fitofarmaka untuk terapi penyakit degeneratif, inflamasi kronis, dan kanker hormon dependent.

Prediksi profil Fisikokimia Senyawa Aktif *Z. officinale*

Berdasarkan hasil uji prediksi sifat

fisikokimia pada senyawa aktif *Z. officinale* menggunakan aturan 5 lipinski, ditunjukkan pada **Tabel 5**. Prediksi profil fisikokimia berdasarkan kriteria aturan lima lipinski terdiri dari berat molekul (BM) ≤ 500 g/mol, lipofilitas (LogP) ≤ 5 , donor ikatan hydrogen (HBD) ≤ 5 , dan akseptor ikatan hydrogen (HBA) ≤ 10 (Mujtahid *et al*, 2024).

Tabel 5. Prediksi Profil Fisikokimia Senyawa Aktif *Z. officinale*

Nama Senyawa	Rumus Kimia	Aturan Lima Lipinski			
		LogP	HBD	HBA	BM
benzoic acid, 2-hydroxy-, methyl ester	C8H8O3	1,179	1	3	152,15
decanal	C10H20O	3,326	0	1	156,27
benzaldehyde, 4-hydroxy-3-methoxy-	C8H8O3	1,213	1	3	152,15
dodecanal	C12H24O	4,106	0	1	184,32
(E,E)-pseudoionone	C13H20O	3,824	0	1	192,30
3-methyl-hepta-1,6-dien-3-ol	C8H14O	1,890	1	1	126,20
2-butanone, 4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-	C11H14O3	1,922	1	3	194,23

Keterangan: Lipofilitas (LogP), Donor Ikatan Hidrogen (HBD), Akseptor Ikatan Hidrogen (HBA), dan Berat Molekul (BM).

Berdasarkan hasil prediksi aturan lima lipinski, bahwa ligan uji *Z. officinale* memiliki berat molekul rendah yaitu <500 g/mol, yang menunjukkan kemampuannya untuk menembus membran biologis secara efisien (Ruswanto *et al.*, 2022). Hal ini menunjukkan bahwa hasil berat molekul memenuhi aturan lima lipinski.

Parameter selanjutnya yakni lipofilitas (LogP). Semakin besar nilai LogP, maka sifat senyawa tersebut semakin hidrofobik dan molekul yang terlalu hidrofobik cenderung mempunyai tingkat toksisitas tinggi karena akan tertahan lebih lama pada lipid bilayer dan terdistribusi lebih luas dalam tubuh sehingga selektifitas ikatan enzim target menjadi berkurang. Nilai LogP yang terlalu bernilai negatif juga tidak baik karena molekul tersebut tidak bisa melewati membrane lipid bilayer (Mujtahid *et al.*, 2024). Pada hasil prediksi yang ditunjukkan di atas semua senyawa menunjukkan hasil yang baik dengan LogP <5 .

Aturan lima lipinski selanjutnya yakni ikatan hidrogen donor dan akseptor ikatan donor merupakan parameter yang menentukan kemampuan senyawa dalam membentuk ikatan hidrogen dengan target biologisnya. Semakin rendah jumlah ikatan hidrogen yang dibentuk, maka semakin rendah energi yang diperlukan untuk berinteraksi dengan target biologis dan semakin mudah molekul diabsorpsi oleh tubuh (Muslikh *et al.*, 2022). Hasil prediksi yang didapatkan yakni semua senyawa memiliki nilai ikatan hidrogen donor <5 dan ikatan hidrogen akseptor <10 yang menunjukkan hasil memenuhi syarat lima lipinski. Dengan demikian, hasil evaluasi terhadap parameter aturan lipinski yaitu berat molekul, LogP, ikatan hidrogen donor, dan ikatan hidrogen resptor bahwa senyawa aktif *Z. officinale* menunjukkan hasil yang baik dan memenuhi syarat aturan lima Lipinski.

Senyawa aktif ekstrak *n*-heksan *Z. officinale* memiliki potensi farmakologis melalui interaksi dengan reseptor estrogen beta (ER- β) dan

enzim *cyclooxygenase-2* (COX-2). Senyawa seperti (E,E)-pseudoionone mampu berikatan dengan residu penting pada ER- β yang berperan dalam regulasi aktivitas estrogen, sedangkan afinitas terhadap COX-2 mengindikasikan potensi penghambatan proses inflamasi melalui penurunan sintesis prostaglandin. Kombinasi aktivitas tersebut menunjukkan bahwa ekstrak *Z. officinale* berpotensi memberikan efek antiosteoarthritis, antiinflamasi, antiosteoporosis, dan antikanker. Selain itu, kandungan senyawa bioaktifnya juga dilaporkan memiliki aktivitas hepatoprotektif, sehingga mendukung pengembangan ekstrak *n*-heksan *Z. officinale* sebagai kandidat fitofarmaka alami untuk terapi berbagai penyakit degeneratif dan inflamasi kronis (Kurniawan & Sari, 2023).

KESIMPULAN

Analisis GC-MS berhasil mengidentifikasi 87 senyawa metabolit, dan tujuh diantaranya merupakan senyawa non-terpenoid berdasarkan nilai *similarity index* ($>80\%$). Hasil penambatan molekul menunjukkan bahwa seluruh senyawa uji mampu berinteraksi dengan reseptor estrogen beta (3OLS) dan enzim *cyclooxygenase-2* (5KIR). Senyawa (E,E)-pseudoionone menunjukkan afinitas pengikatan terbaik terhadap kedua protein target 3OLS dan 5KIR.

SARAN

Berdasarkan hasil penelitian tersebut, disarankan agar penelitian selanjutnya difokuskan pada isolasi dan karakterisasi senyawa aktif yang menunjukkan afinitas terbaik, khususnya (E,E)-pseudoionone. Selain itu, diperlukan pengujian *in vitro* dan *in vivo* untuk memvalidasi aktivitas antiinflamasi, fitoestrogenik, keamanan, serta efektivitas senyawa terhadap osteoarthritis. Kajian lanjutan juga perlu mencakup simulasi *molecular dynamics*, analisis energi bebas pengikatan, serta evaluasi ADMET dan toksisitas agar diperoleh

informasi yang lebih komprehensif mengenai stabilitas interaksi ligan-protein dan kelayakan senyawa sebagai kandidat fitofarmaka untuk terapi osteoarthritis.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada IOM Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang terkait bantuan pendanaan dalam pelaksanaan penelitian ini serta ucapan terima kasih kepada dosen pembimbing dan penguji sebagai peer reviewer.

DAFTAR PUSTAKA

1. Abdi, F., Mobedi, H., Roozbeh, N., & Abbasi, N. (2021). Estrogen therapy and osteoarthritis: A systematic review. *Climacteric*, 24(5), 435–445.
2. Al-Harrasi, A., Khan, A. L., Rehman, N. U., & Al-Rawahi, A. (2021). GC-MS Metabolite Profiling and Biological Activities of Ginger. *Molecules*, 26(5), 1210.
3. Bakshi, S., Sharma, M. K., Borah, A., & Srivastav, S. (2021). Phytoestrogens and their health-promoting effects: A molecular docking study. *Journal of Food Biochemistry*, 45(11), e13976.
4. Bannuru, R. R., Osani, M. C., Vaysbrot, E. E., Arden, N. K., & Bennell, K. (2019). OARSI guidelines for the non-surgical management of knee, hip, and polyarticular osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*, 27(11), 1578–1589.
5. Cui, A., Li, H., Wang, D., Zhong, J., Chen, Y., & Lu, H. (2020). Global, regional, and national burden of osteoarthritis, 1990–2017: a systematic analysis. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 79(6), 811–819.
6. Dallakyan, S., & Olson, A. J. (2015). PyRx: Virtual Screening Tool for Computational Drug Discovery. *Methods in Molecular Biology*, 1263, 243–250.
7. Goodsell, D. S., Morris, G. M., & Olson, A. J. (2020). AutoDock Tools: Preparation of Ligands and Receptors for Docking. *Journal of Computational Chemistry*, 41(5), 456–462.
8. Hanwell, M. D., Curtis, D. E., Lonie, D. C., Vandermeersch, T., Zurek, E., & Hutchison, G. R. (2012). Avogadro: An advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform. *Journal of Cheminformatics*, 4(1), 17.
9. Hartuti, S., & Supardan, M. D. (2015). Penentuan Bentuk Protonasi Senyawa Berdasarkan pKa. *Jurnal Kimia dan Farmasi*, 3(2), 89–96.
10. Hida, I., & Fatoni, R. (2025). Gambaran Penggunaan Obat Antiinflamasi Non Steroid Pada Pasien Penderita Osteoarthritis di Instansi Rawat jalan RSUD Kajen Periode Januari – Oktober 2024. *An-Najat: Jurnal Ilmu farmasi dan Kesehatan*. 3(1)
11. Hunter, D. J., & Bierma-Zeinstra, S. (2019). Osteoarthritis. *The Lancet*, 393(10182), 1745–1759.
12. Katz, J. N., Arant, K. R., & Loeser, R. F. (2021). Diagnosis and Management of Osteoarthritis. *JAMA*, 325(6), 568–578.
13. Mao, Q. Q., Xu, X. Y., Cao, S. Y., Gan, R. Y., Corke, H., & Li, H. B. (2019). Bioactive Compounds and Bioactivities of Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Foods*, 8(6), 185.
14. Morris, G. M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M. F., Belew, R. K., Goodsell, D. S., & Olson, A. J. (2009). AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of Computational Chemistry*, 30(16), 2785–2791.
15. Mujtahid, I. F., Razak, R., & Najib, A. (2024). Studi In Silico Prdiksi Sifat Fisikokimia dan Toksisitas senyawa Tectoquinone Sebagai α -Glukosidase Inhibitor. *Makassar Natural Product Journal*, 2[3](22), 215-221.
16. Puzianowska-Kuznicka, M., Kurylowicz, A., & Polosak, J. (2021). The Estrogen Receptors as Potential Therapeutic Targets. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(23), 13111.
17. Rafida Zida, N., Hartati, S., & Maulidya, R. (2023). Optimasi Ekstraksi Senyawa Aktif *Z. officinale* dengan UAE. *Jurnal Teknologi Farmasi*, 11(3), 120–128.

18. RCSB PDB. (2024). *Protein Data Bank: Structure of Estrogen Receptors*. Retrieved from <https://rcsb.org>
19. Rietjens, I. M., Louisse, J., & Beekmann, K. (2017). The molecular mechanisms underlying the pleiotropic effects of phytoestrogens. *British Journal of Pharmacology*, 174(11), 1263–1280.
20. Slimani, H.V., Montelongo, J. H., & Salazar, L. A. (2025). Recent Developments in Osteoarthritis Research: Innovative Therapeutic Approaches and the Role of Polyphenols and Nanotechnology. *International Journal of Molecular Sciences*. 26(18), 8925.
21. Sun, Y., Zhang, L., Wang, H., & Nugroho, R. (2021). In Silico Screening of Phytochemicals Against Estrogen Receptors. *Indonesian Journal of Computational Biology*, 4(2), 55–63.
22. Xing, D., Xiao, Y., Guo, J., & Lin, J. (2022). Estrogen and osteoarthritis: Basic mechanisms and clinical perspectives. *Frontiers in Endocrinology*, 13, 822160.