

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Inflamasi

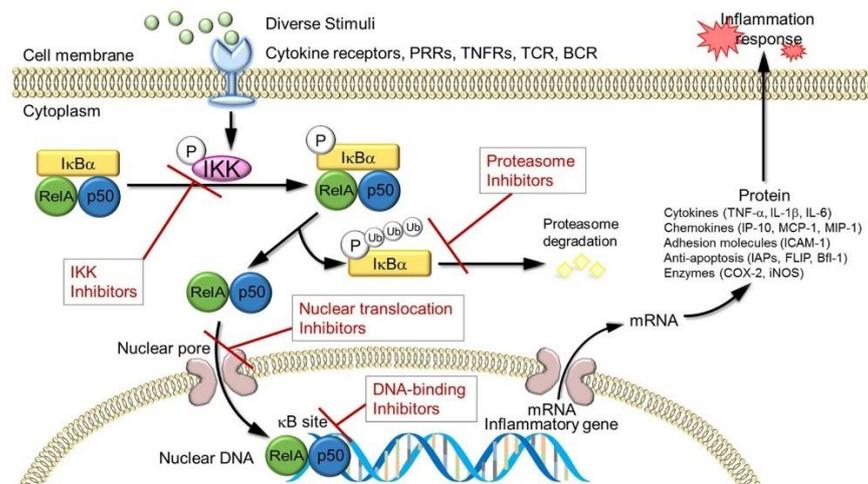
Inflamasi merupakan upaya untuk menghilangkan pemicu terjadinya luka (infeksi) sebagai respon dari sistem kekebalan dan untuk mengawali proses terjadinya penyembuhan luka. Inflamasi dapat menguntungkan secara intrinsik yang mengarah pada pengangkatan faktor penyebab dan pemulihan struktur jaringan serta fungsi fisiologis (Ricciotti & Fitzgerald, 2011). Meskipun demikian, inflamasi yang bersifat progresif atau berlebihan dapat menimbulkan penyakit-penyakit tertentu yang tidak diinginkan seperti demam, periodonitis, aterosklerosis, rheumatoid arthritis, diabetes, dan kanker. Hal-hal yang tidak diinginkan tersebut terjadi karena keluarnya enzim-enzim fagositosis dari sel-sel fagosit, seperti *phagocyte oxydase*, *inducible nitric oxyde synthase*, *lysosomal protease* dan mediator inflamasi yang memproduksi senyawa-senyawa radikal bebas superoksida yang dapat menyebabkan luka pada jaringan sekitar (Hamzah *et al.*, 2015).

2.2 Jenis Dan Mekanisme Inflamasi

2.2.1 Inflamasi Akut

Peradangan akut adalah proses jangka pendek. Peradangan akut dapat berlangsung selama beberapa menit, tetapi dapat berlangsung lebih lama hingga beberapa hari tergantung pada jenis cederanya (Padsalgikar, 2017). Fase akut inflamasi ditandai granulosit darah yang cepat, munculnya neutrofil, kemudian disusul oleh monosit matang menjadi makrofag residen yang berproliferasi dan berdeferensiasi ke jaringan rusak. Proses ini menyebabkan tanda-tanda utama peradangan akut: rubor (kemerahan), calor (panas), tumor (bengkak), dan dolor (nyeri) (Ricciotti & Fitzgerald, 2011).

Kalor (panas) ditandai adanya sensasi panas yang disebabkan oleh peningkatan pergerakan darah melalui pembuluh yang melebar ke ekstremitas atau jaringan disekitar lingkungan inflamasi. Rubor (kemerahan) disebabkan karena bertambahnya jumlah eritrosit yang melewati area tersebut. Edema (pembengkakan) adalah hasil dari peningkatan aliran cairan dari pembuluh darah yang melebar pada permeabel ke jaringan sekitarnya, infiltrasi sel ke area yang rusak, dan pengendapan respon inflamasi yang berkepanjangan dari jaringan ikat. Dolor (nyeri) disebabkan oleh efek langsung mediator inflamasi, baik dari kerusakan awal atau akibat respons inflamasi itu sendiri dan peregangan saraf sensorik akibat edema (Punchard *et al.*, 2004).

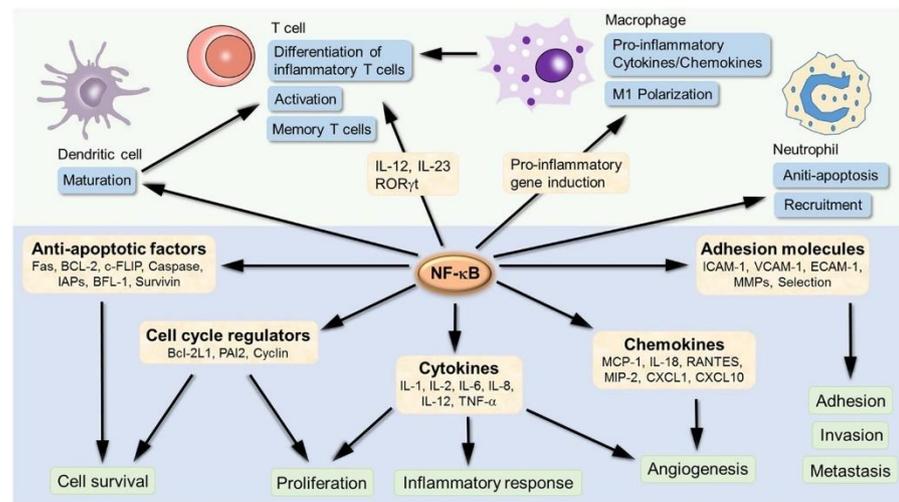


Gambar 2. 1 Mekanisme inflamasi secara molekuler

Sumber: Liu *et al.*, 2017

Reaksi inflamasi dimulai ketika reseptor sel imun bawaan mengenali pola molekuler spesifik yang berasal dari patogen. *Pathogen-Associated Molecular Patterns* (PAMP) merupakan molekul spesifik berasal dari mikroorganisme yang dikenali oleh reseptor sel imun bawaan yaitu *Pattern Recognition Receptors* (PRR) seperti *Toll-Like Receptors* (TLRs). Disisi lain *Damage-Associated Molecular Patterns* (DAMPs) memulai dan mengaktifkan reaksi imun sebagai respons terhadap trauma, iskemia, atau kerusakan jaringan oleh infeksi patogen.

PRR mengaktifasi jalur respons imun sentral: *Nuclear Factor Kappa-Light-Chain-Enhancer* aktivasi sel B (NF- κ B) yang diaktivasi IKK, I κ B- α , *Mitogen-Activated Protein Kinases* (MAPKs) dan *Interferon Regulatory Factors* (IRFs). Setelah keterlibatan PRR, sel imun dan non-imun menghasilkan sitokin inflamasi, interferon tipe I, kemokin, dan peptida antimikroba (Hirayama *et al.*, 2018; Steinbach & Plevy, 2014).



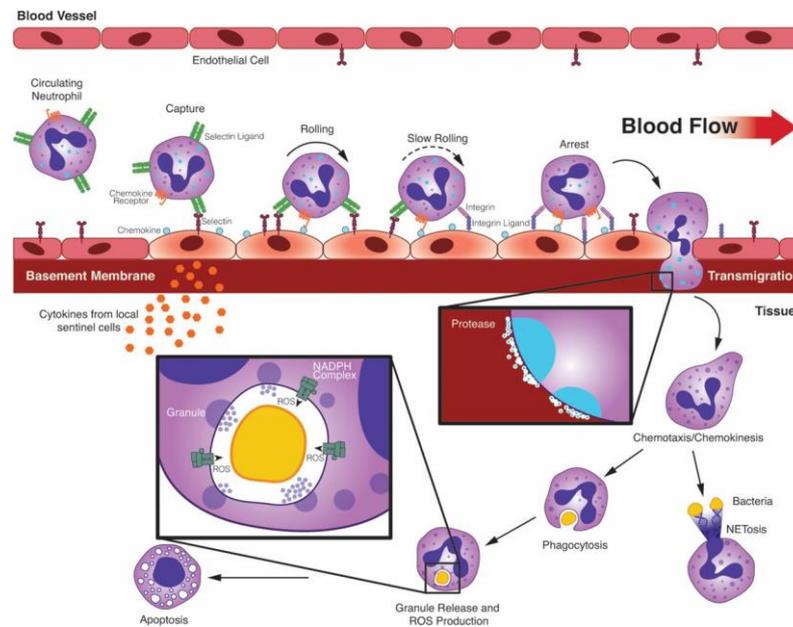
Gambar 2. 2 Peran mekanisme signal NF- κ B dalam menginduksi inflamasi

Sumber: Liu *et al.*, 2017

Salah satu tanda utama peradangan akut adalah pengangkutan sel darah putih atau leukosit ke lokasi cedera. Awalnya, leukosit yang terdiri dari neutrofil, mediator inflamasi (termasuk histamin, ileukotrien sistein, dan sitokin) dan aktivasi PRR membuat permukaan jaringan sel endotel berubah. P-selektin dan E-selektin meningkat konsentrasinya pada permukaan sel endotel, kedua selektin tersebut menangkap leukosit (neutrofil dan monosit) yang mengalir bebas dalam darah ke jaringan endotel daerah cedera sel-sel dan melakukan penyembuhan.

Peran utama leukosit pada peradangan akut adalah untuk memfagositkan benda asing. Fagositosis adalah proses dimana bahan asing diserap dan diinternalisasikan ke dalam tubuh oleh leukosit.

Proses fagositosis berlangsung dengan menelan bahan asing sepenuhnya. Namun, peristiwa tertentu dalam fagositosis dapat terjadi pada peradangan akut meskipun ada perbedaan ukuran. Ketika peradangan akut mereda, neutrofil digantikan oleh monosit dan monosit berdiferensiasi menjadi makrofag (Caster *et al.*, 2017; Padsalgikar, 2017)



Gambar 2. 3 Mekanisme netralisasi neutrofil sebagai respon terhadap antigen

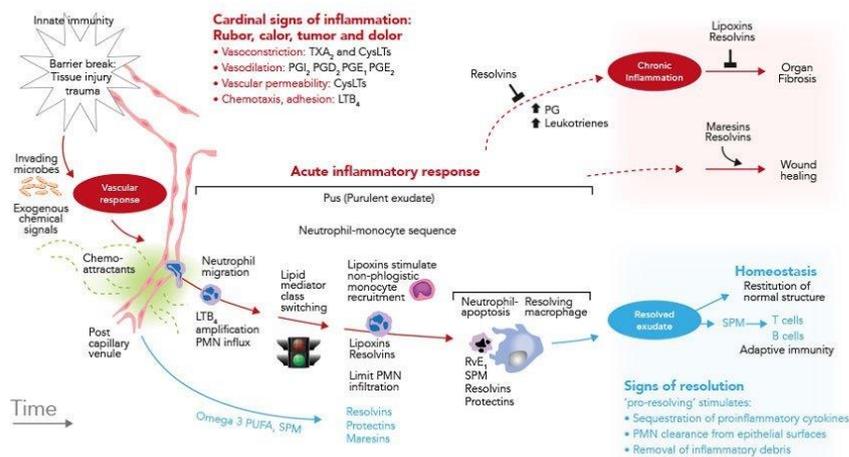
Sumber: Caster *et al.*, 2017

Setelah stimulus berbahaya dihilangkan melalui fagositosis, reaksi inflamasi dapat menurun dan sembuh. Selama penurunan peradangan, granulosit dihilangkan, makrofag dan limfosit kembali ke keadaan normal. Keadaan tersebut merupakan respon dari perbaikan kerusakan jaringan, namun tidak menyebabkan disfungsi respons inflamasi yang dapat menyebabkan jaringan parut dan hilangnya fungsi organ (Ricciotti & Fitzgerald, 2011)

2.2.2 Inflamasi Kronik

Inflamasi kronik merupakan peradangan yang berlangsung lama (mingguan, bulanan, bahkan sampai tahunan) dimana terjadi banyak cedera jaringan dan penyembuhan berlangsung secara bersamaan dalam kondisi normal. Secara histologis ditandai dengan infiltrasi sel mononuklear termasuk makrofag, limfosit, sel plasma, kerusakan jaringan oleh produk sel inflamasi, dan perbaikan yang melibatkan angiogenesis juga fibrosis. Inflamasi kronis yang patologis mendasari berbagai penyakit kronis antara lain penyakit autoimun, kanker, penyakit neurodegeneratif, penyakit vaskular, dan sindrom metabolik (Miyasaka & Takatsu, 2016).

Kegagalan sistem imun pertahanan pertama yang dimediasi oleh makrofag dan neutrofil akan menyebabkan inflamasi kronis. Makrofag dan sel dendrit pada fase inflamasi akut akan banyak mengeluarkan prostaglandin, sitokin dan mediator pro-inflamasi seperti $TNF-\alpha$, $IL-1\beta$, *Interleukin-6* (IL-6), and *Interleukin-8* (IL-8). IL-6 merupakan salah satu mediator pro-inflamasi yang mengaktifkan diferensiasi sel B, sekresi imunoglobulin dan aktivasi sel T (Pahwa & Jialal, 2019).



Gambar 2. 4 Mekanisme terjadinya inflamasi kronik

Sumber : Buckley *et al.*, 2014

Sel limfosit T naif (matang) akan beredar ke darah dan organ limfoid menuju jaringan yang terkena inflamasi hingga bertemu dengan antigen spesifiknya. Setelah kontak, mereka memperbanyak diri dan memperoleh sifat untuk mengumpulkan respon imun berupa eliminasi antigen, homeostasis, bahkan membentuk sel memori sebagai respon cepat bila terjadi infeksi lagi. Satu set sel memori terbentuk dapat bertahan selama bertahun-tahun sehingga dapat memberikan perlindungan dari infeksi berulang oleh patogen yang sama. Sel limfosit T juga melakukan proliferasinya sendiri, meskipun sebagian besar sel yang efektif mati. Pada proses ini terjadi respons kekebalan spesifik terhadap patogen yang menyerang (Moro-García *et al.*, 2018).

Disaat bersamaan sel B naif yang merespon signal pro-inflamasi, akan bermigrasi dari sumsum tulang belakang ke organ atau jaringan limfoid (limpa dan kelenjar getah bening). Jika ditemukan antigen oleh sel B natif, maka sel B akan teraktivasi dan berdeferensiasi menjadi sel plasma yang mensekresikan antibodi spesifik berupa immunoglobulin (Ig) untuk menyerang antigen yang masuk atau membentuk sel B memori. Sedangkan sel B yang tidak bertemu antigen tetap bersirkulasi di jaringan limfoid (King, 2007). Sel B dan sel T sangatlah berperan besar dalam perlawanan antigen yang berada difase inflamasi kronik.

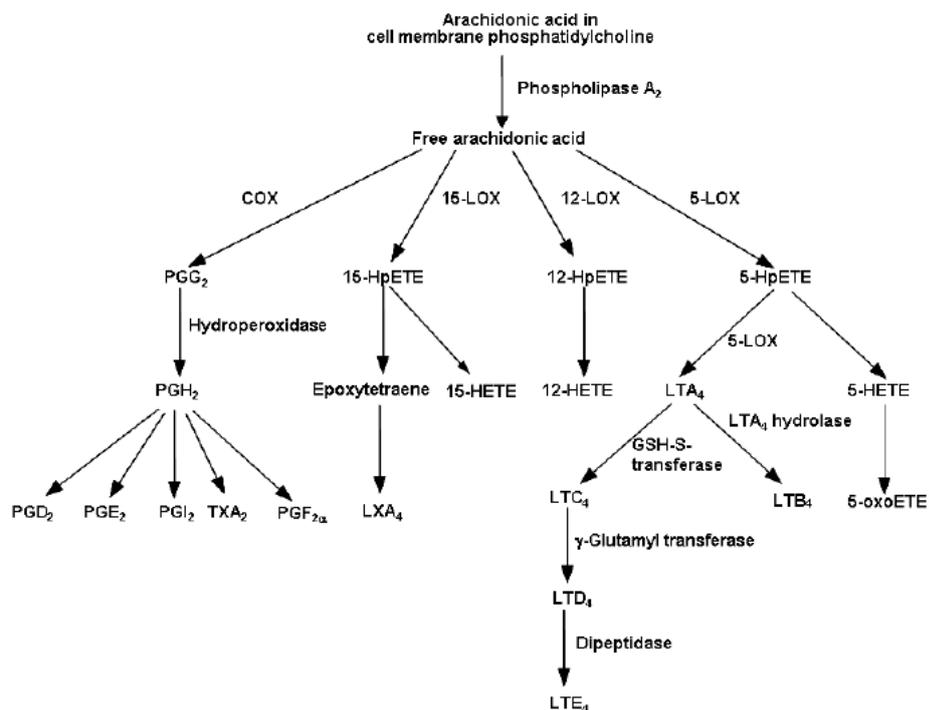
2.3 Mediator Inflamasi Jalur Asam Arakidonat

Peradangan akut atau kronis dikontrol oleh mediator kimiawi seperti sitokin, kemokin, histamin, serotonin, dan eikosanoid. TNF- α adalah sitokin yang mengaktifkan NF- κ B, salah satu faktor transkripsi sentral dalam proses inflamasi. Aktivasi NF- κ B mempromosikan transkripsi gen tertentu untuk mengkode sintesis sitokin, kemokin, enzim pro-inflamasi jalur asam arakidonat (COX-1, COX-2, 5-LOX, dan iNOS). Enzim tersebut berperan dalam pengontrolan biosintesis mediator pro-inflamasi seperti prostaglandin, prostasiklin, tromboksan, leukotrien, dan NO. Masing-masing mediator pro-inflamasi tersebut menyebabkan gejala peradangan seperti vasokonstriksi atau

penyumbatan, vasopermeabilitas, koagulasi, nyeri, dan demam (Uivarosi *et al.*, 2018).

2.4 Asam Arakidonat

Asam arakidonat (AA) adalah prekursor metabolik paling esensial untuk berbagai jalur inflamasi (Ricciotti & Fitzgerald, 2011). Asam arakidonat akan menginduksi enzim COX yang menghasilkan prostaglandin penginduksi inflamasi dan enzim LOX yang menginduksi leukotriene mediator inflamasi. *Prostaglandin-endoperoxide synthase* (PTGS) atau lebih umum dikenal sebagai *Cyclooxygenase* (COX) adalah keluarga isozim yang bertanggung jawab untuk mengkatalisis reaksi pembentukan prostaglandin dan senyawa terkait asam arakidonat. Sampai saat ini terdapat 3 bentuk yang teridentifikasi dari enzim COX, yaitu: COX-1, COX-2 dan COX-3 (Sharma *et al.*, 2019)



Gambar 2. 5 Inflamasi jalur asam arakidonat

Sumber : Calder, 2010

2.4.1 *Cyclooxygenase-1 (COX-1)*

Cyclooxygenase-1 secara konstitutif diekspresikan dalam retikulum endoplasma, pembuluh darah, sel otot polos, dan sel mesotelial (Waller & Anthony P. Sampson, 2018). Enzim COX-1 diproduksi dalam kondisi fisiologis normal di mana ia bertanggung jawab untuk sintesis prostaglandin, penginduksi sifat sitoprotektif, mengatur aktivitas trombosit, fungsi ginjal dan lambung (D'mello *et al.*, 2011). COX-1 bertanggung jawab untuk produksi prostanoid yang menjaga aliran darah mukosa, mempromosikan sekresi, menghambat pelekatan neutrofil dan mempertahankan aliran darah (Taylor & Van Staden, 2002). Induksi COX-1 selama respon inflamasi dimediasi lipopolisakarida (Waller & Anthony P. Sampson, 2018). Penekanan COX-1 yang berlebihan dapat menyebabkan efek samping merugikan seperti penurunan aliran darah mukosa dan sekresi mukosa, lama penyembuhan ulkus, serta penurunan aliran darah ginjal (Taylor & Van Staden, 2002).

2.4.2 *Cyclooxygenase-2 (COX-2)*

Cyclooxygenase-2 memiliki konsentrasi yang lebih besar pada selubung inti diretikulum endoplasma dan ditemukan terutama di sel parenkim. COX-2 menghasilkan prostaglandin yang berhubungan dengan peradangan, nyeri dan demam. COX-2 secara efektif tidak ada di jaringan sehat, namun diinduksi dari sitokin, mitogen, dan rangsangan inflamasi patologis membuat enzim ini aktif berlebih. Sehingga prostanoid yang diturunkan dari COX-2 terbentuk dalam jumlah besar sebagai respons terhadap peradangan, nyeri dan demam (Waller & Anthony P. Sampson, 2018). Efek dari induksi stres seluler atau reaksi peradangan seperti stimulasi lipopolisakarida (LPS) maupun sekresi sitokin oleh interleukin (IL-1, IL-2), dan TNF- α menyebabkan pengeluaran COX-2 yang berlimpah (K. Lee *et al.*, 2020).

Pemeliharaan peradangan dilakukan oleh mediator pro-inflamasi, aktivitasnya diimbangi oleh mediator anti-inflamasi yang bertanggung jawab untuk membatasi peradangan setelah faktor pemicu dihilangkan. Namun ada beberapa faktor seperti stres, kelainan kromosom dan lingkungan dapat mengganggu keseimbangan dan menyebabkan produksi berlebih prostaglandin E₂ di jalur COX-2. Akibatnya mengarah pada penyakit yang dimediasi inflamasi termasuk kanker, reumatoid arthritis, alzheimer, skizofrenia dan gagal ginjal (Attiq *et al.*, 2018)

Arthritis adalah suatu bentuk peradangan yang berhubungan dengan induksi COX-2 yang bertanggung jawab atas peningkatan produksi prostaglandin. Induksi COX-2 pada rheumatoid arthritis dan osteoarthritis mempengaruhi kerusakan tulang rawan pada manusia. Prostaglandin E (PGE) membuat peka ujung saraf sensorik perifer di tempat peradangan yang menyebabkan rasa sakit selama peradangan (Vishwakarma & Negi, 2020).

Pada penyakit Alzheimer telah ditemukan peningkatan konsentrasi COX-2 dikorteks frontal otak. Oleh karena itu NSAID dapat menunjukkan pengobatan yang efektif untuk Penyakit Alzheimer karena sifat anti-platelet dari penekanan aktivitas COX-2 (Vishwakarma & Negi, 2020). Dalam skizofrenia dilaporkan terdapat ekspresi enzim COX-2 dan Prostaglandin E₂ (PGE₂) (Sharma *et al.*, 2019).

Produk enzimatik utama COX-2 adalah PGE₂. Baik COX-2 serta PGE₂ berperan dalam penyebab inflamasi dan kanker (Sharma *et al.*, 2019). Peningkatan regulasi dan ekspresi COX-2 yang berlebihan terutama terkait peradangan akan meningkatkan PGE₂ sehingga terjadi kehilangan fungsi apoptosis dan proliferasi sel yang tidak terkontrol pada akhirnya mengarah ke kanker (Gunaydin & Bilge, 2018).

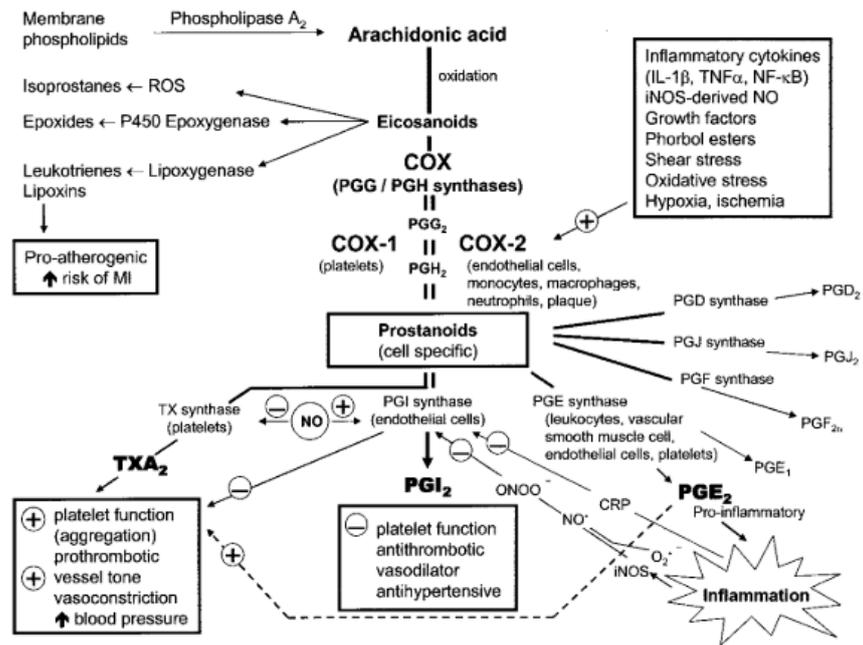
2.4.3 *Cyclooxygenase-3 (COX-3)*

Cyclooxygenase-3 adalah produk dari gen yang sama seperti COX-1, yang diekspresikan disumsum tulang belakang dan korteks serebral juga ditemukan di sel endotel, monosit, dan jantung dalam jumlah yang lebih kecil (Gunaydin & Bilge, 2018). COX-3 dianggap memainkan peran kunci dalam biosintesis prostanooid yang dikenal sebagai mediator penting dalam nyeri dan demam. Obat-obatan yang secara istimewa memblokir COX-1 juga tampak bekerja pada COX-3. Namun, keberadaan COX-3 pada tingkat urutan nukleotida pada manusia masih belum dipahami sepenuhnya.

Ciri khas COX-3 dibandingkan dengan COX-1 dan COX-2 adalah kepekaannya yang lebih besar terhadap asetaminofen. Berbagai penelitian telah menunjukkan bahwa asetaminofen hanya memiliki tindakan penghambatan yang lemah pada COX-1 dan COX-2, namun menghambat kuat pada COX-3. Obat anti-inflamasi non steroid (NSAID), seperti diklofenak dan ibuprofen merupakan penghambat COX-3 kuat yang diekspresikan dalam sel yang dikultur, tetapi karena sangat polar maka obat tersebut tidak mungkin mencapai COX-3 diotak (Zarghi & Arfaei, 2011).

2.4.4 **Prostaglandin**

Prostaglandin memainkan peran kunci dalam pembentukan respon inflamasi. Biosintesis mereka meningkat secara signifikan pada jaringan yang meradang dan berkontribusi pada perkembangan tanda-tanda utama peradangan akut. Pada peradangan patologis, COX-2 memiliki tingkatan ekspresi yang tinggi sehingga terbentuk sintesis Prostaglandin H₂ (PGH₂) dengan cepat diubah menjadi prostanooid (PGE₂, PGF₂ α , PGD₂, PGI₂) dan tromboxan A₂ (TXA₂) (Wongrakpanich *et al.*, 2018).



Gambar 2. 6 Jenis-jenis prostanoid dan tromboxan jalur asam arakidonat

Sumber: Jugdutt, 2007

Prostaglandin E₂ (PGE₂) adalah salah satu prostanoid paling melimpah yang diproduksi di dalam tubuh dan menunjukkan aktivitas biologis yang serba guna. Dalam kondisi fisiologis PGE₂ merupakan mediator penting dari banyak fungsi biologis seperti regulasi respons imun, menjaga tekanan darah, mengatur integritas gastrointestinal, dan kesuburan. Pada kondisi patologis seperti pada inflamasi, sintesis atau degradasi PGE₂ memberikan tanda klasik inflamasi berupa kemerahan, bengkak, dan nyeri. Kemerahan dan edema terjadi akibat peningkatan aliran darah ke jaringan yang meradang melalui augmentasi atau pengumpulan pada arteri sehingga terjadi dilatasi, kejadian itu dimediasi PGE₂. Nyeri adalah hasil dari respon PGE₂ pada neuron sensorik perifer dan di situs sentral didalam sumsum tulang belakang dan otak. PGE₂ juga memunculkan berbagai efek biologis tidak hanya pada peradangan namun juga terkait dengan kanker (Ricciotti & Fitzgerald, 2011; Wongrakpanich *et al.*, 2018).

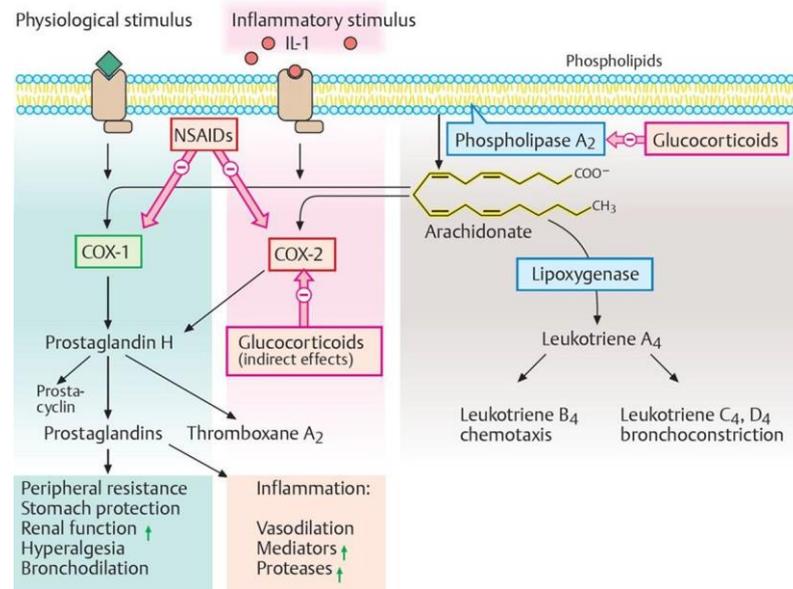
Peningkatan Prostaglandin I₂ (PGI₂) juga dapat berkontribusi pada efek kardiovaskular. PGI₂ merupakan mediator penting dari edema dan nyeri yang menyertai inflamasi akut. PGI₂ diproduksi dengan cepat setelah cedera jaringan atau inflamasi dan muncul dalam konsentrasi tinggi pada inflamasi. PGI₂ adalah prostanoid paling melimpah dalam cairan sinovial pada lutut sendi rematik manusia (Ricciotti & Fitzgerald, 2011).

2.5 Obat Anti-inflamasi

2.5.1 Steroid

Kortikosteroid mempengaruhi banyak langkah di jalur inflamasi, molekul steroid akan melintasi membran sel dan mengikat reseptor glukokortikoid. Kompleks glukokortikoid reseptor bergerak ke dalam inti sel, di mana ia mengikat gen yang menekan atau merangsang transkripsi. Akhirnya, agen ini menghambat faktor transkripsi yang mengontrol sintesis mediator pro-inflamasi, termasuk makrofag, eosinofil, limfosit, sel mast, dan sel dendrit (Williams, 2018).

Kortikosteroid juga menghambat gen yang bertanggung jawab dalam ekspresi COX-2, iNOS, dan sitokin pro-inflamasi (TNF- α dan interleukin). Mekanisme kortikosteroid lain yaitu dengan meregulasi protein lipokortin dan annexin A1 yang mengurangi sintesis prostaglandin dan leukotrien, menghambat COX-2, serta mengurangi migrasi neutrofil ke tempat inflamasi (Williams, 2018).



Gambar 2. 7 Mekanisme kerja obat glucocorticoid

Sumber : Erenow, 2020

Mekanisme non-genom terjadi lebih cepat dan dimediasi melalui interaksi antara reseptor glukokortikoid yang terikat membran. Dalam beberapa detik hingga menit terjadi aktivasi reseptor, serangkaian efek dimulai seperti penghambatan fosfolipase A₂ yang penting untuk produksi sitokin inflamasi. Penghambatan tersebut akan berefek pada gangguan pelepasan asam arakidonat (Hodgens & Sharman, 2020).

Glukokortikoid banyak digunakan dalam pengobatan peradangan. Berbeda dengan NSAID, agen ini tidak menghilangkan rasa sakit tetapi mengurangi peradangan dengan menghambat fungsi leukosit. Bahan aktif yang bertanggung jawab atas aktivitas anti-inflamasi korteks adrenal ini ditemukan pada tahun 1940-an (Punchard *et al.*, 2004). Kemungkinan efek samping terapi glukokortikoid terkait dengan perkembangan *peptic ulcer bleeding* dan penyakit *peptic ulcer*. Namun terdapat laporan bahwa penyembuhan tukak lambung tertunda oleh glukokortikoid melalui penghambatan ekspresi COX-2 dan sintesis prostaglandin E₂, walau tanpa penghambatan ekspresi COX-1 (Tseng *et al.*, 2015)

2.5.2 Obat Anti-Inflamasi Non Steroid (NSAID)

Obat anti-inflamasi nonsteroid adalah salah satu obat nyeri yang paling sering diresepkan diseluruh dunia, telah diperkirakan 30 juta orang / hari diseluruh dunia menggunakan NSAID. Kelas obat ini sangat efektif untuk nyeri dan peradangan dikarenakan efek analgesik, anti-inflamasi, dan antipiretiknya yang kuat. Mekanisme kerja NSAID yaitu dengan menghambat enzim siklooksigenase, yang berperan dalam biosintesis prostaglandin dan tromboksan yang merupakan mediator penting munculnya demam, nyeri, dan inflamasi (Gunaydin & Bilge, 2018).

NSAID dapat menekan produksi prostanoid PGE₂, penyebab inflamasi yang berasal dari COX-1 dan / atau COX-2. Namun, penggunaan NSAID yang berkepanjangan telah dikaitkan dengan efek samping yang serius dan terkadang mengancam nyawa. Oleh karena itu, sangat penting untuk menemukan rejimen terapeutik alternatif dengan kemanjuran terapi maksimal dan efek samping yang lebih sedikit (Attiq *et al.*, 2018)

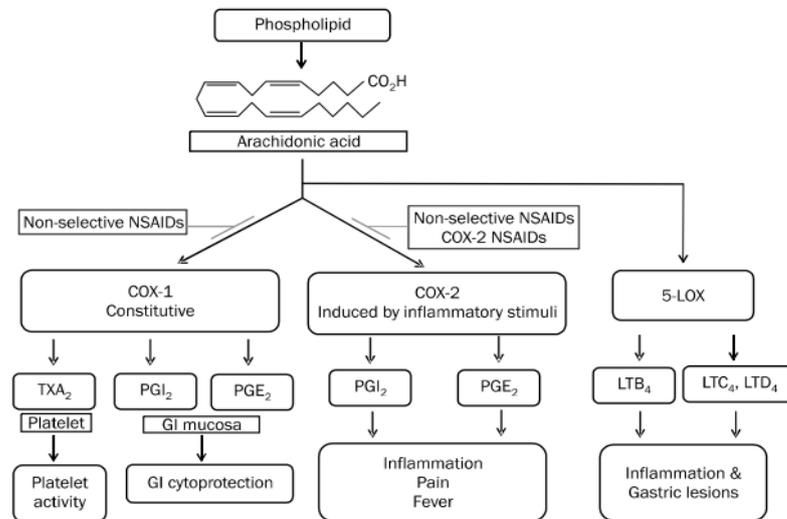
Tabel 2. 1 Klasifikasi obat non steroid anti inflamasi

Golongan Senyawa	Obat
Derivat salisilat	Terasetilasi : Aspirin, Difunisal Tidak Terasetilasi: Olsalazine, Choline Magnesium Trisalicylate, Asam Salicylsalicylic (Salsalate), Sodium Salisilat, Sulfasalazine
Derivat asam asetat	Indomethacin, Sulindac, Etodolac, Ketorolac, Diklofenak, Nabumetone
Derivat asam propionat	Ibuprofen, Naproxen, Fenoprofen, Ketoprofen, Flurbiprofen, Oxaprozin, Loxoprofen
Derivat asam fenamat	Asam Meklofenamik, Asam Mefenamat, Asam Flufenamik, Asam Tolfenamik
Derivat pirazolon	Aminopyrine, Antipyrine, Dipyrone
Asam enolat	Oxicam (Piroxicam, Tenoxicam), Pyrazolidinedion (Oxyphenthatrazone, Phenylbutazone)
Heterosiklik	Celecoxib, Valdecoxib, Rofecoxib, Etoricoxib
Aminofenol	Acetaminophen (Paracetamol)
Sulphonanilides	Nimesulide
Derivat benzoxazocin	Nefopain

Sumber: Hoque *et al.*, 2016; Kuritzky & Samraj, 2012; Sánchez-Borges, 2008

2.5.2.1 Anti-Inflamasi Non Steroid Non Selektif (NSAID Non Selektif)

Anti-inflamasi nonsteroid bekerja dengan cara memblokir enzim siklooksigenase dan menghambat sintesis prostaglandin diseluruh tubuh yang menyebabkan peradangan dan nyeri. Penghambatan NSAID non-selektif bekerja dengan menghambat enzim COX-1 dan enzim COX-2 yang berperan dalam sintesis prostaglandin inflamasi. Efek samping dari penghambatan COX-1 dan COX-2 menyebabkan kerusakan mukosa lambung dan saluran gastrointestinal (GI) bagian atas (Al-Saeed, 2011).



Gambar 2. 8 Jalur penghambatan obat NSAID non selektif

Sumber: Shim & Kim, 2016

NSAID non selektif yang salah satu fungsinya menghambat COX-1, sehingga pembentuk sintesis PGI₁ dan PGE₂ sebagai proteksi kerusakan gastrointestinal juga dihambat (Al-Saeed, 2011). Penelitian lain juga menunjukkan NSAID non selektif menghambat jalur COX-1 dan COX-2 yang mengakibatkan inhibitor enzim 5-LOX lebih aktif, sehingga Leukotrien B₄ (LTB₄), Leukotrien C₄ (LTC₄) dan Leukotrien D₄ (LTD₄) yang memediasi inflamasi dan kerusakan lambung lebih terinduksi (Shim & Kim, 2016). Efek sampingnya terjadi gangguan mukosa, komplikasi pada gastrointestinal yang serius seperti perdarahan, ulserasi dan perforasi (Al-Saeed, 2011).

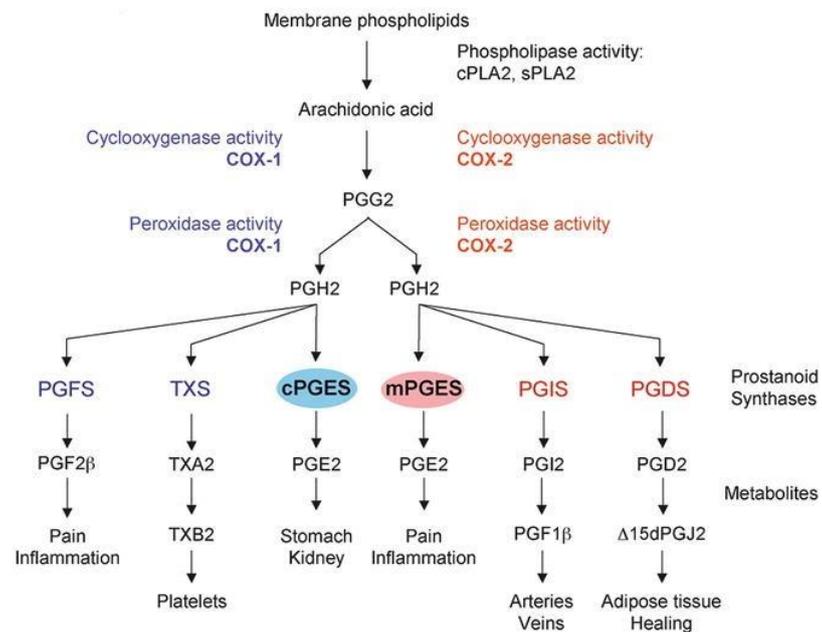
Tabel 2. 2 Klasifikasi obat NSAID non selektif

Mekanisme selektivitas obat	Obat
Inhibitor COX-1 lemah	Acetaminophen.
Inhibitor COX-1 dan COX-2	Acetylsalicylic acid, Piroxicam, Indomethacin, Sulindac, Tolmetin, Ibuprofen, Naproxen, Fenoprofen, Meclofenamate, Mefenamic acid, Diflunisal, Ketoprofen, Diclofenac, Ketorolac, Etodolac, Nabumetone, Oxaprozin, Flurbiprofen

Sumber: Sánchez-Borges *et al.*, 2010

2.5.2.2 Anti-Inflamasi Non Steroid Selektif (NSAID Selektif)

Obat anti inflamasi non steroid selektif hanya menghambat jalur COX-2 (Shim & Kim, 2016). Obat selektif COX-2 tidak hanya digunakan untuk mengurangi inflamasi, namun bisa sebagai kemoterapi kanker, penyakit saraf parkinson dan alzheimer (Zarghi & Arfaei, 2011). Inhibitor COX-2 dikembangkan untuk menekan produksi prostaglandin sehingga memberikan manfaat anti-inflamasi dan analgesik sambil meningkatkan aktivitas gastroprotektif dari COX-1. Data dari uji klinis telah mengkonfirmasi bahwa penghambat COX-2 terkait penurunan risiko patologis gastrointestinal pada sebagian besar pasien yang tidak menerima aspirin (Borer & Simon, 2005).



Gambar 2. 9 Jalur penghambatan obat NSAID selektif

Sumber: Tegeder, 2013

Penghambat COX-2 selektif berupa golongan coxib dapat mempengaruhi rasio prostasiklin (antitrombotik) yaitu tromboksan (prothrombotik) di dinding pembuluh darah. Coxib dapat menghambat produksi prostasiklin (antitrombotik) dan meningkatkan pembentukan

tromboksen (prothrombotik) karena tidak ada reseptor COX-2 dalam trombosit, sehingga meningkatkan agregasi trombosit dan terbentuk aterosklerosis. Namun efek dari penghambatan prostasiklin di ginjal dapat menyebabkan retensi natrium dan air, menyebabkan hipertensi. Tindakan biologis ini dapat meningkatkan risiko kejadian kardiovaskular, termasuk infark miokard dan stroke (Sooriakumaran, 2006).

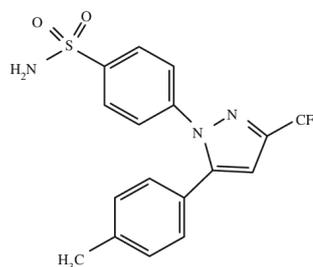
Tabel 2. 3 Klasifikasi Obat NSAID selektif

Mekanisme selektivitas obat	Obat
Inhibitor COX-2 preferential	Nimesulide, Meloxicam
Inhibitor COX-2 selektif	Celecoxib, Rofecoxib, Valdecoxib, Etoricoxib, Parecoxib, Lumiracoxib

Sumber: Sánchez-Borges *et al.*, 2010

2.5.3 Celecoxib

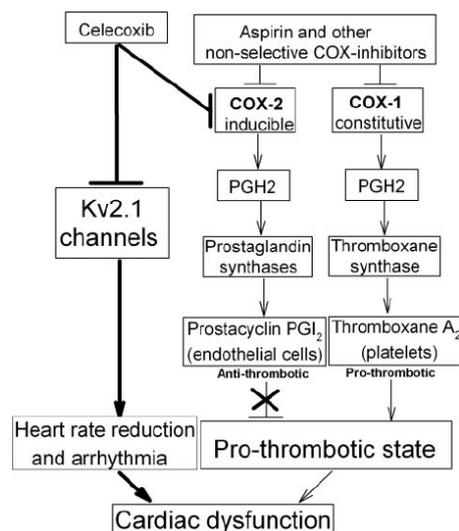
Celecoxib adalah obat NSAID selektif COX-2 dengan sifat anti-inflamasi, analgesik, dan antipiretik. Obat ini telah disetujui untuk pengobatan osteoarthritis, rheumatoid arthritis, dan nyeri akut. Celecoxib juga menjanjikan dalam pencegahan kanker, dan telah digunakan sebagai tambahan untuk operasi kolorektal adenomatous dengan sindrom kanker usus besar herediter (Gong *et al.*, 2012).



Gambar 2. 10 Bentuk struktur Celecoxib

Sumber : Omari *et al.*, 2006

Sifat anti-inflamasi dan penghilang rasa sakit dari Celecoxib dihasilkan dari penghambatan sintesis prostaglandin mediator inflamasi utama yaitu PGE2. Celecoxib juga dilaporkan menghambat PGI2 dan PGE2 dalam jalur COX-2 yang menghilangkan pengekangan fisiologis pada mediator inflamasi. Efek dari penghambatan tersebut menyebabkan trombosis, meningkatkan tekanan darah, dan meningkatkan aterosclerosis (saluran pembuluh pembentukkan aterosklerosis) yang berefek buruk pada kardiovaskular (Gong *et al.*, 2012). Celecoxib juga menghambat saluran Kv2.1 manusia yang berperan pada sel atrium dan ventrikel manusia. Faktanya kejadian disfungsi saluran drectifier K (Kv2.1 dan Kv1.5) dapat menyebabkan aritmia jantung (Frolov *et al.*, 2008)



Gambar 2. 11 Mekanisme jalur penghambatan Celecoxib

Sumber: Frolov *et al.*, 2008

Beberapa penelitian yang dipublikasikan menunjukkan adanya efek samping kardiovaskular dengan Rofecoxib, Celecoxib, agen baru Parecoxib dan Valdecoxib. Bukti yang dikutip review tersebut menunjukkan bahwa profil keamanan kardiovaskular mereka tidak sama, dan Celecoxib dilaporkan paling aman. Ini kemungkinan besar karena spesifisitasnya yang lebih rendah untuk enzim COX-2 (Sooriakumaran, 2006). Penelitian kohort retrospektif melalui 2000

pasien berusia di atas 65 tahun yang diresepkan Celecoxib, Rofecoxib, atau NSAID non-selektif untuk pengobatan gagal jantung kongestif. Menemukan bahwa risiko kematian dan gagal jantung kongestif berulang, jauh lebih tinggi pada pasien yang diresepkan Rofecoxib atau NSAID dibandingkan pada pasien yang dapat Celecoxib (Hudson *et al.*, 2005).

2.6 Tanaman Jambu Biji (*Psidium guajava* L.)

2.6.1 Taxonomi Tanaman Jambu Biji (*Psidium guajava* L.)



Gambar 2. 12 Tanaman jambu biji (*Psidium guajava* L.)

Sumber : Weli *et al.*, 2019

Nama lokal:

Tumbuhan jambu biji dikenal dengan nama daerah seperti hlima breuh (Aceh), glimeu beruh (Gayo), galiaman (Karo), masiambu (Nias), biawas, jambu biawas atau jambu biji (Melayu), jambu klutuk atau bayawas (Jawa), libu atau nyibu (Dayak) dan lain-lain (Hargono, 2003).

Klasifikasi tanaman jambu biji sebagai berikut: (ITIS, 2011)

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Viridiplantae
Infrakingdom	: Streptophyta
Superdivision	: Embryophyta
Division	: Tracheophyta
Subdivision	: Spermatophytina
Class	: Magnoliopsida
Superorder	: Rosanae
Order	: Myrtales
Family	: Myrtaceae
Genus	: <i>Psidium</i> L.
Spesies	: <i>Psidium guajava</i> L.

2.6.2 Morfologi Tanaman Jambu Biji

Psidium guajava atau jambu biji dapat juga dikenal sebagai "apel tropis" Ini berasal dari Amerika Tengah dan Selatan, Hindia Barat, Meksiko, Florida, Louisiana, Arizona dan Afrika (Toma & Luchian, 2019). Jambu biji memiliki pohon kecil setinggi 20 kaki dengan bagian atas yang lebar dan menyebar, bercabang bebas dekat dengan tanah. Batangnya pendek, dengan kulit batang bersisik, berwarna coklat kemerahan sampai coklat muda. Daunnya saling berlawanan, lonjong, panjang 3 sampai 7 inci, dengan urat menonjol di bawah (Rishika, Dev and Sharma, 2012). Bunganya berwarna putih dengan diameter sekitar 1 inci, muncul secara tunggal atau dalam kelompok kecil di axils daun yang baru tumbuh. Buah jambu biji yang memiliki aroma khas terdapat dalam berbagai bentuk mulai dari bulat, bulat telur hingga berbentuk buah pir, dengan warna kulit kuning dan daging buah warna putih, kuning, merah jambu sampai merah (Rishika, Dev and Sharma, 2012).

2.6.3 Kandungan Kimia Tanaman Jambu Biji

Konstituen kimia dalam jambu biji tersebar sangat banyak, beberapa golongan senyawa diantaranya berupa:

Tabel 2. 4 Konstituen kimia tanaman jambu biji

Bagian tanaman	Kandungan senyawa kimia
Daun	polifenol, isoflavonoid, asam galat, catekin, epikatekin, rutin, naringenin, kaempferol, steroid / terpenoid, saponin
Isi buah biji	Asam askorbat, karotenoid (<i>lycopene</i> , <i>β-carotene</i> , <i>β-cryptoxanthin</i>) glycosida; karotenoid, polifenol
Kulit buah	Polifenol
Kulit batang	Polifenol

Sumber: Barbalho *et al.*, 2012; Sudira *et al.*, 2019

Kandungan kimia pada daun jambu biji :

Minyak esensial: (Z)-hex-3-en-1-ol, α -Pinene, Benzaldehyde, Myrcene, Limonene, Eucalyptol, Ocimene, Linalool, Terpinen-4-ol, cis-p-Mentha-1(7),8-dien-2-ol, α -Terpineol, α -Cubebene, Cyclosativene, α -Copaene, Valerena-4,7(11)-diene, Caryophyllene, β -Copaene, Bergamotene, Aromadendrene, α -Cubebene, α -Humulene, Alloaromadendrene, Cadina-1,4-diene, Muurolene, Curcumene, Eugenol, γ -Amorphene, α -Selinene, α -Muurolene, Bisabolene, β -Bisabolene, γ -Cadinene, Delta-Cadinene, trans-Calamenene, Bisabolene, trans-Cadina-1,4-diene, Emetine, β -Calacorene, Caryophyllene oxide, Cevadine, (Z)-Nerolidol, Caryolan-8-ol, Caryophyllene oxide, Viridifloral, Gleenol, Muurola-4,5-diene, Naphthalene, Ledol, Humulene epoxide II, Isoeugenol, Dihydroisocaryophyllene epoxide, Caryophylladienol II, Naphthalene, α -Cadinol, α -Muurolol, Cadin-4-en-10-ol, Muurola-4,10(14)-dien-1-beta-ol, Caryophyllene oxide, -Copaen-4-alfa-ol, α -Bisabolol, epi-Cadinol, Farnesol (Jassal & Kaushal, 2019).

Triterpenoid: 2a-hydroxyoleanolic acid, 3b-O-trans-p-coumaroylmaslinicacid, asiatic acid, corosolic acid, gorenishic acid,

guajanoic acid, guavacoumaric acid, guavanoic acid, ilelatifol D, isoneriuoumaric acid, jacoumaric acid, obtusin, obtusol (3b, 27-dihydroxy-urs-12-ene), oleanolic acid, psidiumoic acid, ursolic acid, uvoal (Jiang *et al.*, 2020). ascorbic acid, citric acid, epicatechin, xanthine, protocatechuic acid, glutamic acid, asparagine, malonic acid, trans-aconitic acid, maleic acid dan cis-aconitic acid (Barbalho *et al.*, 2012). 2 α -hydroxyursolic acid, β -sitosterol-3-O- β -D-glucopyranoside, ilelatifol (Anand *et al.*, 2016).

Sesquiterpenoid: Diguajadial, Guadial A, Guadial B, Guadial C, Guajadia, Guajadial B, Guajadial C, Guajadial D, Guajadial E, Guajadial F, Guapsidial A, Guajadial, Psidial A, Psidial B, Psidial C, Psiguadial A, Psiguadial B, Psiguadial C, Psiguadial D (Jiang *et al.*, 2020)

Flavonoid: Apigenin, Avicularin, Biochanin, Daidzein, Demthoxymatteucinol, Formononetin, Genistein, Genistin, Glycitin/Daidzin, Guajaverin, Guavaric A, Hyperin, Isoquercetin(Isoquercitrin), Kaempferol, Kaempferol-3-glucoside, Leucocyanidin, Morin-3-O-a-L-lyxopyranoside, Myricetin, Ononin, Prunetin, Quercetin, Quercetin3-O-b-D-xylopyranoside, Quercitrin, Reynoutrin, Rutin, Xanthone (Jiang *et al.*, 2020). (2,6-dihydroxy-3formaldehyde-5-methyl-4-O-(6''-O-galloyl- β -D-glucopyranosyl) diphenylmethane, 2,6-dihydroxy-3,5-dimethyl-4-O-(6''-O-galloyl- β -D-glucopyranosyl)-benzophenone, Esculin, Isoquercitrin, Hyperoside (Barbalho *et al.*, 2012). Quercetin3-O- α -L-arabinofuranoside, Quercetin-3-O- β -D-arabinopyranoside, Quercetin-3-O- β -D-glucoside, dan Quercetin-3-O- β -D-galactoside, Gossypetin, Tamarixetin, Guavinoside A, Guavinoside B (Anand *et al.*, 2016). Naringenin, Morin, Catechin, Gallocatechin, Casuarini (Díaz-De-Cerio *et al.*, 2016). Formononetin, Isoformononetin, Biochanin A, Sissotrin, Glycitein, Glycitin, Phloridzin, Phloretin, Isorehmentin, Epicatechin,

Leucocyanidin, Delphinidin, Cyanidin, Epicatechin-3-gallate (Habtemariam, 2019).

2.6.4 Aktivitas Anti-Inflamasi Konstituen Daun Jambu Biji

Daun ekstrak jambu biji terbukti memiliki aktivitas anti-inflamasi saat diujikan pada tikus dalam penelitian Weni *et al.*, (2011). Kemudian, penelitian dari Choi *et al.*, (2008) menunjukkan bahwa ekstrak etanol dari hasil fermentasi daun jambu biji ditemukan terlibat dalam penghambatan *inducible Nitric Oxide Synthase* (iNOS), *cyclooxygenase - 2* (COX - 2) dan menghambat aktivasi NF - κ B yang diinduksi lipopolisakarida pada sel RAW 264,7. Peneliti berasumsi bahwa daun jambu biji banyak mengandung flavonoid yang memungkinkan munculnya efek anti-inflamasi tersebut. Penelitian terbaru saat ini, yang dilakukan oleh Sen *et al.*, (2015) menunjukkan bahwa fraksi flavonoid yang berasal dari daun jambu biji efektif menghambat produksi *nitric oxide* (NO) dan prostaglandin E2 (PGE2) yang diinduksi LPS, dan hasil uji lain menggunakan RT-PCR serta *western blot* juga menunjukkan ada aktivitas penghambat *nitric oxide synthase* (iNOS) dan siklooksigenase-2 (COX-2). Namun kekurangan dari peneliti Sen *et al.*, (2015) ini yaitu tidak dilakukannya skrining terhadap kandungan fraksi flavonoid dari daun jambu biji tersebut, sehingga perlu penelitian lebih lanjut.

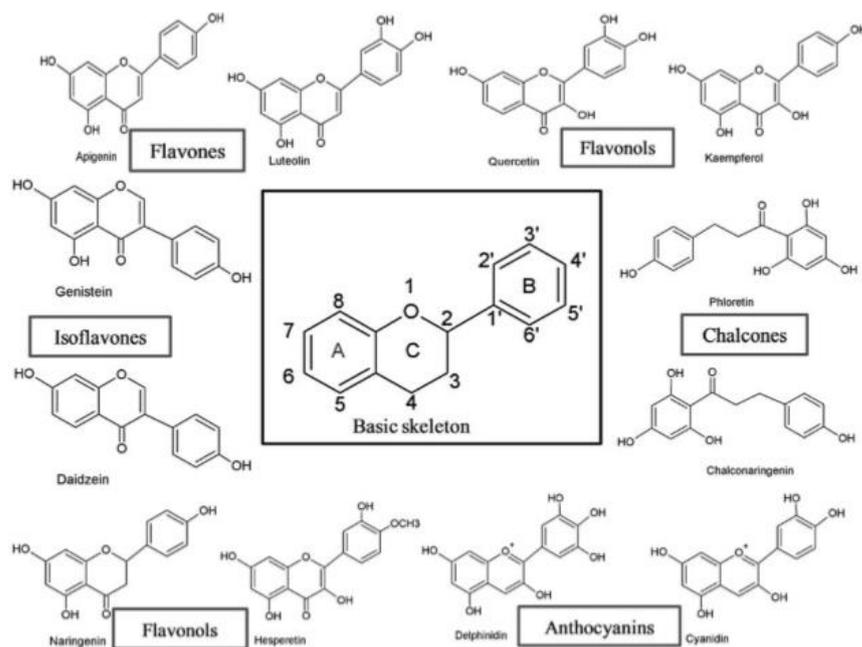
2.7 Mekanisme Anti-Inflamasi Tanaman

Berbagai macam fitokonstituen bertanggung jawab untuk aktivitas anti-inflamasi termasuk asam fenolik, alkaloid, dan terpenoid. Secara umum beberapa fitokonstituen tanaman memiliki mekanisme anti-inflamasi seperti: (1) Aktivitas pembersihan radikal dan antioksidan; (2) Modulasi aktivitas seluler sel yang berhubungan dengan peradangan (sel mast, makrofag, limfosit, dan neutrofil); (3) Modulasi penghambatan aktivitas enzim proinflamasi seperti enzim PLA2, COX, dan LOX, serta enzim penghasil NO yaitu nitrit oksida

sintase (NOS); (4) Modulasi penghambatan produksi molekul proinflamasi lainnya; (5) Modulasi penghambatan ekspresi gen proinflamasi seperti AP-1, NF- κ B, dan *proto-oncogenes* (*c-jun*, *c-fos*, dan *c-myc*) (Bellik *et al.*, 2013)

2.8 Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang banyak terdapat di kerajaan tumbuhan. Struktur flavonoid tersusun atas dua cincin benzen (A dan B) dan dihubungkan oleh cincin heterosiklik (C) yang mengandung oksigen. Flavonoid dapat dibagi menjadi subkelas yang berbeda tergantung pada hubungan antara cincin B dan C, struktur cincin B, pola hidroksilasi dan glikosilasi dari tiga cincin. Subkelas tersebut meliputi: *flavanols*, *flavones*, *isoflavones*, *flavonols*, *chalcones* dan *anthocyanidin* (Maleki *et al.*, 2019).



Gambar 2. 13 Senyawa turunan flavonoid

Sumber: Panche *et al.*, 2016

Tabel 2. 5 Mekanisme sifat anti-inflamasi flavonoid

Sifat flavonoid	Mekanisme	efek
Menghambat regulasi enzim	Menghambat protein kinase, posfodiesterase	Mengurangi transduksi sinyal, menurunkan aktivasi sel.
Sifat antioksidan	Aktivitas peredaman, menghambat produksi radikal bebas	Mengurangi oksidatif stress
Efek pada metabolisme asam arakidonat	Menghambat PLA2, COX, LOX	Mengurangi pelepasan mediator proinflamasi seperti prostaglandin, tromboxan, leukotrin dll.
Modulasi ekspresi gen	Menghambat modulasi faktor transkripsi NF- κ B, GATA-3, STAT-6	Mengurangi transkripsi/ perbanyak gen proinflamasi
Modulasi sel imun	Menghambat aktivasi sel, maturase, transduksi sinyal, dan proses sekresi	Menurunkan proliferasi sel, mengurangi pelepasan sitokin proinflamasi

Sumber: Maleki *et al.*, 2019

Salah satu mekanisme anti-inflamasi flavonoid yaitu menghambat enzim yang terlibat dalam metabolisme asam arakidonat yang mengurangi pelepasan mediator pro-inflamasi. Flavonoid juga dapat menghambat biosintesis prostaglandin, tromboksan, leukotrien dengan menghambat enzim PLA2, COX atau LOX (Maleki *et al.*, 2019). Penelitian yang dilakukan dengan menggunakan metode *in silico* pada mode pengikatan flavonoid dengan COX-2 mengeksplorasi bahwa beberapa flavonol dan flavon yang mengandung 2,3-ikatan rangkap dapat bertindak sebagai penghambat preferensial COX-2 (D'mello *et al.*, 2011).

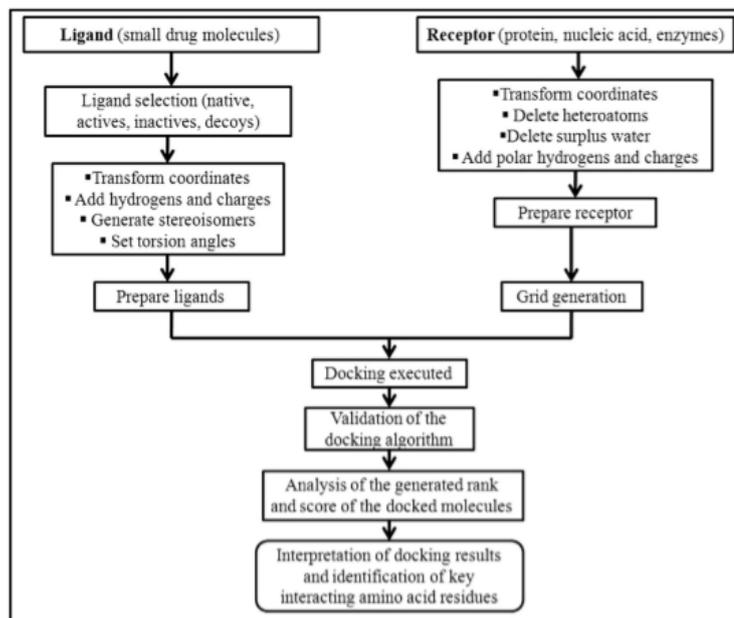
2.9 Molekular Docking

Perkembangan program pemodelan molekul dan aplikasinya dalam penelitian farmasi dikenal dengan *Computer-Assisted drug Design* (CADD) atau desain obat dengan bantuan komputer. CADD memberikan informasi tentang optimalisasi senyawa, meningkatkan bioafinitas, serta dapat mengatur sifat farmakokinetik seperti Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Ekskresi (ADME). Desain ini dapat merancang senyawa baru yang mengandung satu kelompok

fungsional dalam senyawa kimia atau menggabungkan fragmen yang berbeda (B. Chen *et al.*, 2005)

Dua metode dalam penggunaan komputer CADD sebagai alat bantu penemuan obat, adalah *Ligand-Based Drug Design* (LBDD) yaitu rancangan obat berdasarkan ligan yang sudah diketahui, dan *Structure-Based Drug Design* (SBDD) merupakan metode untuk desain obat berbasis struktur. SBDD memanfaatkan informasi dari struktur protein target untuk mencari sisi aktif protein yang berikatan dengan senyawa obat. Berdasarkan prediksi sisi aktif tersebut dapat dirancang senyawa yang diharapkan berikatan dengan protein target tersebut dan memiliki aktivitas biologis (Pranowo, 2009).

Penambatan molekuler atau *molecular docking* adalah salah satu metode yang paling sering digunakan di SBDD karena kemampuannya memprediksi dengan tingkat keakuratan tinggi. Metodologi komputasi *molecular docking* dapat mempersingkat proses penemuan obat dengan mengurangi biaya dan sumber daya yang diperlukan melalui identifikasi *in silico* dari calon obat yang potensial (Cuzzolin *et al.*, 2015). *Molecular docking* lebih fokus mempelajari tentang bagaimana dua atau lebih struktur molekul (misalnya obat dan enzim atau protein) cocok bersama. Dalam definisi sederhana, *docking* adalah teknik pemodelan molekul yang digunakan untuk memprediksi bagaimana protein (enzim) berinteraksi dengan molekul kecil (ligan). Kemampuan protein (enzim) dan asam nukleat untuk berinteraksi dengan molekul kecil membentuk kompleks supramolekul memainkan peran utama dalam dinamika protein, yang dapat meningkatkan atau menghambat fungsi biologisnya. Metode ini bertujuan untuk mengidentifikasi posisi ligan yang benar dalam kantong pengikat protein juga bisa memprediksi afinitas antara ligan dan protein (Roy *et al.*, 2015).



Gambar 2. 14 Mekanisme *molecular docking*

Sumber: Roy *et al.*, 2015

Proses *docking* terdiri atas beberapa tahap yang kompleks. Proses ini diawali dengan penerapan *docking* algoritma. Dalam *molecular docking*, konformasi ligan harus berada dalam situs pengikatan target yang sesuai, maka algoritma akan memposisikan ligan pada sisi aktif dengan konformasi dan urutan pencarian tertentu. Algoritma tertentu dapat digunakan untuk mengidentifikasi situs aktif protein, memprediksi kemungkinan pengikatan ligan dari berbagai bagian protein dan mengeksplorasi posisi terbaik pengikatan protein-ligan. Algoritma *docking* juga akan memprediksi kuantitatif energi kinetika pengikatan, sehingga memberikan peringkat senyawa berdasarkan afinitas pengikatan kompleks ligan-reseptor. (Ferreira *et al.*, 2015).

Tahap berikutnya dilakukan *scoring function* untuk melengkapi algoritma *docking*. *Scoring function* akan mengevaluasi konformasi dengan melakukan perhitungan berdasarkan sifat fisikokimia untuk memperoleh struktur molekul yang optimal. Dari proses ini akan diperoleh energi ikatan bebas (ΔG) yang merupakan parameter kestabilan konformasi antara ligan dengan reseptor. Ligan-reseptor yang saling berinteraksi akan cenderung berada pada kondisi energi yang paling rendah, kondisi tersebut menyebabkan molekul akan berada

pada keadaan yang stabil, sehingga semakin kecil harga ΔG maka interaksi ligan dengan reseptor akan semakin stabil. Interaksi molekul pada ligan-reseptor mencakup interaksi elektrostatis, interaksi hidrofobik (terutama interaksi Van der Waals), dan ikatan hidrogen yang berkontribusi pada harga energi ikatan bebas (ΔG) dari ligan-reseptor (Kumar & Kumar, 2019)

2.10 Ligand

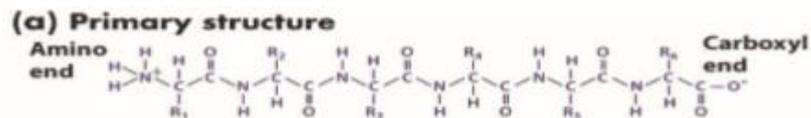
Ligand adalah molekul atau senyawa yang mengikat reseptor untuk menghasilkan respon bimolekuler atau protein yang sesuai. Ligand paling sering adalah molekul obat kecil, neurotransmitter, hormon, limfokin, lektin, dan antigen, tetapi mereka juga bisa menjadi biopolimer atau makromolekul lain (dalam kasus penempelan protein-protein) (Roy *et al.*, 2015). Ligand yang berupa molekul atau ion, biasanya akan terikat langsung pada atom pusat dan bertindak sebagai donor elektron atau basa lewis yaitu atom atau molekulnya memiliki pasangan elektron bebas non ikatan tetapi tidak terdapat orbital yang kosong. Jenis ikatan pada atom pusat biasanya terbentuk atas ikatan kovalen koordinat (Roy *et al.*, 2015).

2.11 Protein

Reseptor adalah molekul protein atau struktur polimer didalam maupun pada sel yang secara khusus mengenali dan mengikat molekul ligan atau senyawa yang bertindak sebagai pembawa pesan molekuler (Roy *et al.*, 2015). Protein pada dasarnya adalah urutan asam amino yang saling terikat menjadi rantai linier yang membentuk struktur tiga dimensi (3D) dengan lipatan khusus, sehingga memungkinkan protein untuk melakukan tugas-tugas tertentu. Tugas tersebut termasuk mengangkut molekul kecil (misalnya, hemoglobin mengangkut oksigen dalam aliran darah), mengkatalisasi fungsi biologis, menyediakan struktur untuk kolagen dan kulit, mengendalikan rasa, mengatur hormon, dan memproses emosi (Rashid *et al.*, 2015). Terdapat empat struktur protein yaitu struktur primer, struktur sekunder, struktur tersier dan struktur quartener:

2.11.1 Struktur Protein Primer

Struktur primer seperti yang ditunjukkan pada gambar, mengacu pada urutan asam amino dari rantai polipeptida. Terdapat 20 asam amino standar dari rantai samping yang berpengaruh pada sifatnya hidrofobik atau hidrofilik. Hidrofobisitas asam amino tersebut berpengaruh besar terhadap pelipatan protein yang akan mempengaruhi aktivitas protein. Kedua asam amino yang berikatan satu sama lain akan membentuk ikatan peptida yang akhirnya membentuk rantai primer. Oleh sebab itu pada struktur primer biasanya disatukan oleh ikatan kovalen atau peptida yang terbentuk selama proses sintesis atau translasi protein (Rashid *et al.*, 2015).



Gambar 2. 15 Bentuk protein primer

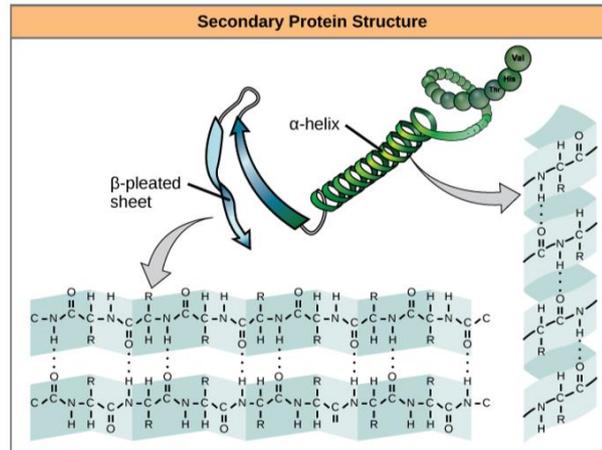
Sumber: Gupta *et al.*, 2017

2.11.2 Struktur Protein Sekunder

Pada struktur sekunder ini telah membentuk dua struktur yaitu *alfa helix* dan *beta sheet*. Saat rantai peptida terbentuk, asam amino satu dengan yang lain saling berdekatan, ikatan antar asam amino dimediasi oleh ikatan hidrogen berupa ikatan hidrogen donor (NH) dan ikatan hidrogen akseptor (C=O). Sehingga terbentuklah pelipatan rantai *alfa helix* atau *beta-sheet*. Itulah sebabnya struktur sekunder ini lebih ditentukan oleh pola ikatan hidrogen antara gugus peptida rantai utama (Crommelin *et al.*, 2019).

Ikatan hidrogen adalah interaksi antara atom hidrogen dengan atom elektronegatif seperti nitrogen, oksigen, atau fluor yang berasal dari molekul atau gugus kimia lain. Ikatan ini dapat terjadi antara molekul (antarmolekul), atau dalam bagian yang berbeda dari satu molekul (intra-molekul). Ikatan hidrogen lebih kuat daripada interaksi van der

Waals, tetapi lebih lemah dari ikatan kovalen atau ionik. Jenis ikatan ini terjadi pada molekul anorganik seperti air dan molekul organik seperti DNA maupun protein. Ikatan hidrogen intramolekul sebagian bertanggung jawab atas struktur protein dan asam nukleat sekunder, tersier, dan kuartener (Crommelin *et al.*, 2019; Rashid *et al.*, 2015)



Gambar 2. 16 Bentuk struktur protein sekunder

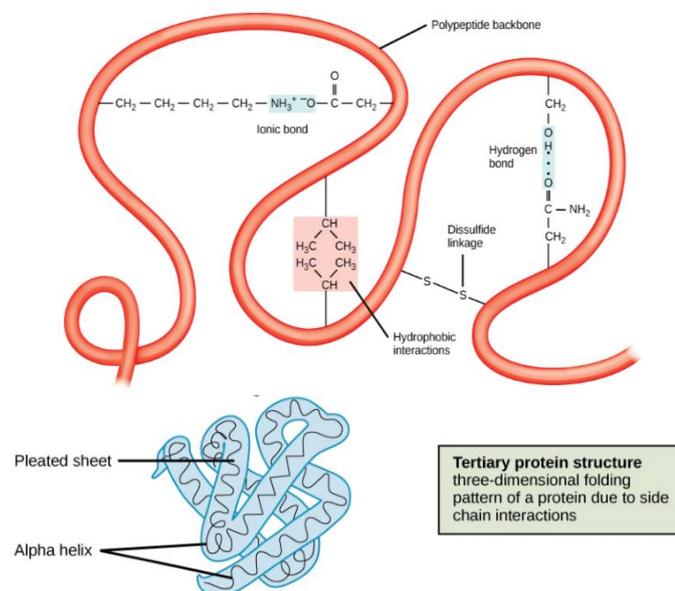
Sumber: Clark *et al.*, 2018

2.11.3 Struktur Protein Tersier

Pada struktur tersier terjadi penata ulangan terhadap rantai *alfa helix* dan *beta-sheet*, yang nantinya akan membentuk struktur baru yaitu struktur tiga dimensi yang lebih padat dan kompleks. Struktur tiga dimensi sangatlah berperan dalam aktivitas enzimatik protein, pengikatan antibodi-antigen dan pengikatan faktor pertumbuhan dengan reseptor sitokin. Jika terjadi perubahan struktur asam amino yang berpengaruh pada bentuk protein, maka dapat terbentuk aktivitas protein yang tidak normal dan stabilitasnya buruk. Ikatan hidrogen, ikatan hidrofobik, ikatan ionik dan ikatan disulfida juga berperan penting dalam pembentukan struktur protein tersier (Crommelin *et al.*, 2019)

Jembatan disulfida atau ikatan disulfida adalah ikatan kovalen lain yang memainkan peran penting dalam struktur protein. Jembatan ini

disebabkan ketika dua asam amino dengan gugus sulfhidril ($-SH$) mendekat selama proses pelipatan protein (Rashid *et al.*, 2015). Ikatan ionik seperti jembatan garam, terjadi ketika asam amino bermuatan positif dan negatif muncul bersebelahan dalam inti hidrofobik protein. Ikatan ini kuat tapi jarang karena sebagian besar asam amino bermuatan bersifat hidrofilik dan berada di permukaan protein. Ikatan ini berdampak besar pada struktur tiga dimensi protein karena kekuatan ikatan ionik bisa sama dengan kekuatan ikatan kovalen (Rashid *et al.*, 2015).

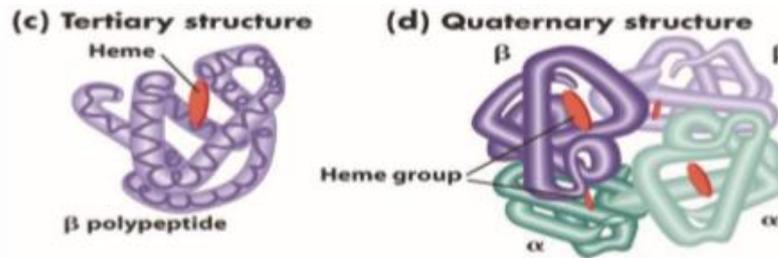


Gambar 2. 17 Bentuk struktur protein tersier

Sumber: Clark *et al.*, 2018

2.11.4 Struktur Protein Kuartar

Struktur kuartar adalah gabungan dari beberapa molekul protein atau rantai polipeptida struktur tersier. Struktur kuartar distabilkan oleh interaksi non-kovalen dan ikatan disulfida yang sama seperti struktur tersier. Pada struktur ini, aktivitas biologis juga telah nampak. (Rashid *et al.*, 2015).



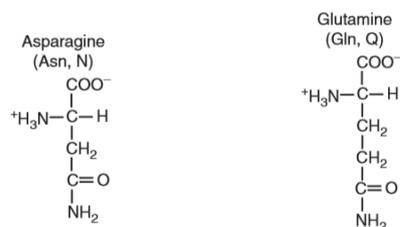
Gambar 2. 18 Bentuk struktur protein kuarter

Sumber: Gupta *et al.*, 2017

2.12 Asam Amino

Asam amino adalah kelas biomolekul penting yang mengandung gugus amino ($-\text{NH}_3^+$), gugus karboksilat ($-\text{COO}^-$), dan rantai samping ($-\text{R}$). Meskipun ratusan rantai samping asam amino telah diidentifikasi atau disintesis, hanya 20 asam amino yang merupakan bahan penyusun umum protein (Maloy, 2013). Mikroorganisme dan tumbuhan mampu mensintesis 20 asam amino umum dari molekul yang lebih sederhana. Manusia hanya dapat mensintesis 12 asam amino: alanin, arginin, asparagin, aspartat, sistein, glutamat, glutamin, glisin, histidin, prolin, serin, dan tirosin. Sedangkan 8 asam amino lainnya harus diperoleh dari makanan, karena itu disebut asam amino esensial (G.Neilana & E.Shih, 2003)

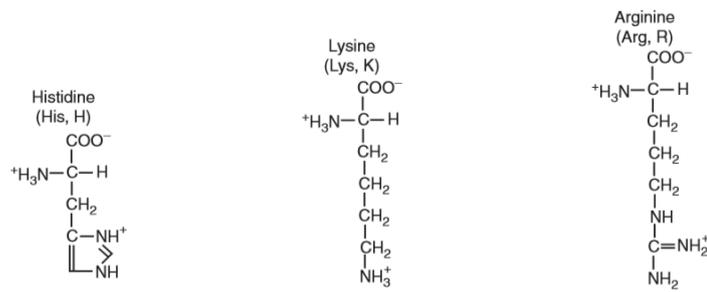
Bentuk dan sifat asam amino: (G.Neilana & E.Shih, 2003)



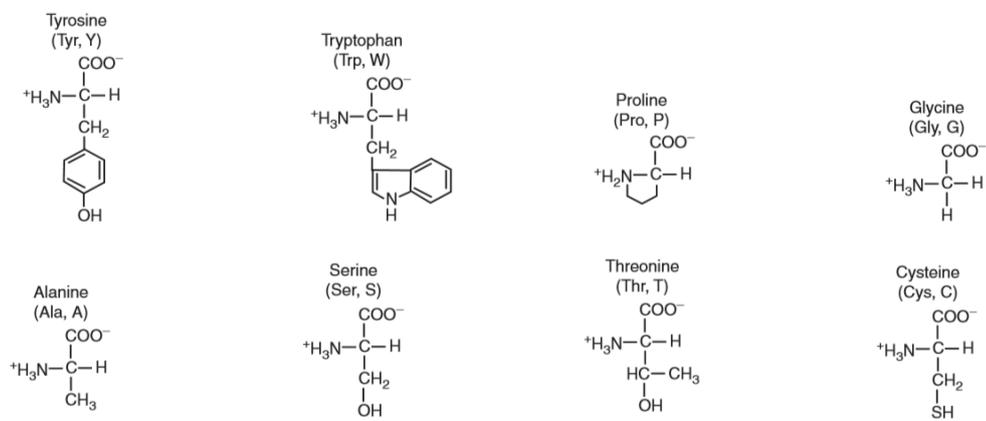
Gambar 2. 19 Asam amino bersifat hidrofilik



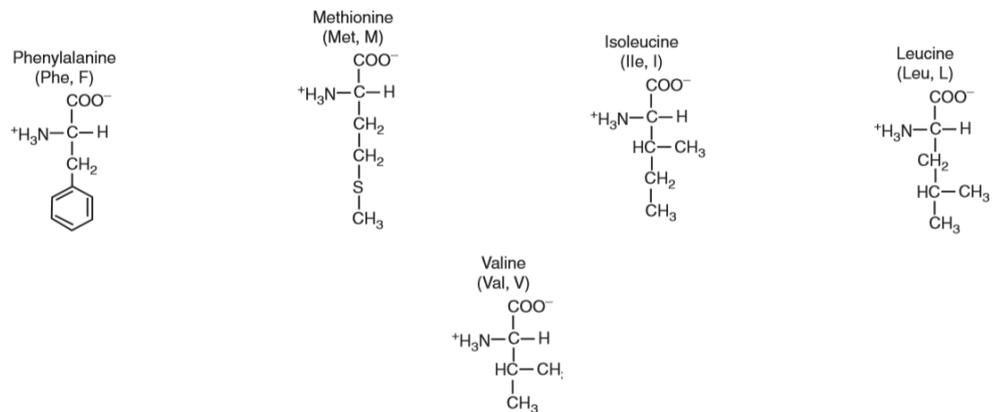
Gambar 2. 20 Asam amino bersifat asam



Gambar 2. 21 Asam amino bersifat basa



Gambar 2. 22 Asam amino bersifat intermediate



Gambar 2. 23 Asam amino bersifat hidrofobik

2.13 Interaksi Protein Ligan

2.13.1 Interaksi Hidrofobik

Interaksi hidrofobik merupakan interaksi yang paling banyak terjadi dalam interaksi protein-ligan. Interaksi antara ligan dan rantai samping hidrofobik protein berkontribusi secara signifikan terhadap peningkatan energi bebas. Residu hidrofobik saling menolak air dan gugus kutub lainnya sehingga menghasilkan tarikan dari gugus ligan non-polar. Selain itu, cincin polar dan aromatik dari triptofan, fenilalanin, dan tirosin berpartisipasi dalam interaksi dengan gugus aromatik dari ligan. Banyak penelitian telah menunjukkan bahwa interaksi hidrofobik yang diukur dengan jumlah permukaan hidrofobik pada pengikatan ligan, adalah parameter struktural yang paling berkorelasi dengan energi bebas pengikatan (Bronowska, 2012; Ferreira De Freitas & Schapira, 2017).

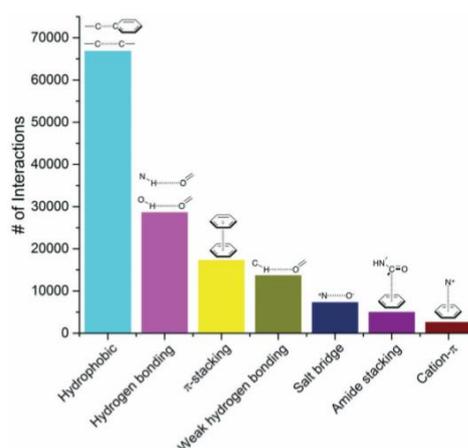


Fig. 1 Frequency distribution of the most common non-covalent interactions observed in protein-ligands extracted from the PDB.

Gambar 2. 24 Jenis ikatan dalam interaksi protein-ligan

Sumber: Ferreira De Freitas & Schapira, 2017

2.13.2 Interaksi Ikatan Hidrogen

Ikatan hidrogen terbentuk ketika atom hidrogen berikatan dengan atom O, N, dan F. Interaksi non-kovalen, seperti ikatan heteroatom-hidrogen $X\cdots H\cdots Y$ ($X = O$ atau N ; $Y = O, N$, atau halogen) dan interaksi π / π memainkan peran penting dalam pembentukan kompleks protein-ligan. Interaksi tersebut terwujud antara protein dan ligan dalam banyak

kompleks protein yang terdaftar di Protein Data Bank (PDB). Oleh karena itu, interaksi ini harus selalu dipertimbangkan saat merancang ligan untuk protein target (Itoh *et al.*, 2019). Kekuatan ikatan hidrogen bergantung pada elektronegatifitas atom, contoh klasifikasikan ikatan hidrogen sebagai sangat kuat (misalnya, $[F \dots H \dots F]^-$), kuat (misalnya, $O-H \dots O=C$), atau lemah (misalnya, $C-H \dots O$), semua sifat tersebut bergantung pada energi ikatan (J.M.MacLeod & F.Rosei, 2011).

Tabel 2. 6 Sifat ikatan hidrogen

Sifat	Sangat kuat	Kuat	Lemah
Energi ikat (Kj/mol)	63-167	17-63	<17
Contoh	$[F \dots H \dots F]^-$ $[N \dots H \dots N]^+$ $P-OH \dots O=P$	$O-H \dots O=C$ $N-H \dots O=C$ $O-H \dots O-H$	$C-H \dots O$ $N-H \dots F-C$ $O-H \dots \pi$
Panjang ikatan X-H(A°)	$H-A \approx X-H$	$H \dots A > X-H$	$H \dots A \gg X-H$
Panjang dari	0,05-0,2	0,01-0,05	≤0,01
X...A range (A°)	2,2-2,5	2,5-3,2	3,0-4,0
H...A range (A°)	1,2-1,5	1,5-2,2	2,0-3,0
ikatan pendek dari	100%	Hampir 100%	30-80%
X-H...A ikatan sudut range (A°)	175-180	130-180	90-180
Pada suhu ruang	>25	7-25	<7
Efek pada kristal	Kuat	Tersendiri	Bervariasi
Kegunaan pada kristal 3D	Tidak diketahui	Berguna	Sebahagian berguna
kovalen	Jelas dan pasti	Lemah	Samar
elektrostatik	Signifikan	Dominan	Moderat

Sumber: J.M.MacLeod & F.Rosei, 2011

Ikatan hidrogen terbentuk di mana-mana dan memainkan peran penting dalam pelipatan protein, interaksi protein-ligan, dan katalisis. Dalam sistem biologis, proses persaingan ikatan hidrogen selalu ada dengan air, karena air mengganggu proses biologis reversibel dan penurunan entalpi-entropi terjadi selama pembentukan ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen umumnya dianggap sebagai fasilitator pada protein-ligan. Namun donor atau akseptor ikatan hidrogen dalam membangun interaksi protein-ligan yang lebih kuat, sering kali tidak menghasilkan keuntungan yang bagus dalam afinitas pengikatan. Ikatan hidrogen juga dilaporkan meningkatkan afinitas pengikatan ligan dengan

memindahkan molekul air yang terikat protein ke dalam pelarut (D. Chen *et al.*, 2016).

Pasangan dari ikatan hidrogen pada ligan kuat dan protein lemah dapat menurunkan afinitas pengikatan protein-ligan, bahkan ketika ikatan hidrogen secara signifikan lebih kuat daripada air. Ikatan hidrogen dari pasangan ligan-protein yang sama-sama kuat dapat meningkatkan afinitas pengikatan ligan beberapa ratus kali lipat atau lebih. Ikatan hidrogen dapat dibuat dan dapat dengan mudah meningkatkan kemampuan dari ikatan hidrogen atom ligan tanpa meningkatkan lipofilitas ligan. Jadi, prinsip perancangan ikatan hidrogen mungkin efektif dalam membuat ligan dengan afinitas pengikatan tinggi, selektif dan sifat ADMET (absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan toksisitas) yang maksimal sehingga dapat mengurangi biaya rancangan obat (D. Chen *et al.*, 2016).

2.13.3 Interaksi Ikatan Van der Waals.

Gaya Van der Waals atau interaksi Van der Waals adalah jumlah gaya tarik atau tolak antar molekul atau antara bagian molekul yang sama. Ikatan ini mencakup: (i) gaya antara dipol permanen dan dipol yang diinduksi sesuai (gaya Debye) dan (ii) gaya antara dua dipol yang diinduksi secara instan (gaya dispersi London) (Rashid *et al.*, 2015). Interaksi ini biasanya terjadi antara senyawa penuntun dengan reseptor maupun antara senyawa target dengan reseptor. Ikatan ini terbentuk saat dua atom saling mendekat dan membentuk gaya tarik tidak spesifik juga lemah, seperti interaksi antara atom atau molekul yang tidak bermuatan dan letaknya berdekatan.

Interaksi Van der Waals umumnya terjadi antara cincin benzena atau dengan reseptor rantai hidrokarbon dengan reseptor (La Kilo *et al.*, 2019). Interaksi Van der Waals sangat lemah (0,1- 4 kJ / mol) bila dibandingkan dengan ikatan kovalen atau interaksi elektrostatis.

Namun, kebanyakan interaksi yang terjadi pada peristiwa pengenalan molekuler ini memberikan kontribusi yang signifikan terhadap total energi bebas (Bronowska, 2012).

2.14 Sumber Informasi Basis Data

2.14.1 PubChem

PubChem dikelola oleh *National Institute of Health* (NIH) Amerika Serikat dibawah *National Library of Medicine* dengan website resminya yaitu <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. 10 juta lebih struktur tersedia dalam pubchem yang dikelompokkan berdasarkan tingkat: kesamaan hubungan ikatan, adanya tautomer; keasamaan steokimia; kesamaan isotop. PubChem *compound* juga memiliki *database* terkait karakteristik kimia seperti jumlah pusat kiral, jumlah donor/aseptor hidrogen, rumus kimia, berat molekul dan koefisien partisi oktanol air (XlogP). Data PubChem berguna untuk target molekuler pada pengembangan obat berupa target protein untuk molekul kecil karena dapat memprediksi inhibitor enzim, interaksi protein-protein dan inhibisi pertumbuhan sel tumor. Informasi BioAssay yang disediakan oleh PubChem akan membantu dalam mempelajari mekanisme interaksi protein-ligan dan identifikasi protein target molekul baru. (Yanuar, 2012).

2.14.2 Basis Data Protein (*Protein Data Bank*)

Protein Data Bank (PDB; <https://www.rcsb.org/>) adalah kumpulan arsip tunggal mengenai data struktural makromolekul biologi seluruh dunia. Struktur protein yang didapat dari data eksperimen berasal dari metode kristalografi sinar-X, Spektroskopi *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR) atau mikroskopik elektron. Data tersebut diolah menggunakan program komputer untuk membuat model molekul mirip dengan eksperimen yang dikelola oleh wwPDB (*Worldwide Protein Data Bank*) yaitu *Research Collaboratory for Stuctural*

Biology Protein Data Bank (RSCB PDB). RSCB merupakan pintu informasi untuk mempelajari struktural molekuler biologi serta hubungan dengan sekuen, fungsi dan penyakit. Penyimpanan pada PDB berguna dalam proses *molecular docking* dimana protein spesifik dipersiapkan terlebih dahulu (protein homolog) (Yanuar, 2012).

2.15 Perangkat Lunak

2.15.1 Discovery Studio Visualizer

Discovery Studio adalah perangkat lunak berguna dalam desain molekuler biologis, *software* ini memungkinkan ilmuwan penemuan untuk menangkap, mengelola, menganalisis, dan menggunakan data dan informasi biologis-kimiawi dalam sistem yang terintegrasi. Platform perangkat lunak pemodelan, simulasi, dan informatika ini menggabungkan pemodelan dan visualisasi untuk menganalisis juga memprediksi sifat dan perilaku sistem kimia-biologi (Accelrys, 2007).

Discovery Studio mempermudah pemeriksaan molekul besar dan kecil, bahkan pemisahan antara makromolekul protein dengan residu, molekul air dan ligan alami. Software ini dapat mengconvert beberapa jenis *file* ke *file* pdb. Visualisasi hasil *molecular docking* menggunakan Discovery Studio Visualizer dapat memperlihatkan interaksi antara ligan dengan reseptor (Dwitiyanti *et al.*, 2019; Narko *et al.*, 2017)

2.15.2 Open Babel

Open Babel merupakan *software* yang berguna untuk mengubah suatu format ke format lainnya yang akan digunakan dalam *molecular modelling*, kimia informatik dan bioinformatic. 110 format *file* dapat

diubah menggunakan *software* ini. Open Babel dapat diunduh dan digunakan secara gratis dari <https://openbabel.org> (Yanuar, 2012).

2.15.3 Marvin sketch

Analisis pengamatan obat dilakukan dengan mempertimbangkan aturan 5 *Lipinski's Rule* dengan memanfaatkan *software* Marvin Sketch. Preparasi pH, menggambar senyawa bahkan memvisualisasi bentuk tiga dimensi dapat ditentukan dengan *software* Marvin Sketch (Ruswanto *et al.*, 2018).

2.15.4 SCFBio (*Supercomputing Facility for Bioinformatics & Computation Biology*).

SCFBio (*Supercomputing Facility for Bioinformatics & Computation Biology*) merupakan *website* yang menyediakan akses gratis alat bioinformatika dan biologi komputasi secara gratis dalam menentukan struktur tiga dimensi target protein, menciptakan molekul obat dengan afinitas serta sensitifitas yang tinggi terhadap target protein/DNA dengan toksisitas paling rendah. SCFBio menggunakan metode ilmiah dengan algoritma yang sangat efisien, mampu menggabungkan prinsip-prinsip kimia dan biologi dengan teknologi informasi untuk analisis genom, prediksi protein struktur dan desain molekul obat pada protein target. Pada *website* ini <http://www.scfbio-iitd.res.in/> terdapat beberapa layanan yang membantu dalam pengerjaan komputasi, salah satunya yaitu terdapat *screening Lipinski rules of five* (Jayaram, 2004).

2.15.5 *Lipinski Rule*

Bioavailabilitas obat oral yang tinggi seringkali menjadi pertimbangan penting untuk pengembangan molekul bioaktif sebagai agen terapeutik. Sehingga tujuan penting dari penelitian obat adalah untuk mendapatkan sifat molekuler yang layak agar dapat memfasilitasi desain kandidat obat baru (Veber *et al.*, 2002). Lipinski (1997) mengembangkan *Five*

Lipinski Rule (Ro5), sebuah parameter gabungan yang mampu mengidentifikasi kandidat obat potensial yang sering menimbulkan masalah pada proses absorpsi dan permeabilitas obat (B. Fernandes *et al.*, 2016). Menurut aturan, ketersediaan hayati atau bioavailabilitas oral yang buruk, lebih mungkin terjadi ketika: (Pollastri, 2010)

- a. Berat molekul lebih dari 500 Dalton.
- b. Log P yang dihitung ($C \log P$ - logaritma yang dihitung dari koefisien partisi antara noktanol dan air) $C \log P > 5$
- c. Ada lebih dari 5 donor ikatan hidrogen (jumlah O-H dan N-H)
- d. Ada lebih dari 10 akseptor ikatan hidrogen (jumlah N dan O)

Berat Molekul (BM) merupakan parameter penting, karena penyerapan atau absorpsi obat akan berkurang dan penetrasinya ke sawar darah otak lebih rendah bila terjadi peningkatan berat molekul (B. Fernandes *et al.*, 2016). Berat molekul dibawah 500, terutama dibawah 400 menunjukkan jumlah ikatan yang dapat diputar dan fleksibilitas molekulnya yang berkurang sehingga ketersediaan oral mencapai tingkat yang tinggi. Untuk senyawa dengan berat molekul yang lebih tinggi, proses pengikatan target dapat menjadi rumit dan seringkali memakan waktu, baik dalam desain molekuler maupun dalam sintesis kimia (Veber *et al.*, 2002). Selain itu, berat molekul yang lebih dari 500 Da membuat obat tidak dapat berdifusi menembus membrane sel (La Kilo *et al.*, 2019).

Log P atau logaritma koefisien partisi (P) adalah perbandingan konsentrasi suatu senyawa dalam campuran n-oktanol dan air yang dapat mengukur seberapa hidrofilik atau hidrofobik suatu zat kimia terkait bioavailabilitas suatu obat (B. Fernandes *et al.*, 2016). Sebelum obat diserap, obat perlu larut dalam cairan gastrointestinal dan menembus membran lipid bilayer sel usus, pemanfaatan Log P dapat memberikan perkiraan tentang penyerapan obat dalam usus. Log P juga menentukan distribusi obat didalam tubuh, seberapa

mudah obat dapat mencapai target yang diinginkan, dan berapa lama obat dapat berada di dalam tubuh. Lipofilisitas yang dinilai dengan log P, merupakan penentu utama pengangkutan obat melintasi *blood barrier brain*, dimana semakin tinggi log P maka lipofilisitasnya semakin besar (Odi *et al.*, 2020). Nilai Log P yang lebih besar dari 5 membuat senyawa obat cenderung memiliki efek toksisitas yang tinggi karena tidak dapat melewati lipid bilayer dan tertahan lebih lama didalamnya, disisi lain terjadi pendistribusian obat yang jauh lebih luas di dalam tubuh yang mengakibatkan kekuatan ikatan terhadap enzim target menjadi berkurang (La Kilo *et al.*, 2019).

Akseptor ikatan hidrogen adalah atom pada obat yang dapat menerima interaksi dengan air melalui ikatan hidrogen. Terlalu sedikit ikatan hidrogen dalam banyak kasus bukanlah hal yang baik dan terlalu banyak ikatan hidrogen juga bukanlah hal yang bagus. Lebih dari sekitar sepuluh ikatan hidrogen dalam obat tidak baik karena obat akan kesulitan masuk melalui dinding usus ke dalam darah. Obat yang diberikan melalui mulut (obat yang aktif secara oral) harus dikeluarkan dari dalam saluran usus melalui dinding usus untuk mencapai aliran darah (Christopher Andrew Lipinski, 2002). Jumlah donor dan akseptor ikatan hidrogen mendeskripsikan semakin tinggi kapasitas ikatan hidrogen, maka semakin tinggi energi yang dibutuhkan agar proses absorpsi dapat terjadi (La Kilo *et al.*, 2019).

Polar Surface Area (PSA) atau PSA topografi adalah jumlah permukaan molekul dari atom polar (oksigen, nitrogen, dan atom hidrogen yang terikat). PSA adalah parameter yang terbukti berkorelasi dengan transpor pasif molekul melalui membran seperti absorpsi usus dan penetrasi darah-otak. Oleh sebab itu digunakan untuk optimalisasi kemampuan obat untuk menembus sel. Molekul dengan $PSA > 140 \text{ \AA}$ memiliki permeabilitas yang buruk melalui

membran sel. Sedangkan molekul dengan PSA $<90 \text{ \AA}^2$ cenderung menembus *blood barrier brain* (Odi *et al.*, 2020).

2.15.6 AutoDock4 dan AutoGrid4

Autodock merupakan sebuah *software* yang mampu memprediksi interaksi molekul kecil, misalnya substrat atau obat terikat pada suatu reseptor yang telah diketahui struktur tiga dimensinya. *Software* ini dapat bekerja dengan cepat dan memiliki kualitas yang tinggi terhadap prediksi konformasi ligan, autodock juga dapat melakukan *blind docking* yakni proses penambatan yang lokasi penambatannya tidak diketahui. Autodock juga dilengkapi dengan AutoDock Tool (ADT) yang berfungsi sebagai tampilan grafis yang membantu menganalisis ligan dan proses *docking*. Autodock tersedia melalui *GNU General Public License* dan dapat diunduh melalui situs <http://autodock.scripps.edu/downloads>. Autodock terdiri atas dua program utama, yaitu program pelaksanaan penambatan dari suatu ligan ke tempat pengikatnya yaitu protein target dalam batasan ruang yang telah ditetapkan menggunakan Autodock Tools (Yanuar, 2012). Autodock Tool dapat digunakan untuk membantu proses *docking*, membuat ligan fleksibel, kumpulan parameter, dan penghitungan *docking* yang memungkinkan untuk melakukan eksperimen ribuan *docking* dengan molekul berbeda (Morris *et al.*, 2009). Sedangkan program satunya melakukan perhitungan algoritma pada lokasi penambatan yang disebut AutoGrid4 (Yanuar, 2012).

Istilah *binding site* dalam *docking* adalah tempat sisi aktif dari makromolekul yang memungkinkan terjadinya interaksi dengan ligan. Sedangkan *grid box* biasanya didefinisikan sebagai dimensi atau ruang sisi aktif makromolekul berupa kubus yang memiliki ukuran dan posisi tertentu untuk penambatan ligan. Ukuran dan posisi *grid box* akan direpresentasikan dengan koordinat x, y dan z dan diatur dengan spasi (jarak) tertentu (La Kilo *et al.*, 2019). Autodock

memiliki empat pilihan *docking* algoritma yaitu *Simulated Annealing* (SA), *Darwinian Genetic Algorithm* (GA), *Local Search* (LS) dan *Lamarckian Genetic Algorithm* (GA-LS) perpaduan antara GA dan LS (Yanuar, 2012).

Penting untuk memastikan bahwa jumlah evaluasi energi pada proses *docking* ditingkatkan dari nilai default 250.000 ke 2.500.000 jika ligan memiliki ikatan yang dapat diputar. Dimungkinkan juga untuk meningkatkan jumlah *Genetic Algorithm run* dari nilai default 10. Satu parameter penting lainnya adalah *population size* defaultnya adalah minimal 150 sampai lebih 300 dapat meningkatkan efisiensi pencarian (Morris & Lim-Wilby, 2008). Untuk Autodock4 dengan *Lamarckian Genetic Algorithm* simulasi penambatannya menggunakan 100 *run* (Wulanawati dkk., 2018).

Hasil penambatan dari *docking* adalah energi afinitas ligan-reseptor dan nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD). Energi Afinitas menunjukkan kekuatan ikatan ligan-reseptor, apabila afinitas semakin besar maka ikatan ligan-reseptor jauh lebih stabil. RMSD merupakan suatu nilai yang menggambarkan tingkat penyimpangan relatif apabila suatu ligan ditambatkan ke sisi aktif makromolekul. Konfigurasi terbaik dari ikatan ligan-reseptor bila dihasilkan nilai afinitas terbesar dan nilai RMSD terkecil (La Kilo *et al.*, 2019). *Docking* dinyatakan valid bila parameter $RMSD < 2 \text{ \AA}$ (Angstrom) (Kartasmita *et al.*, 2015)

2.15.7 PyMol

PyMol merupakan salah satu *software* visualisasi molekuler dengan pemakaian budget minimal. kemampuan desain grafis yang profesional dengan gambar-gambar berkualitas tinggi untuk publikasi dan persiapan animasi video disediakan oleh PyMol. PyMol memberikan kualitas gambar tiga dimensi yang baik pada molekul

kecil dan makromolekul biologis seperti protein. Kata Py dari PyMOL menggambarkan bahwa program ini dijalankan dengan bahasa program *Python* (Yanuar, 2012).

2.15.8 UCSF Chimera

UCSF Chimera merupakan program untuk visualisasi terikat analisis struktur molekul dan data yang dirancang dan digunakan oleh ahli biologi struktural, penelitian biomedis yang terkait pada stuktur serta fungsi suatu molekul (Huang *et al.*, 2014). Chimera menggunakan Bahasa pemrograman *Python* yang lebih berorientasi pada objek sehingga mudah dibaca dan ditafsirkan yang berefek pada perkembangan serta penggunaannya cepat (Pettersen *et al.*, 2004). Chimera juga memberikan pelayanan melalui *website* <https://www.cgl.ucsf.edu/chimera/> untuk memperluas kemampuan analisis terkait pemahaman struktur molekul biologis, interaksi struktur biologis dan implikasinya (Huang *et al.*, 2014).

2.15.9 PcKSM

Penemuan obat sangat berkembang pesat dan menghasilkan berbagai jenis aktivitas yang bagus. Namun permasalahan keamanan dan farmakokinetik menjadi penghambat bagi obat baru digunakan. Untuk meminimalisir kegagalan farmakokinetik dan toksisitas suatu kandidat obat baru dapat dilakukan prediksi cepat menggunakan situs *Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity Properties Using Graph-Based Signatures* (pkCSM) yang menawarkan prediksi Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Ekskresi dan Toksisitas (Pires *et al.*, 2015a)