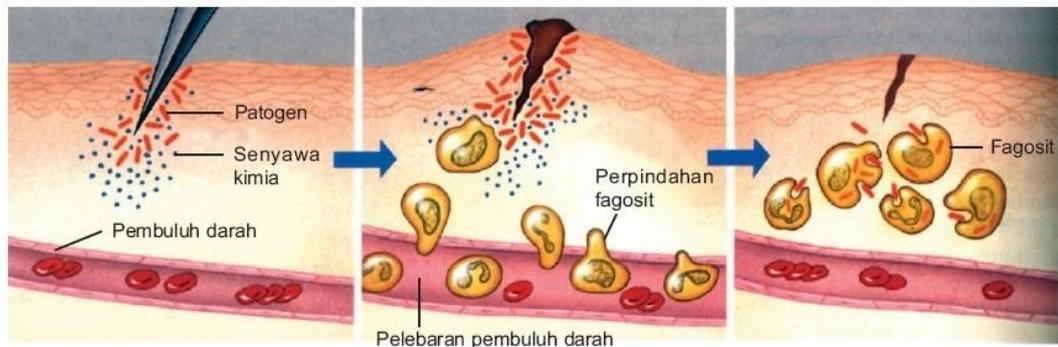


BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Inflamasi

Inflamasi adalah salah satu respon terhadap cedera jaringan ataupun infeksi. Inflamasi merupakan proses alami untuk mempertahankan homeostasis tubuh akibat adanya agen atau senyawa asing yang masuk (Oktaviani, 2014). 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).



Gambar 2.1 Proses terjadinya inflamasi (Purnomo *et al.*, 2009).

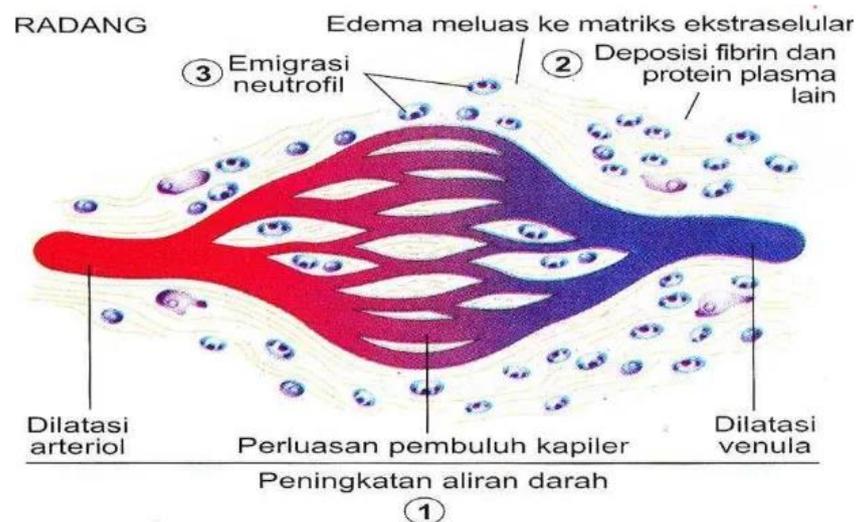
Proses inflamasi dimediasi oleh histamin, prostaglandin, eicosanoid, leukotrien, sitokin, nitrit oksida, dan lain-lain. Menurut (Mustofiyah, 2020), proses terjadinya inflamasi dimulai dengan kerusakan jaringan akibat stimulus yang menyebabkan pecahnya sel mast diikuti dengan pelepasan mediator inflamasi, dilanjutkan dengan terjadinya vasodilatasi yang kemudian menyebabkan migrasi sel leukosit.

2.2 Jenis dan Mekanisme Inflamasi

2.2.1 Inflamasi Akut

Pada inflamasi akut proses berlangsung singkat beberapa menit hingga beberapa hari, dengan gambaran utama eksudasi cairan dan protein

plasma serta emigrasi sel leukosit terutama neutrofil. *Rubor*, *kalor*, dan *tumor* pada inflamasi akut terjadi karena peningkatan aliran darah dan edema. Inflamasi akut biasanya terjadi tiba-tiba, ditandai oleh tanda-tanda klasik, dimana proses eksudatif dan vaskularnya dominan (Mitchell *et al*, 2015). Fase akut inflamasi ditandai granulosit darah yang cepat, munculnya neutrofil, kemudian disusul oleh monosit matang menjadi makrofag residen yang berproliferasi dan bediferensiasi ke jaringan rusak. Proses ini menyebabkan tanda-tanda utama peradangan akut: *rubor* (kemerahan), *kalor* (panas), *tumor* (bengkak), dan *dolor* (nyeri) (Ricciotti & FitzGerald, 2011).

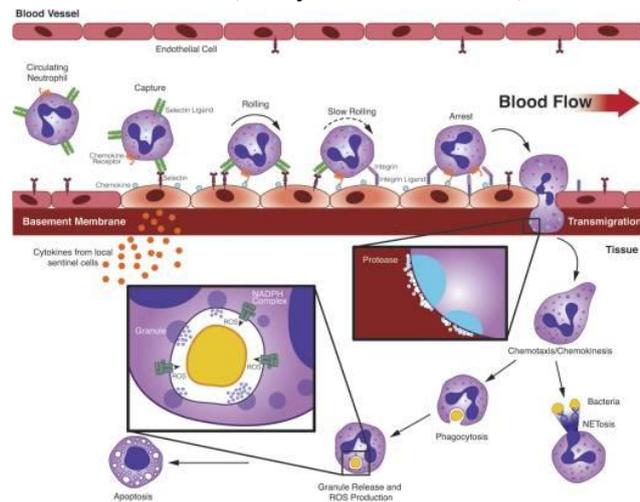


Gambar 2.2 Manifestasi lokal utama pada inflamasi akut. Ket: 1. Dilatasi pembuluh darah (menyebabkan eritema dan hangat); 2. Ekstavasasi cairan plasma dan protein (edema); dan 3. Emigrasi dan akumulasi leukosit di tempat jejas (Kumar *et al.*, 2007).

Kemerahan atau *rubor* biasanya merupakan hal pertama yang terlihat pada saat mengalami peradangan. Ketika reaksi peradangan mulai timbul maka arteri yang mensuplai darah ke daerah tersebut melebar, oleh karena itu darah mengalir lebih banyak ke dalam mikrosirkulasi lokal. Pembuluh darah yang sebelumnya kosong atau sebagian saja meregang dengan cepat dan terisi penuh oleh darah. Keadaan ini dinamakan hiperemia atau kongesti menyebabkan warna merah lokal karena peradangan akut. Timbulnya hiperemia merupakan permulaan

reaksi peradangan diatur oleh tubuh melalui pengeluaran zat mediator seperti histamin (Lumbanraja, 2009).

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 mengaktifkan 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 anti mikroba (Hirayama *et al.*, 2018).



Gambar 2.3 Mekanisme neutralisasi neutrofil sebagai respon terhadap antigen (Caster *et al.*, 2017).

Neutrofil mengalami penangkapan dan penggulangan cepat melalui interaksi selektin pada sel endotel dengan ligan mereka pada neutrofil. Selektin dan kemokin menginduksi penggulangan lambat dan penangkapan neutrofil yang dimediasi integrin. Setelah stimulus berbahaya dihilangkan melalui fagositosis, inflamasi dapat menurun.

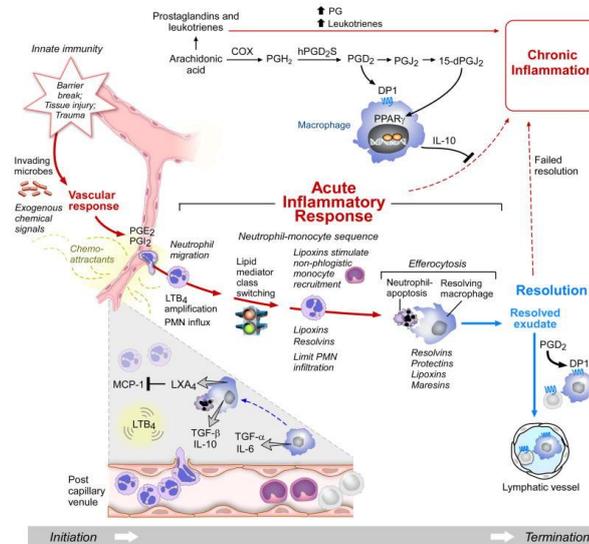
Selama penurunan peradangan, granulosit dihilangkan, makrofag dan limfosit kembali ke keadaan normal (Caster *et al.*, 2017).

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 (Liu *et al.*, 2017).

2.2.2 Inflamasi Kronik

Inflamasi kronik merupakan inflamasi dengan durasi waktu yang lama (beberapa minggu atau bulan) di mana terjadi peradangan, kerusakan jaringan, dan perbaikan yang berdampingan. Inflamasi kronik terjadi bila proses inflamasi akut gagal dan bila antigen menetap. Antigen yang menetap menimbulkan aktivasi dan akumulasi makrofag yang terus menerus. Makrofag berperan dalam memperbaiki jaringan parenkim yang rusak. Fagositosis dilakukan terhadap debris sel dan bahan-bahan lain yang belum didegradasi oleh neutrofil. Hasilnya, dapat berupa kembalinya struktur normal jaringan, atau fibrosis yang menyebabkan disfungsi pada jaringan tersebut. Antigen yang persisten dapat menyebabkan timbulnya sel epiteloid dan terjadinya granuloma. Aktivitas TNF- α di jaringan menyebabkan dipertahankannya struktur granuloma. Keterlibatan limfosit T yang kemudian mensekresikan IFN- γ menyebabkan terjadinya datangnya makrofag untuk membentuk sel datia. Pembentukan granuloma biasanya ditemukan pada kasus inflamasi akibat silika, talk, atau karena penyakit bakteri yang kronis seperti infeksi tuberkulosis, lepra, dan capsulatum. Infeksi bakteri

kronik dapat memacu pembentukan granuloma berupa agregat fagosit mononuklear dan sel plasma yang disebut *delayed type hypersensitivity* (DTH) atau tipe lambat/ tipe 4 (Harlim, 2018).



Gambar 2.4 Mekanisme terjadinya inflamasi kronik (Buckley *et al.*, 2014)

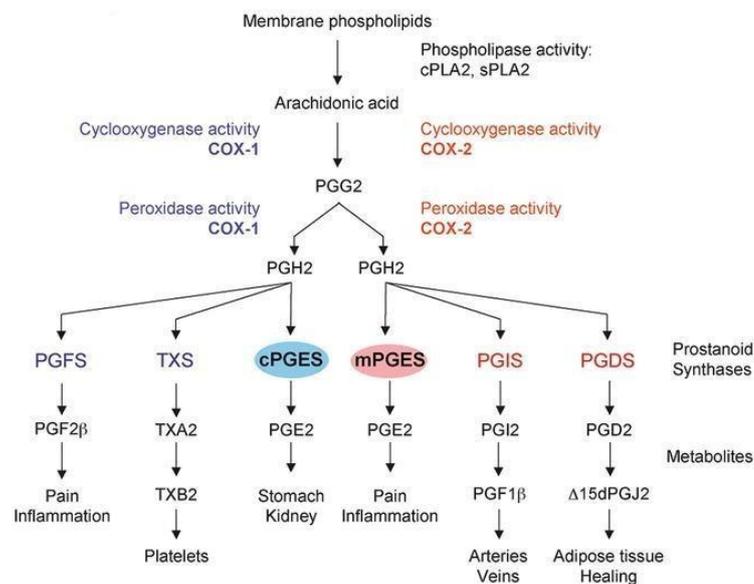
Inflamasi kronik terjadi bila penyembuhan pada radang akut tidak sempurna, bila penyebab jelas menetap atau bila penyebab ringan dan timbul berulang-ulang. Dapat pula diakibatkan oleh reaksi imunologik. Radang berlangsung lama (berminggu-minggu, berbulan-bulan). Radang kronik ditandai dengan lebih banyak ditemukan sel limfosit, sel plasma, makrofag, dan biasanya disertai pula dengan pembentukan jaringan granulasi yang menghasilkan fibrosis (Mitchell *et al.*, 2015).

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 *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).

2.3 Asam Arakidonat

Asam arakidonat merupakan prekursor dari sejumlah besar mediator inflamasi. Senyawa ini merupakan mediator inflamasi, senyawa ini merupakan komponen utama lipid seluler dan hanya terdapat dalam keadaan bebas dengan jumlah kecil yang sebagian besar berada dalam fosfolipid membran sel. Bila membran sel mengalami kerusakan oleh suatu rangsangan maka enzim fosfolifase diaktivasi untuk mengubah fosfolipid tersebut menjadi asam arakidonat, kemudian sebagian diubah oleh enzim *Cyclooxygenase* atau COX dan seterusnya menjadi prostagladin, prostasiklin dan tromboksan. Bagian lain dari asam arakidonat diubah oleh enzim lipooksigenase menjadi leukotrin (Tjay & Rahardja, 2007).



Gambar 2.5 Pembentukan metabolit asam arakidonat dan jalur Cyclooxygenase dalam inflamasi (Tegeger, 2013).

Pada jalur COX, asam arakidonat diubah oleh COX menjadi prostaglandin H₂ (PGH₂) melalui dua tahap. Ketika asam arakidonat menempel ke tempat aktif *Cyclooxygenase*, struktur kanal L akan membuat karbon-13 asam arakidonat tepat berada di depan Tyr-385. Saat COX mengalami aktivasi, Tyr-385 akan berubah menjadi molekul radikal. Radikal tirosil akan melepaskan atom hidrogen dari karbon-13 (di konfigurasi S). Lepasnya atom ini akan memicu reaksi siklooksigenasi dimana terjadi penambahan molekul oksigen membentuk jembatan endoperoksida antara karbon 9 dan 11 dan cincin 5 karbon yang khas pada senyawa prostaglandin. Molekul oksigen kedua memasuki karbon 15 menghasilkan gugus hidroperoksida PGG₂. Setelah tahap siklooksidasi selesai, terjadi tahap peroksidasi dimana COX akan mereduksi gugus 15- hidroperoksi di PGG₂ menjadi gugus alkohol, membentuk PGH₂. Setelah PGH₂ terbentuk, PGH₂ ini akan diproses kembali oleh enzim sintase terminal yang berbeda-beda menjadi prostanoid aktif yang akan bekerja di jaringan (Caughey *et al.*, 2001). *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).

2.3.1 *Cyclooxygenase-1* (COX-1)

Cyclooxygenase-1 secara konstitutif diekspresikan dalam retikulum endoplasma, pembuluh darah, sel otot polos, dan sel mesotelial (Waller & Sampson, 2018). Enzim COX-1 diproduksi dalam kondisi fisiologis normal di mana ia bertanggung jawab untuk sintesis prostaglandin, penginduksi sifat sitoprotektif, pengaturan 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 *et al.*, 2002).

COX-1 diproduksi oleh sebagian besar jenis sel dalam tubuh. Gen COX-1 bernama PTGS-1. Gen ini mengkode RNA mRNA sepanjang 2,8 kb yang stabil. Gen untuk COX-2, PTGS-2, teraktivasi terutama ketika ada rangsangan mediator inflamasi atau endotoksin bakteri di jaringan. Gen ini apabila teraktivasi akan menghasilkan mRNA sepanjang 4 kb yang mudah rusak karena ketidakstabilan di 3-*untranslated region* (Rouzer & Marnett, 2009).

2.3.2 *Cyclooxygenase-2* (COX-2)

Cyclooxygenase-2 merupakan enzim yang diekspresikan sebagai respon terhadap agen proinflamasi seperti sitokin dan endotoksin. Enzim COX-2 berperan dalam pembentukan prostaglandin yang diikuti proses patofisiologis seperti edema dan hiperalgesia. Pembentukan COX-2 diawali dengan PGH sintase mendonorkan dua molekul oksigen kepada asam arakidonat untuk sintesis prostaglandin H₂ (PGH₂). Perubahan ini akan membentuk prostaglandin terutama prostaglandin E₂ (PGE₂). Prostaglandin E₂ memiliki peran dalam proses inflamasi yaitu seperti vasodilatasi pembuluh darah, edema dan nyeri (Prasetya, 2015).

COX-2 hampir tidak terdeteksi dalam manusia yang sehat, ekspresinya yang cepat diinduksi oleh sel inflamasi dalam menanggapi rangsangan pro-inflamasi seperti sitokin, *growth factors*, *tumor promoting agents*, dan bakteri endotoksin. Prostaglandin (PG) yang diproduksi oleh COX-2 memiliki peran utama dalam reaksi inflamasi dan bertanggung jawab untuk gejala karakteristik inflamasi (kemerahan, nyeri, edema, demam dan kehilangan fungsi) (Abdellatif *et al.*, 2016).

Penghambat COX-2 seperti celecoxib, rofecoxib, valdecoxib dan parecoxib merupakan obat-obat golongan OAINS. Obat jenis ini mudah diabsorpsi di saluran cerna, memiliki first-pass *hepatic extraction* yang rendah, terikat kuat dengan albumin plasma, dan memiliki volume distribusi yang kecil. Obat OAINS yang larut dalam lemak dapat menembus blood brain barrier sehingga dapat memberikan efek lebih

besar terhadap sistem Saraf pusat (perubahan mood dan kognisi) (Abdellatif *et al.*, 2016). beberapa penelitian juga menunjukkan jumlah dan ukuran adenoma usus menurun oleh pengobatan dengan OAINS konvensional. COX-2 inhibitor dapat menghambat pertumbuhan tumor usus pada hewan, dan terjadi penurunan jumlah polip pada administrasi celecoxib pada pasien dengan poliposis adenomatous. COX-2 inhibitor juga memberikan efek protektif terhadap kanker kerongkongan, kanker lambung, dan kanker payudara (Stoelting R. K. & Hillier, 2006).

Informasi mengenai efek samping anti inflamasi non steroid COX-2 selektif inhibitor dan non-selektif inhibitor di luar negeri menyatakan bahwa AINS COX-2 selektif inhibitor dan non-selektif dapat menyebabkan peningkatan risiko kardiovaskuler terutama pada pasien dengan operasi *Coronary Artery Bypass Graft (CABG)*. Selain itu juga diketahui bahwa risiko pada saluran cerna untuk AINS COX-2 selektif inhibitor tidak lebih baik daripada AINS non selektif inhibitor (Williams & Buvanendran, 2010).

COX-2 inhibitor secara efektif juga dapat menangani rasa nyeri yang terkait dengan gangguan musculoskeletal seperti misalnya nyeri paska operasi akut yang terkait dengan operasi ortopedi dan artroskopi. Penggunaan obat-obat COX-2 inhibitor saat ini juga sudah mulai diberikan pada pasien dengan nyeri karena permasalahan pada gigi. 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).

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).

Efek samping yang bisa terjadi akibat penggunaan COX 2 inhibitor bisa berbeda-beda. Hal ini tergantung pada jenis COX 2 inhibitor yang digunakan dan kondisi pasien. Beberapa efek samping yang bisa muncul akibat penggunaan obat COX 2 inhibitor antara lain mual dan muntah, perut kembung, diare ataupun sembelit

Pada penyakit Alzheimer telah ditemukan peningkatan konsentrasi COX-2 di korteks frontal otak. Oleh karena itu OAINS 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).

2.3.3 *Cyclooxygenase-3 (COX-3)*

Cyclooxygenase-3 adalah produk dari gen yang sama seperti COX-1, yang diekspresikan disomsum tulang belakang dan korteks serebral juga ditemukan di sel endotel, monosit, dan jantung dalam jumlah yang lebih kecil. COX-3 dianggap memainkan peran kunci dalam biosintesis prostanoide 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 (Gunaydin & Bilge, 2018).

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 (OAINS), 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 di otak (Zarghi & Arfaei, 2011).

2.4 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 prostanoid (PGE₂, PGF₂ α , PGD₂, PGI₂) dan tromboxan A₂ (TXA₂) (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).

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).

2.5 Obat Anti-inflamasi

Terapi penderita dengan peradangan mencakup dua sasaran utama, yaitu meredakan nyeri yang seringkali merupakan gejala yang membuat pasien berobat dan keluhan utama yang berkelanjutan dari penderita, dan perlambatan atau penghentian proses kerusakan jaringan. Berdasarkan terapeutiknya maka obat antiinflamasi dibagi menjadi dua golongan yaitu golongan steroid dan golongan non-steroid (Katzung *et al.*, 2012).

2.5.1 Obat Anti-inflamasi Golongan Steroid

Merupakan kelompok utama agen hormonal yang dikenal memiliki sifat limfolisis. Glukokortikoid menghambat produksi mediator inflamasi termasuk leukotrien, prostaglandin, histamin, dan bradikinin. Secara *in vivo* obat-obat kortikosteroid menghambat pengeluaran prostaglandin bedanya dengan obat golongan non steroid menghambat enzim fosfolipase A2 sehingga pembentukan asam arakidonat yang merupakan substrat bagi enzim COX dan lipooksigenase menjadi terhambat dengan demikian pelepasan mediator inflamasi juga terhambat. Golongan obat ini digunakan terutama untuk menekan reaksi imunitas pada arthritis karena gangguan imunitas (Katzung *et al.*, 2004).

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).

Kortikosteroid jika digunakan dalam waktu yang lama akan menimbulkan efek samping akibat khasiat glukokortikoid dan mineralokortikoid, efek samping glukokortikoid meliputi diabetes dan osteoporosis yang terutama berbahaya bagi usia lanjut, dapat terjadi fraktur osteoporotik pada tulang pinggul dan tulang belakang. Pemberian dosis tinggi dapat menyebabkan nekrosis avaskular dan sindrom Cushing dengan gejala *moon face*, *striae* dan *acne* yang dapat pulih (*reversibel*) bila terapi dihentikan, tetapi cara menghentikan terapi harus dengan menurunkan dosis secara bertahap (*tapering-off*) untuk menghindari terjadinya insufisiensi adrenal akut (Katzung, 2005).

Dapat juga terjadi gangguan mental, euforia, dan miopati. Penggunaan kortikosteroid pada anak dapat menimbulkan gangguan pertumbuhan/perkembangan, sedangkan pada wanita hamil dapat mempengaruhi pertumbuhan adrenal anak. Efek pada jaringan dapat menyebabkan tanda klinis infeksi. Untuk efek samping mineralokortikoid adalah hipertensi, retensi Na, cairan dan hipokalemia (Katzung, 2005).

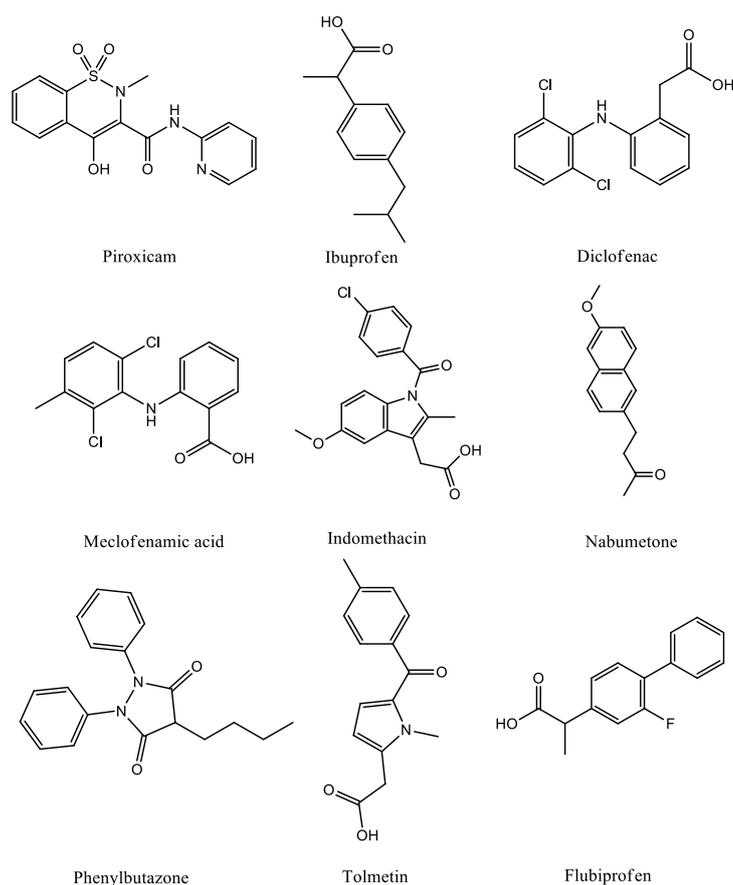
2.5.2 Obat Anti Inflamasi Non Steroid (OAINS)

Obat anti inflamasi non steroid (OAINS) merupakan suatu grup obat yang secara kimiawi tidak sama dan berbeda aktivitas antiinflamasinya. Obat-obat ini bekerja dengan jalan menghambat enzim *Cyclooxygenase* tetapi tidak menghambat enzim *lipxygenase* (Mycek, 2001).

Obat anti-inflamasi non steroid adalah salah satu obat nyeri yang paling sering diresepkan diseluruh dunia, telah diperkirakan 30 juta orang / hari diseluruh dunia menggunakan OAINS. Kelas obat ini sangat efektif untuk nyeri dan peradangan dikarenakan efek analgesik, anti-inflamasi, dan antipiretiknya yang kuat. Mekanisme kerja OAINS yaitu dengan menghambat enzim *Cyclooxygenase*, yang berperan dalam biosintesis

prostaglandin dan tromboksan yang merupakan mediator penting munculnya demam, nyeri, dan inflamasi (Gunaydin & Bilge, 2018).

OAINS dapat menekan produksi prostanoide PGE₂, penyebab inflamasi yang berasal dari COX-1 dan / atau COX-2. Namun penggunaan OAINS 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 (Attig *et al.*, 2018)

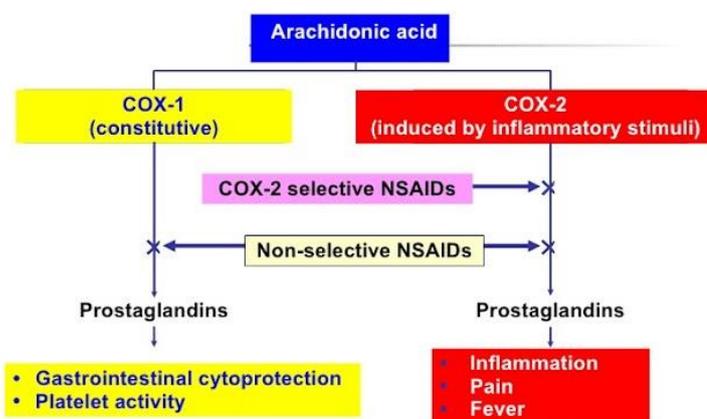


Gambar 2.6 Struktur kimia beberapa kelas OAINS (Katzung *et al.*, 2012).

OAINS yang diberikan secara peroral sangat cepat diabsorpsi, biasanya dalam 15-30 menit. Setelah diabsorpsi, 90% obat akan berikatan dengan albumin dan beredar bersamanya. Kondisi hipoalbuminemia akan

menyebabkan banyak obat tidak terikat dan efek samping yang ditimbulkan semakin besar (McDonald, 2016).

Hati akan memetabolisme hampir semua OAINS dan ekskresinya akan melalui ginjal atau empedu. Sirkulasi enterohepatik terjadi ketika OAINS atau metabolitnya diekskresi ke empedu dan terserap kembali di usus (McDonald, 2016). Penelitian menunjukkan bahwa derajat iritasi pencernaan akibat efek samping OAINS ternyata berkorelasi positif dengan jumlah sirkulasi enterohepatik (Katzung *et al.*, 2012). Penurunan fungsi ginjal akan memperpanjang waktu paruh obat sehingga dosis obat mungkin perlu dikurangi. Gangguan hati akan menghambat metabolisme OAINS sehingga meningkatkan toksisitas obat (McDonald, 2016).



Gambar 2.7 Jalur penghambatan obat OAINS selektif dan non selektif (Calder, 2010).

OAINS 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 OAINS non selektif menghambat jalur COX-1 dan COX-2 yang mengakibatkan inhibitor enzim 5 lipoksigenase (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).

AINS mempunyai efek samping pada tiga sistem organ yaitu saluran cerna, ginjal, dan hati. Efek yang paling sering adalah tukak peptik (tukak duodenum dan tukak lambung) yang kadang – kadang terjadi anemia sekunder karena perdarahan saluran cerna. Ada dua mekanisme iritasi lambung, iritasi yang bersifat lokal menimbulkan difusi asam lambung ke mukosa dan menyebabkan kerusakan jaringan, iritasi dan perdarahan secara sistemik akan melepaskan PGE2 dan PGI2 yang akan menghambat sekresi asam lambung dan merangsang sekresi mukus usus halus. Efek samping lain adalah gangguan fungsi trombosit akibat penghambatan biosintesis tromboksan A2 (TXA2) yang berakibat bertambahnya panjang waktu perdarahan (Zahra & Carolia, 2017).

2.6 Obat Inhibitor COX-2

Cyclooxygenase-2 (COX)-2 inhibitor adalah salah satu golongan antiinflamasi non steroid yang bersifat selektif menghambat reseptor COX-2. COX-2 spesifik inhibitor memiliki efek analgesik untuk mengatasi rasa nyeri pada beberapa penyakit, seperti nyeri karena osteoarthritis, rheumatoid arthritis, gout akut, dan dismenore. Obat penghambat spesifik COX-2 juga dapat digunakan sebagai obat proteksi terhadap kanker kolorektal. Pada sebagian besar pasien dengan kanker kolorektal ditemukan peningkatan ekspresi enzim COX-2 (Charlier & Michaux, 2003).

Obat anti inflamasi non steroid selektif hanya menghambat jalur COX- 2. 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).

Tabel 2.1 Klasifikasi Obat OAINS

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).

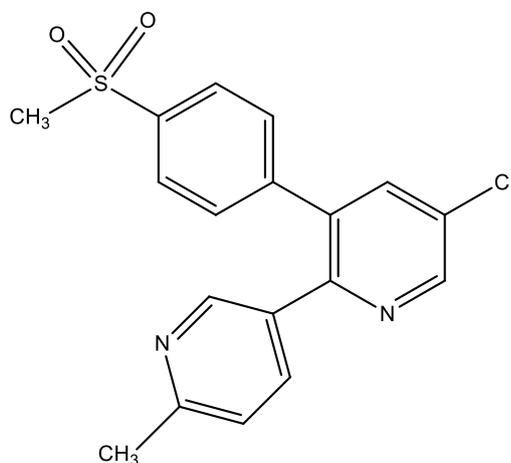
OAINS penghambat COX-2 selektif (coxib) disintesis hanya beberapa tahun setelah COX-2 ditemukan. Keuntungan OAINS jenis ini adalah OAINS ini tidak mengganggu fungsi platelet dan fungsi sistem pencernaan pada dosis biasa dengan efektivitas yang relatif sama dengan OAINS lain. Perlu diperhatikan bahwa OAINS penghambat COX-2 selektif juga memiliki efek samping, dimana mereka mampu meningkatkan risiko gangguan kardiovaskuler pada penggunaan jangka panjang. Seringnya insiden henti jantung menyebabkan rofecoxib dan valdecoxib ditarik dari pasaran. Saat ini hanya celecoxib yang masih digunakan untuk kepentingan klinis. Pada kondisi perioperatif, coxib mungkin lebih aman digunakan daripada OAINS lain karena tidak menyebabkan disfungsi platelet dan gangguan pencernaan (Stoelting & Hillier, 2012).

Obat penghambat spesifik COX-2 juga dapat digunakan sebagai obat proteksi terhadap kanker kolorektal. Pada sebagian besar pasien dengan kanker kolorektal ditemukan peningkatan ekspresi enzyme COX-2. Beberapa penelitian juga menemukan jumlah dan ukuran adenoma usus menurun oleh pengobatan dengan OAINS konvensional. COX-2 inhibitor dapat menghambat pertumbuhan tumor usus pada hewan, dan terjadi penurunan jumlah polip pada administrasi celecoxib pada pasien dengan poliposis adenomatous COX-2 inhibitor juga memberikan efek protektif terhadap kanker kerongkongan, kanker lambung, dan kanker payudara (Stoelting & Hillier, 2012).

2.6.1 Etoricoxib

Etoricoxib adalah obat antiinflamasi nonsteroid (OAINS) yang berfungsi untuk meredakan nyeri dan pembengkakan pada penderita

osteoarthritis, rheumatoid arthritis, ankylosing spondylitis, atau radang sendi akibat penyakit asam urat. dalam meredakan nyeri dan pembengkakan, obat ini bekerja dengan cara menghambat enzim yang memproduksi prostaglandin, yaitu senyawa yang dilepas tubuh ketika mengalami cedera dan menyebabkan peradangan, Etoricoxib suatu turunan biperidin, adalah penghambat selektif COX-2 generasi kedua yang memiliki rasio selektif tertinggi dari semua coxib untuk inhalasi COX-2 relatif terhadap COX-1. Obat ini dimetabolisasi oleh enzim P450 hati dan kemudian diekskresi melalui ginjal serta memiliki waktu paruh sebesar 22 jam. Etoricoxib efek samping lebih ringan terhadap lambung dan platelet. Mengurangi terjadinya perdarahan, perforasi ulkus peptikum dan dapat di pakai indikasi pada nyeri akibat trauma dan prosedur pembedahan. Memiliki profil keamanan terhadap saluran cerna dan fungsi hati (Katzung & Chatterjee, 2012).



Gambar 2.8 Bentuk struktur Etoricoxib

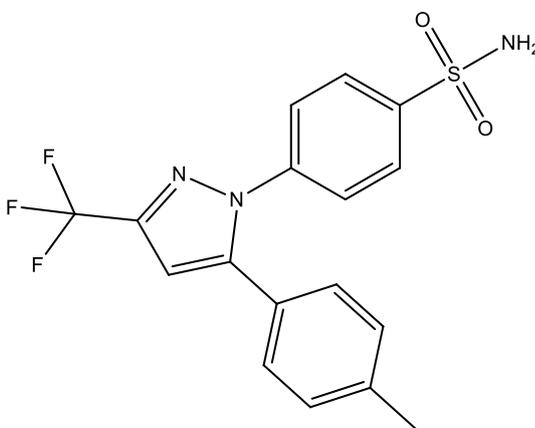
Pada pasien dengan osteoarthritis dari pinggul sampai lutut, etoricoxib secara signifikan lebih efektif daripada placebo dan memiliki efektifitas yang mirip dengan naproxen dengan regards untuk meringankan rasa sakit dan fungsi fisik kor dan penilaian global pasien tentang status penyakit skor dalam dua penelitian. Dosis etoricoxib yang dianjurkan adalah 60 mg/hari untuk osteoarthritis atau muskuloskeletal kronis nyeri etal, 60 atau 120 mg/hari untuk dismenore primerorrhoa, 90 mg/hari untuk rheumatoid arthritis dan 120 mg/hari untuk arthritis gout akut atau

nyeri akut yang berhubungan dengan operasi gigi (Williams & Buvanendran, 2010).

2.6.2 Celecoxib

Celecoxib adalah obat OAINS 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 hereditas (Gong *et al.*, 2012).

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 pengekanan fisiologis pada mediator inflamasi. Efek dari penghambatan tersebut menyebabkan trombosis, meningkatkan tekanan darah, dan meningkatkan aterosclerosis (saluran pembuluh pembentuk aterosclerosis) 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).

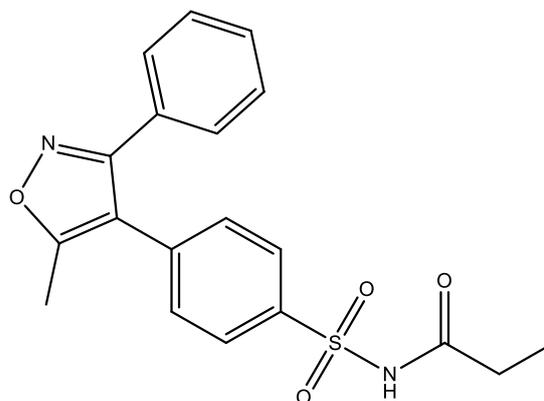


Gambar 2.9 Struktur kimia celecoxib

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).

2.6.3 Parecoxib

Parecoxib merupakan inhibitor COX-2 spesifik yang hanya tersedia dalam sediaan parenteral. Untuk penanganan nyeri paska pembedahan parecoxib 40 mg 1 jam sebelum pembedahan dan ditambahkan 40 mg setelah pembedahan jika diperlukan. Dosis dapat ditingkatkan sampai 80 mg pada pasien tertentu. Dosis penyesuaian direkomendasikan pada pasien tua dengan berat badan kurang 50 kg dan pada pasien dengan gangguan hati moderat. Tidak ada dosis penyesuaian pada pasien dengan gangguan ginjal, walaupun selama penggunaan harus menjadi perhatian. Parecoxib sedikit atau tidak berefek pada agregasi platelet dibanding ketorolak. *Bleeding time* meningkat bervariasi tetapi tidak bermakna bila dibandingkan dengan ketorolak. Efek samping yang lain adalah perubahan tekanan darah, nyeri punggung, edema perifer, dispepsia, insomnia, anemia paska pembedahan, gangguan pernafasan, pruritus dan oliguria. Efek tadi dilaporkan dengan insiden kurang dari 1% (Stoelting R. K. & Hillier, 2006).



Gambar 2.10 Struktur kimia parecoxib

2.7 Tanaman Semangka (*Citrullus lanatus*)

2.7.1 Taksonomi Tanaman Semangka (*Citrullus lanatus*)



Gambar 2.11 Buah Semangka (*Citrullus lanatus*)

Sumber : Dokumen Pribadi

Semangka merupakan tanaman buah berupa herba yang tumbuh merambat. Tanaman ini berasal Afrika, kemudian berkembang dengan pesat ke berbagai negara baik di daerah tropis maupun subtropis, salah satunya adalah Indonesia. Tanaman semangka bersifat semusim, tergolong cepat berproduksi karena umurnya hanya sampai 6 bulan (Syukur, 2009).

Klasifikasi botani tanaman semangka adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Sub-kelas	: Sympetalae
Ordo	: Cucurbitales
Famili	: Cucurbitaceae
Genus	: <i>Citrullus</i>
Spesies	: <i>Citrullus lanatus</i>

(Syukur, 2009)

2.7.2 Morfologi dan anatomi semangka

Semangka merupakan tanaman terna semusim yang tumbuh menjalar di atas tanah atau memanjat dengan sulur-sulur atau alat pembelit. Batangnya lunak, bersegi dan berambut, dan panjangnya mencapai 1,5-5 m. Sulur tumbuh dari ketiak daun, bercabang 2-3. Daun berseling, bertangkai, helaian daun lebar dan berbulu, berbagi menjari, dengan ujung runcing. Panjang daun berkisar 3-25 cm dengan lebar 1,5-15 cm. Bagian tepi daun bergelombang, kadang bergigi tidak teratur. Permukaan bawahnya berambut rapat pada tulangnya (Sobir, 2010).

Semangka memiliki tiga jenis bunga, yaitu bunga jantan (*staminate*), bunga betina (*psitillate*), dan bunga sempurna 8 (*hermaphrodite*). Namun demikian, umumnya semangka memiliki bunga jantan dan bunga betina dengan proporsi 7:1. Bunga jantan memiliki tangkai sepanjang 12-45 mm, mahkota bunga sepanjang 10- 25 mm, dan berwarna hijau kekuningan. Sementara bunga betina memiliki bentuk tunggal dengan tangkai 45 mm, lima helai mahkota bunga, dan berwarna kuning kehijauan. Bunga tersebut biasanya mekar di pagi hari dan keluar dari ketiak daun. Buah berbentuk bulat hingga memanjang dengan ukuran oanjang 20-30 cm, diameter 15-20 cm, dan berat 4-20 kg. Kulit buahnya tebal dan berdaging dan licin (Sobir, 2010).

Warna kulit buah bermacam macam, seperti hijau tua, kuning agak putih, atau hijau muda bergaris-garis putih. Daging buah berwarna merah, merah muda, jingga, kuning, bahkan ada yang putih. Biji bentuk memanjang dan pipih. Warnanya hitam, putih, kuning, atau cokelat kemerahan. Ada juga semangka yang tak berbiji (*seedless*). Semangka memiliki usia panen yang berbeda-beda. Semangka yang sering kita makan dan kita temui rata-rata memiliki usia panen sekitar 60 hari (Sobir, 2010).

2.7.3 Kandungan Kimia Buah Semangka

Buah semangka memiliki berbagai kandungan di dalam nya, tiap 100 gram buah semangka mengandung Air 91,45 gram, Energi 30 kcal,

Protein 0,61 gram, Karbohidrat 7,55 gram, Serat total 0,4 gram, dan Kadar gula total 6,2 gram (Haytowitz & Pehrsson, 2018).

Pada penelitian yang dilakukan oleh (Izzati & Sulistyoningih, 2019) Hasil dari penelitian dan pengamatan yang telah dilakukan memberikan simpulan bahwa hasil dari pengujian skrining fitokimia pada buah semangka mengandung senyawa alkaloid dan saponin yang berguna sebagai senyawa anti inflamasi. Selain itu, Buah Semangka mengandung vitamin C dan A yang cukup banyak sehingga dapat digunakan untuk meningkatkan produksi ASI.

Tabel 2.2 Kandungan Mineral dan Vitamin pada semangka

Nutrient	Unit	Value per 100 g
Calcium, Ca	mg	7
Iron, Fe	mg	0.24
Magnesium, Mg	mg	10
Phosphorus, P	mg	11
Potassium, K	mg	112
Sodium, Na	mg	1
Zinc, Zn	mg	0.1
Vitamin C, total ascorbic acid	mg	8.1
Thiamin	mg	0.033
Riboflavin	mg	0.021
Niacin	mg	0.178
Vitamin B-6	mg	0.045
Folate, DFE	µg	3
Vitamin B-12	µg	0
Vitamin A, RAE	µg	28
Vitamin A, IU	IU	569
Vitamin E (alpha-tocopherol)	mg	0.05
Vitamin D (D2 + D3)	µg	0
Vitamin D	IU	0
Vitamin K (phylloquinone)	µg	0.1

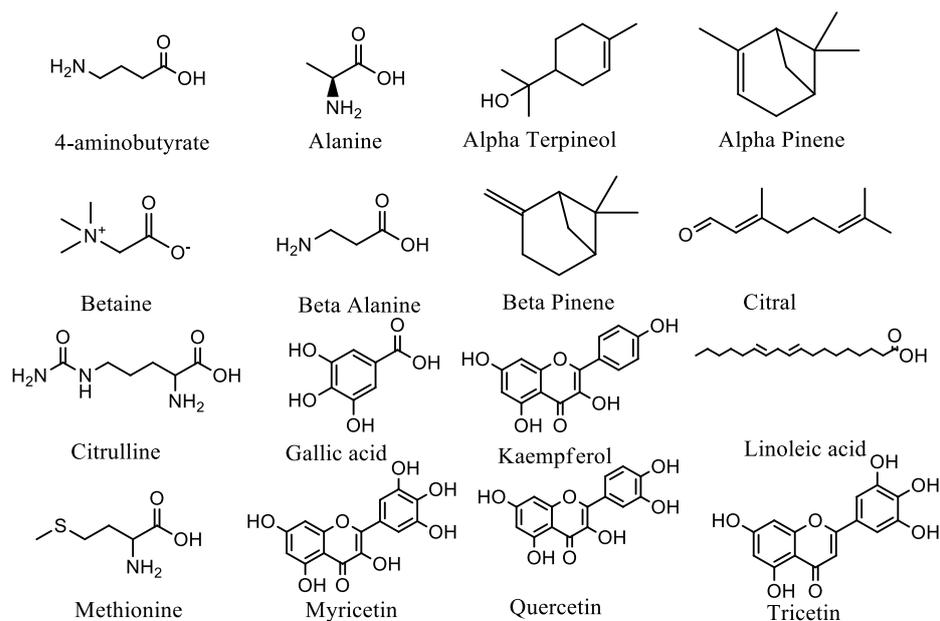
Sumber : (Haytowitz & Pehrsson, 2018).

2.7.4 Metabolit Sekunder Buah Semangka

Buah semangka mengandung berbagai macam senyawa bioaktif, termasuk glikosida, karotenoid, flavonoid, alkaloid, karbohidrat, asam lemak, dan minyak atsiri. Yang menarik dari buah semangka adalah beberapa senyawa yang bermanfaat, seperti asam nervonik, yang

bermanfaat bagi fungsi otak, asam oleat, yang dikenal sebagai anti-inflamasi umum yang baik, dan asam puniceic, yang memiliki berbagai sifat biologis, khususnya antidiabetes dan anti-obesitas (Mauldin *et al.*, 2012).

Buah Semangka (*Citrullus lanatus*) terdapat metabolit sekunder sebanyak 1.679 senyawa (Sorokina *et al.*, 2021). Salah satu senyawa semangka yang paling terkenal adalah *citrulline*, *citrulline* adalah senyawa asam amino non esensial dan anti oksidan yang pertama kali ditemukan pada jus semangka. Zat *citrulline* akan bereaksi dengan enzim tubuh ketika dikonsumsi dalam jumlah yang cukup lalu diubah menjadi arginin, asam amino non esensial yang berkhasiat bagi jantung, sistem peredaran darah, dan kekebalan tubuh. Dalam berbagai penelitian ditemukan bahwa *citrulline* dapat digunakan untuk menurunkan toksisitas arginase pada manusia dengan suplemen *citrulline* pada tikus, *citrulline* juga dapat menyembuhkan aterosklerosis pada kelinci (Mauldin *et al.*, 2012).



Gambar 2.12 Struktur kimia metabolit sekunder buah semangka (Sorokina *et al.*, 2021; Sulaiman *et al.*, 2020)

2.7.5 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:

- a. Aktivitas pembersihan radikal dan antioksidan
- b. Modulasi aktivitas seluler sel yang berhubungan dengan peradangan (sel mast, makrofag, limfosit, dan neutrofil)
- c. Modulasi penghambatan aktivitas enzim proinflamasi seperti enzim PLA₂, COX, dan LOX, serta enzim penghasil NO yaitu nitrit oksida sintase (NOS)
- d. Modulasi penghambatan produksi molekul proinflamasi lainnya
- e. Modulasi penghambatan ekspresi gen proinflamasi seperti AP-1, NF- κ B, dan proto-onkogen (c-jun, c-fos, dan c-myc)

(Bellik *et al.*, 2013).

2.8 Penambatan Molekuler

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 (Mintseris *et al.*, 2005).

Penambatan molekul dapat diibaratkan seperti gembok dan kunci (*lock and key*), protein sebagai gemboknya dan ligan sebagai kuncinya. Penambatan molekul juga dapat diartikan sebagai suatu proses optimasi yang akan memberikan gambaran tentang arah ikatan yang paling baik dari ligan untuk mengikat protein tertentu (Mukesh & Rakesh, 2011). Penambatan molekul 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)

Energi ikatan yang didapat dari hasil proses *docking* adalah suatu parameter yang utama untuk mengetahui stabilitas antara ligan dan protein reseptor. Interaksi yang terjadi antara ligan dan reseptor akan cenderung berada pada suasana energi yang paling rendah. Hal tersebut dikarenakan apabila energi ikatan yang dihasilkan rendah maka menandakan bahwa molekul berada pada suasana yang stabil, sehingga semakin rendah energi ikatan yang dihasilkan maka interaksi antara ligan dan reseptor semakin bagus (Arwansyah *et al.*, 2014).

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).

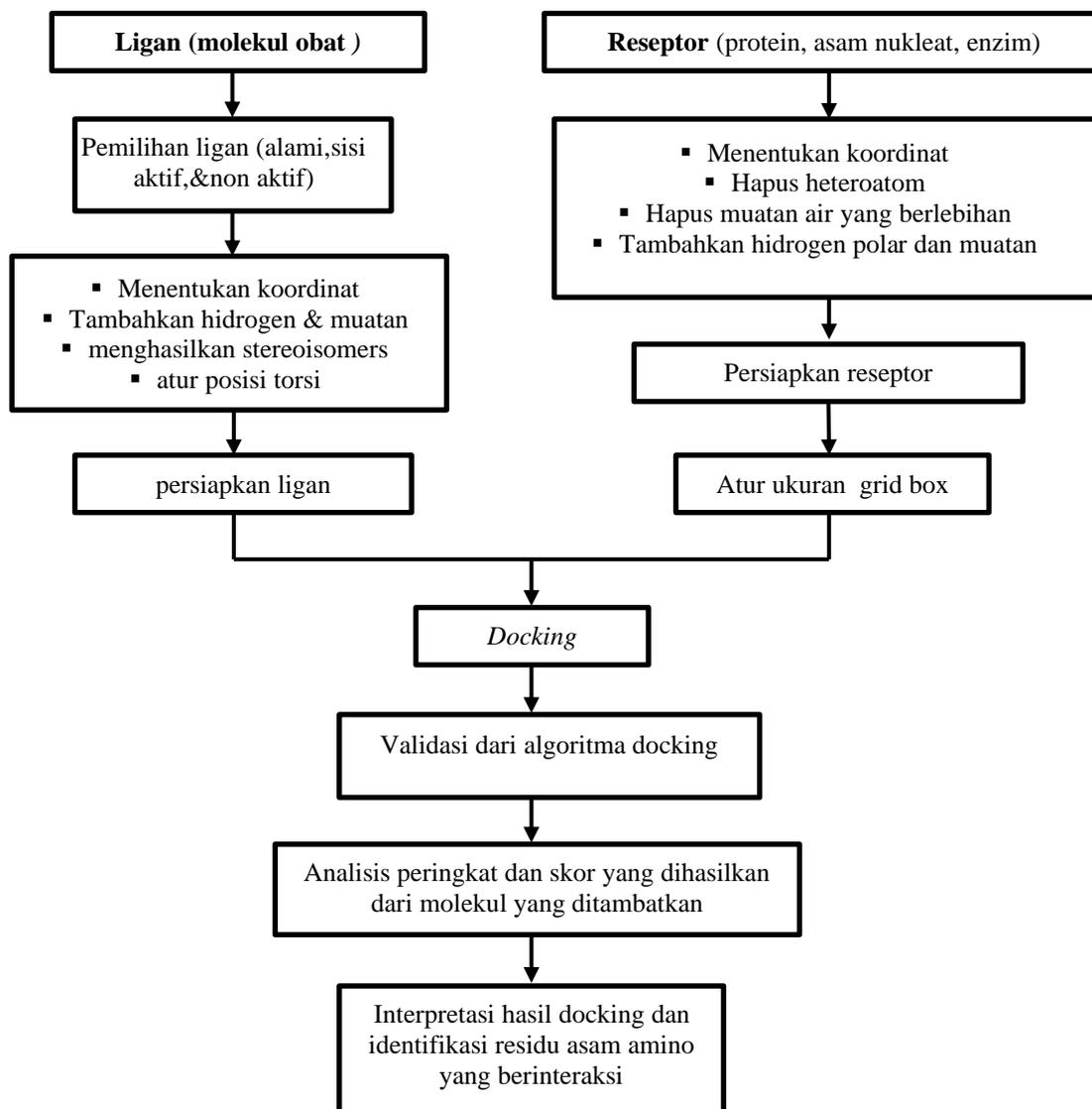
Penambatan molekuler adalah salah satu metode yang paling sering digunakan di SBDD karena kemampuannya memprediksi dengan tingkat keakuratan tinggi. Metodologi komputasi penambatan molekuler dapat mempersingkat proses penemuan obat dengan mengurangi biaya dan sumber daya yang diperlukan melalui identifikasi *in silico* dari calon obat yang potensial (Cuzzolin *et al.*, 2015). Penambatan molekuler 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).

Proses *docking* terdiri atas beberapa tahap yang kompleks. Proses ini diawali dengan penerapan algoritma *docking*. Dalam penambatan molekuler, 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 & Ricardo, 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 elektrostatik, interaksi hidrofobik

(terutama interaksi Van der Waals), dan ikatan hidrogen yang berkontribusi pada harga energi ikatan bebas (ΔG) dari ligan-reseptor (Kumar & Kumar, 2019).



Gambar 2.13 Mekanisme penambatan molekuler (Roy *et al.*, 2015).

Terdapat beberapa parameter yang biasa dipakai untuk menilai kualitas hasil dari penambatan molekuler suatu *ligand* terhadap reseptor, diantaranya: *posing*, *scoring* dan *ranking*. Bahan yang digunakan untuk melakukan validasi ini pada umumnya adalah ligan yang terdapat di dalam struktur tiga dimensi dari hasil analisis sinar-X dari kokristal ligan dan reseptornya kemudian akan memberikan hasil *posing* yang baik dengan nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*) < 2.0 Amstrong. Hasil dari pemilihan konformasi

ligan dari analisis kluster dapat dihitung kesesuaian posingnya dengan *ligand* dan struktur kristal (Yanuar, 2012).

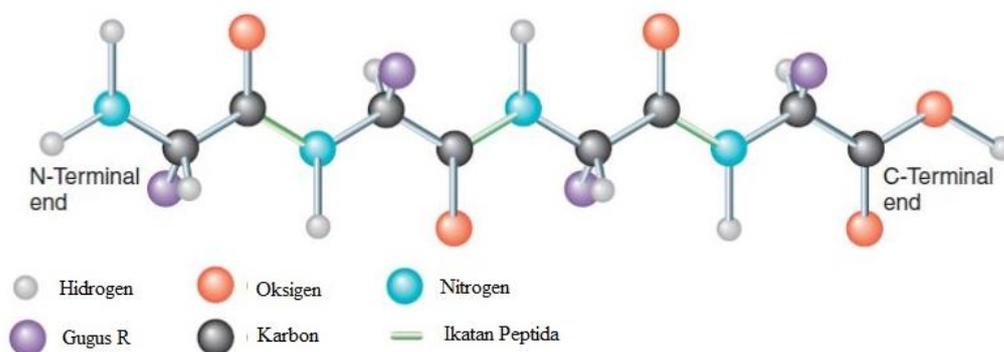
2.9 Protein

Kata protein berasal dari bahasa Yunani "proteios", yang berarti bilangan prima atau primer. Kata ini sangat tepat, karena protein kemudian dikenal oleh sebagian besar ilmuwan (misalnya, Carl von Voit) sebagai komponen jaringan yang paling mendasar pada hewan dan manusia. Pada tahun 1840, J. von Liebig dengan tepat mengusulkan bahwa protein terdiri dari asam amino. Selama seabad yang lalu, teknik fisikokimia semakin maju dan membantu dalam penentuan komposisi serta struktur protein. Sekarang telah diketahui bahwa protein adalah makromolekul yang terdiri dari satu atau lebih rantai polipeptida yang memiliki struktur tiga dimensi berbeda (Wu, 2021).

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).

2.9.1 Struktur Protein Primer

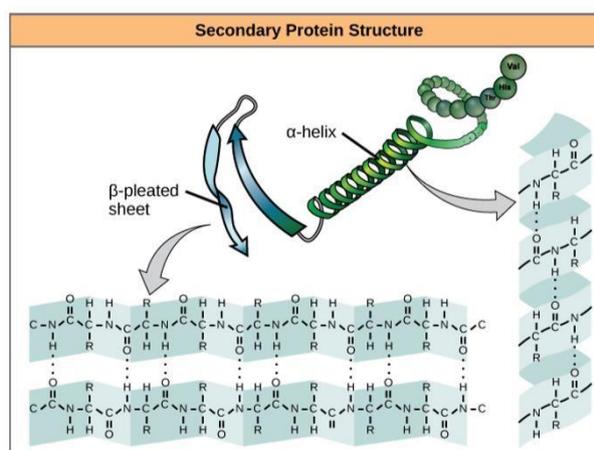
Struktur primer seperti yang ditunjukkan pada gambar, mengacu pada urutan asam amino dari rantai polipeptida. Terdapat 20 asam amino standar dari rantai samping yang berpengaruh pada sifatnya hidrofobik atau hidrofilik. Hidrofobisitas asam amino tersebut berpengaruh besar



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).

2.9.2 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).

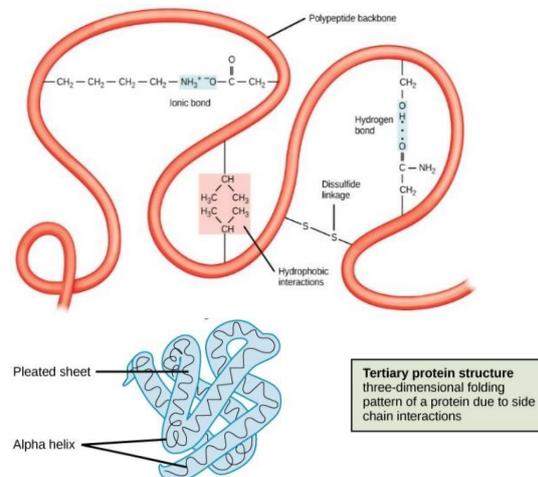


Gambar 2.15 Bentuk struktur protein sekunder (Clark *et al.*, 2018)

2.9.3 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

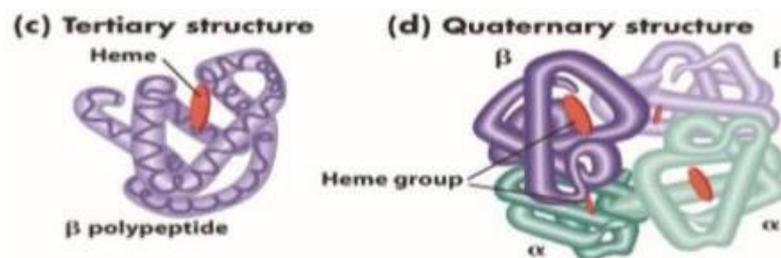
berpengaruh pada bentuk protein, maka dapat terbentuk aktivitas protein yang tidak normal dan stabilitasnya buruk. Ikatan hidrogen, ikatan hidrofobik, ikatan ionik dan ikatan disulfida juga berperan penting dalam pembentukan struktur protein tersier (Crommelin *et al.*, 2019).



Gambar 2.16 Bentuk struktur protein tersier (Clark *et al.*, 2018).

2.9.4 Struktur Protein Kuarter

Struktur kuarter adalah gabungan dari beberapa molekul protein atau rantai polipeptida struktur tersier. Struktur kuarter 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 2.17 Bentuk struktur protein kuarter (Gupta *et al.*, 2017).

2.10 Asam Amino

Asam amino adalah asam alkanooat yang mengandung gugus amino. Kedua puluh jenis asam amino yang membentuk protein mempunyai kemiripan struktur (kecuali prolin) yaitu gugus karboksilat dan amino terikat pada atom

C yang sama yaitu pada atom C- α . Perbedaan satu asam amino dengan asam amino yang lain terletak pada rantai sampingnya (gugus R), yang bermacam-macam dalam struktur, ukuran, dan muatan listriknya. Perbedaan sifat gugus R tersebutlah yang kemudian menentukan kelarutan asam amino dalam air (Simamora, 2015).

Asam amino adalah kelas biomolekul penting yang mengandung gugus amino ($-\text{NH}_3^+$), gugus karboksilat ($-\text{COO}^-$), dan rantai samping (-R). Meskipun ratusan rantai samping asam amino telah diidentifikasi atau disintesis, hanya 20 asam amino yang merupakan bahan penyusun umum protein (Brenner *et al.*, 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 (Neilana & Shih, 2003).

2.11 *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).

2.12 Interaksi Protein Ligand

2.12.1 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 (de Freitas & Schapira, 2017).

2.12.2 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, $[F \cdots H \cdots F]$), kuat (misalnya, $O-H \cdots O=C$), atau lemah (misalnya, $C-H \cdots O$), semua sifat tersebut bergantung pada energi ikatan (MacLeod & Rosei, 2011).

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 (Chen *et al.*, 2016).

2.12.3 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).

2.13 Minimisasi Energi

Minimalisasi energi dapat mempermudah dan menyetabilkan susunan ikatan selama penambatan molekul, penambahan hidrogen, dan konversi struktur dua dimensi menjadi tiga dimensi (Ganesan *et al.*, 2020). Minimisasi energi dengan medan gaya (force field) seperti medan gaya mekanika molekuler (molecular-mechanics force fields, MMFF94) juga diketahui dapat digunakan untuk menghitung energi potensial dan parameter lainnya seperti regangan ikatan, sudut lekukan, panjang lekukan, gaya torsi, lekukan out-of-plane, interaksi van der Waals, dan elektrostatis (Jász *et al.*, 2017).

Akibatnya, optimasi melalui minimisasi energi yang dilakukan dengan baik dan tepat dapat meningkatkan ketepatan dan performa hasil penambatan molekular. Hasil penambatan molekular selanjutnya dilaporkan dalam afinitas ikatan (binding affinity) dan interaksi molekul. Afinitas ikatan mempengaruhi aktivitas intermolekular senyawa dan berimbang pada kekuatan ikatan (Nisha *et al.*, 2016).

2.14 Validasi Metode

Validasi metode molecular docking diketahui dengan cara men-docking-kan kembali native ligand pada protein target yang telah mengalami preparasi menggunakan program Autodock 4.2. Metode dikatakan valid apabila nilai Root Mean Square Deviation (RMSD) yang diperoleh $\leq 2 \text{ \AA}$. Dalam validasi metode molecular docking, dilakukan juga pengaturan grid box yang akan menjadi ruang untuk native ligand membentuk konformasi ketika di-docking-kan dengan protein target. Pada proses validasi docking, yang dilihat adalah nilai RMSD (Root Mean Square Deviation). RMSD merupakan parameter yang menggambarkan seberapa besar perubahan interaksi protein ligan pada struktur kristal sebelum dan sesudah di docking untuk mengetahui nilai penyimpangannya (Jain & Nicholls, 2008).

2.15 Perangkat Lunak

2.15.1 AutoDock dan AutoGrid

AutoDock merupakan program penambatan molekul yang efektif dan dengan proses yang bekerja secara cepat serta akurat yang kemudian dapat memberikan prediksi berupa konformasi dan energi dari suatu ikatan antara ligan dan target makromolekul. AutoDock terdiri dari dua program, yaitu AutoDock dan AutoGrid. AutoDock digunakan untuk melakukan penambatan molekul ligan dan protein target dengan set grid yang telah terdeskripsi. Sebelumnya, pendeskripsian ini telah dilakukan dengan AutoGrid. Untuk memungkinkan pencarian konformasi, AutoDock membutuhkan ruang pencarian dalam sistem koordinat dimana posisi ligan dianggap akan terikat (Fitriah, 2017).

Perancangan obat dengan bantuan komputer (*Computer Aided Drug Design*) merupakan salah satu proses merancang suatu senyawa bioaktif yang menjadi pencetus pembuatan *software* AutoDock. AutoDock adalah sebuah *software* yang dikembangkan agar dapat melakukan suatu prosedur yang bertujuan untuk memprediksi interaksi molekul kecil berupa ligan dengan molekul target berupa reseptor. AutoDock adalah sebuah *software* yang dapat dengan cara mendownloadnya secara gratis pada situs <http://AutoDock.scripps.edu/downloads> (Yanuar, 2012).

2.15.2 Avogadro

Avogadro mulai dikembangkan mulai pada tahun 2007 sebagai aplikasi yang digunakan untuk membuat kerangka kerja yang kuat dan fleksibel guna membuat dan menggambarkan suatu struktur molekul. Kelebihan yang dimiliki oleh aplikasi ini adalah selain dapat membuat struktur kimia secara 3 dimensi, juga dapat menentukan bentuk paling stabil dari struktur tersebut sehingga lebih mudah untuk mendapatkan data yang valid saat senyawa uji ditambahkan pada reseptor target. Salah satu kegunaan aplikasi ini adalah yaitu untuk mendukung *software* AutoDock agar dapat menemukan struktur geometri yang paling stabil dari suatu struktur kimia sebelum dilakukan penambahan senyawa terhadap targetnya (Hanwell *et al.*, 2012).

2.15.3 Discovery Studio

Discovery Studio Visualizer merupakan serangkaian perangkat lunak yang dapat digunakan untuk memvisualisasikan struktur molekul agar dapat melihat gambaran yang interaktif dari struktur tersebut. Perangkat ini menampilkan gambar yang berkualitas tinggi dari hasil visualisasi struktur senyawa. Aplikasi ini dapat digunakan pada Windows dan Linux dan terintegrasi dengan desktop yang menyediakan akses ke fitur sistem operasi standar seperti sistem berkas, *clipboard*, dan percetakan. *Software* ini dioperasikan peneliti untuk memvisualisasikan struktur molekul yang telah di-*docking*-kan.

Software ini dapat menggambarkan visualisasi dengan jelas dan kualitas tinggi dalam menggambarkan struktur senyawa sehingga peneliti mendapatkan gambaran jelas dari hasil penambatan molekuler (Berman *et al.*, 2005).

2.15.4 Open Babel

Sejak 2001, Open Babel telah dikembangkan dan diperluas secara substansial sebagai proyek kolaborasi internasional menggunakan model pengembangan *open-source*. Open Babel memiliki lebih dari 160.000 unduhan, lebih dari 400 kutipan, digunakan oleh lebih dari 40 proyek perangkat lunak, dan tersedia secara gratis dari situs web Open Babel. Open Babel mendukung total 111 format file kimia. Open Babel dapat membaca 82 format dan menulis 85 format, mencakup banyak format umum yang digunakan dalam kimiawi (SMILES, InChI, MOL), file masukan dan keluaran dari berbagai paket kimia komputasi (GAMESS, Gaussian), format file kristalografi (CIF, ShelX), format reaksi (MDL RXN), format file yang digunakan oleh dinamika molekul dan paket *docking* (AutoDock), format yang digunakan oleh paket gambar 2D (ChemDraw), penampil tiga dimensi (Chemtiga dimensi, Molden) dan kinetika kimia dan termodinamika (ChemKin, Thermo) (O'Boyle *et al.*, 2011).

2.16 Basis Data

2.16.1 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; kesamaan 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).

2.16.2 *Protein Data Bank*

Di dalam *database* ini terdapat beragam bentuk struktur, baik protein yang berukuran kecil hingga yang berukuran besar yang berupa molekul kompleks seperti ribosom. *Database* ini juga menyimpan struktur tiga dimensi suatu makromolekul biologis salah satunya berupa protein dari berbagai jenis organisme seperti manusia, tanaman, hewan, bahkan bakteri yang jumlahnya mencapai 32.500 molekul. Data struktur tiga dimensi dari protein dan asam nukleat tersebut diperoleh dari kristalografi sinar-X atau spektroskopi NMR yang dikerjakan oleh ilmuwan biologi dan biokimia dari seluruh dunia (Yanuar, 2012).