

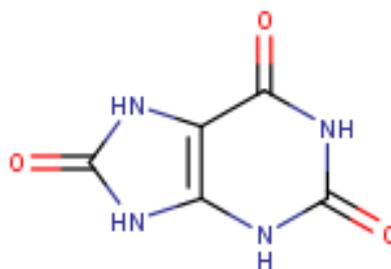
## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Asam Urat

##### 2.1.1. Pengertian

Asam urat adalah produk akhir metabolisme purin, terdiri dari karbon, nitrogen, oksigen dan hidrogen dengan rumus molekul  $C_5H_4N_4O_3$ . Asam urat adalah asam lemah dengan pKa 5,8. Bentuk asam urat yang terionisasi, urat, terdapat dalam cairan sinovial dan cenderung terdapat dalam cairan plasma ekstraselular. Sekitar 98% terdapat dalam bentuk monosodium urat (MSU) dengan pH 7,4. Plasma tersaturasi dengan MSU pada konsentrasi 6,8 mg/dL. Asam urat relatif tidak larut air dan cenderung mengendap dalam konsentrasi tinggi (Mandell, 2002; Gomella, 2007; Dianati, 2015).



Gambar 2.1 Struktur Asam Urat

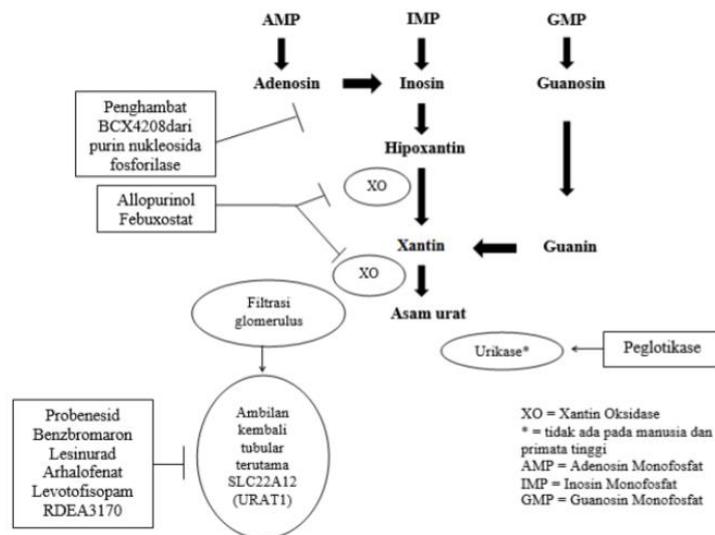
Sumber: Dokumentasi pribadi

Asam urat adalah bentuk zat alami yang berada di dalam aliran darah tubuh manusia karena tubuh manusia mengandung purin. Asam urat merupakan produk akhir dari pemecahan purin (katabolisme). Purin adalah zat alami yang termasuk dalam struktur kimia yang menyusun DNA dan RNA. Purin merupakan protein yang termasuk dalam golongan nukleoprotein yang merupakan komponen asam nukleat yang terdapat dalam inti sel tubuh. Purin diperoleh melalui katabolisme asam nukleat, yang secara langsung diubah menjadi asam urat. Ada 2 sumber utama

purin yaitu yang diproduksi oleh tubuh dan purin yang diperoleh melalui makanan nabati atau hewani. Pemecahan nukleotida purin terjadi di semua sel, namun pembentukan asam urat dilakukan dan produksi oleh jaringan yang mengandung xantin oksidase, terutama di hati dan usus halus. Oleh karenanya hati dan mukosa usus merupakan penghasil sebagian besar asam urat (Gomella, 2007; Dianati, 2015; Noviyanti & Ola, 2015).

### **2.1.2. Mekanisme Pembentukan Asam Urat**

Sintesis asam urat dimulai dari terbentuknya basa purin dari gugus ribosa yaitu fosforibosil pirofosfat (PRPP) yang diperoleh dari ribosa-5-fosfat yang disintesis dengan adenosin trifosfat (ATP). Pada reaksi pertama, PRPP bereaksi dengan glutamin membentuk fosforibosilamin. Reaksi tersebut dikatalisis oleh PRPP glutamil aminodotransferase. Pada pasien pengidap hiperurisemia, sintesis PRPP akan dihambat oleh tiga nukleotida, yaitu inosin monofosfat (IMP), adenosin monofosfat (AMP), dan guanosin monofosfat (GMP). Ketiga nukleotida tersebut juga menghambat enzim pengkatalis PRPP. AMP mengalami deaminasi menjadi inosin kemudian IMP dan GMP mengalami defosforilasi menjadi inosin dan guanosin. Basa hipoxantin lalu terbentuk dari IMP yang mengalami defosforilasi dan diubah oleh xantin oksidase menjadi xantin. Guanin akan mengalami deaminasi untuk menghasilkan xantin juga. Selanjutnya xantin akan diubah oleh xantin oksidase menjadi asam urat (Nasrul & Sofitri, 2012).



Gambar 2.2 Mekanisme pembentukan asam urat

Sumber: Nasrul & Sofitri, 2012

Singkatnya, pembentukan asam urat dimulai dengan metabolisme dari DNA dan RNA menjadi adenosin dan guanosin (Purin) yang merupakan konstituen asam nukleat. Adenosine kemudian dimetabolisme menjadi hipoxantin, selanjutnya hipoxantin dimetabolisme menjadi xantin. Sedangkan guanosin sendiri dimetabolisme menjadi xantin. Xantin hasil metabolisme dari hipoxantin dan guanosin kemudian dirubah menjadi asam urat dengan bantuan xantin oksidase (Marks, 2000).

### 2.1.3. Kadar Normal Asam Urat

Asam urat lebih banyak ditemukan pada laki- laki daripada perempuan. Kadar asam urat pria selama pubertas akan lebih tinggi karena kadar urat serum mulai meningkat sejak masa kanak-kanak. Sedangkan pada wanita, kadar asam urat tetap rendah sampai setelah menopause. Setelah monopause maka kadar asam urat akan meningkat dan mendekati kadar asam urat laki-laki. Kadar urat serum dapat bervariasi bergantung dengan tekanan darah, berat badan, asupan alkohol dan fungsi ginjal (Burns & Wortmann, 2014).

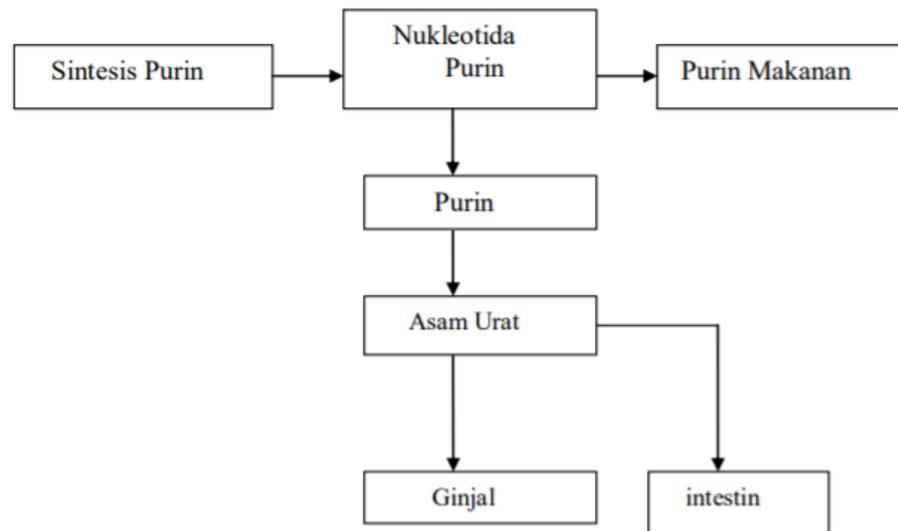
Kadar asam urat dalam aliran darah dapat berlebih atau kurang. Peningkatan kadar asam urat dapat dilihat seperti encok, gagal ginjal, penghancuran sejumlah besar nukleoprotein, obat-obatan (terutama diuretik, barbiturat), asidosis laktat, hipoterooidisme, penyakit ginjal kronis, penyakit paratiroid, diet (diet penurunan berat badan protein tinggi, alkohol, hati dan roti manis), sindrom down, sarkoidosis, sindrom *Lesch-Nyhan*, penyakit *Von Gierke* dan *Beriliosis* kronis. Sedangkan penurunan kadar asam urat dapat dilihat seperti obat-obatan seperti obat urikosurik (salisilat, probenesid, Allopurinol), estrogen, fenotiazin, indometasin, kortikotropin, sindrom sekresi hormon antidiuretik yang tidak tepat (SIADH) dengan hiponatremia, *wilson disease*, sindrom fanconi, akromegali, penyakit celiac, xantinuria (Williamson & Snyder, 2011) Kadar asam urat dipengaruhi oleh usia, jenis kelamin, fungsi ginjal, genetik, konsumsi alkohol, obesitas dan hipertensi (Wortmann, 2002).

#### **2.1.4. Ekskresi Asam Urat**

Purin dalam tubuh berlangsung secara kontinyu, purin yang tidak terpakai atau terlalu banyak maka akan diubah menjadi asam urat dalam jumlah besar. Rata-rata, tubuh mensintesis 300-600 mg/hari asam urat, yang diekskresikan melalui ginjal. Dua pertiga senyawa urat harus diekskresikan melalui sistem ginjal. Selanjutnya senyawa urat disaring oleh glomerulus dan diserap oleh tubulus kontortus proksimal. Jumlah sekresi dan reabsorpsi menentukan kadar asam urat darah. Sekitar 10% dari asam urat yang disaring glomerulus meninggalkan tubulus ginjal dan menjadi bagian dalam urin. Sepertiga lainnya diekskresikan melalui usus dan dimetabolisme oleh bakteri untuk membentuk karbondioksida dan amonia (Daly et al., 2009).

Sebanyak 75% asam nukleat diekskresikan oleh ginjal dan 25% oleh saluran pencernaan. Di dalam ginjal, asam urat melewati sepenuhnya melalui glomerulus, kemudian 98% direabsorpsi tubuli proksimal,

sekresi tubuli distal dan reabsorpsi lagi pada tubuli distal. Total ekskresi ginjal adalah 10% dari volume yang di saring (Mansjoer, 2008).



Gambar 2.3 Bagan Metabolisme Purin

Sumber: Mansjoer, 2008.

## 2.2. Hiperurisemia

### 2.2.1. Pengertian

Hiperurisemia adalah peningkatan kadar asam urat serum yang lebih tinggi dari nilai normal yaitu  $>7$  mg/dL pada pria dan  $>6$  mg/dL pada wanita. Hiperurisemia asimtomatik ditandai dengan kadar asam urat serum  $>6.8$  mg/dL. Asam urat merupakan asam dari hasil akhir metabolisme purin yang berbentuk kristal. Pada keadaan pH netral dan pada konsentrasi 6,8 mg/dL dalam serum, peningkatan konsentrasi natrium lokal, penurunan suhu dan pH dapat menurunkan kelarutan urat sehingga kristal dapat terbentuk secara spontan. Pada kondisi hiperurisemia, darah tidak mampu menyerap asam urat sehingga terjadi penumpukan kristal urat di berbagai organ seperti ginjal dan persendian (Misnadiarly, 2007). Asam urat di dalam tubuh dapat berasal dari luar (eksogen) yaitu dari makanan yang kaya purin dan dari dalam (endogen) yang merupakan produk akhir metabolisme purin. Asam urat erat

dikaitkan dengan makanan karena seringkali oleh pola makan yang tidak seimbang.

Hiperurisemia merupakan faktor risiko artritis gout. Artritis gout adalah suatu proses inflamasi (pembengkakan yang terjadi karena endapan) atau endapan kristal asam urat pada jaringan sekitar sendi atau tofi. Tahapan gout terdiri dari 4 fase yaitu tanpa gejala, gout akut, interkritikal, dan kronis (Ningtiyas & Ramadhian, 2016). Meskipun kadar asam urat serum merupakan faktor risiko untuk gout, namun peningkatan kadar asam urat serum tidak dapat mengonfirmasi atau menyangkal adanya gout karena banyak orang memiliki hiperurisemia namun tidak menderita gout. Selain itu, serangan gout serum yang parah lebih mungkin terjadi ketika kadar asam urat serum normal (Perhimpunan Reumatologi Indonesia, 2018).

### 2.2.2. Patofisiologi

Tubuh manusia menghasilkan sekitar 80–85% purin yang dihasilkan oleh tubuh dan sisanya berasal dari makanan yang dimakan. Kadar asam urat serum yang tinggi menyulitkan ginjal untuk mengeluarkan kelebihan asam urat di dalam tubuh yang dapat mengakibatkan penimbunan kristal asam urat di daerah persendian (Herliana, 2013). Setiap gangguan pada proses ekskresi dalam tubuh mengakibatkan penimbunan asam urat di dalam ginjal dan persendian (Daly *et al.*, 2009). Menurut Daly (2009), patofisiologi hiperurisemia dibagi menjadi 2, sebagai berikut.

#### a. Hiperurisemia primer

Hiperurisemia primer terdiri dari hiperurisemia dengan kelainan molekuler yang masih belum jelas penyebabnya dan hiperurisemia karena adanya kelainan enzimatik tertentu. Hiperurisemia primer paling banyak didapatkan dengan kelainan molekuler yang belum jelas, mencapai 90% yang terdiri dari 80-90% hiperurisemia *undrexion* dan 10-20% produksi berlebihan. Hiperurisemia primer karena enzim spesifik diperkirakan hanya 1%, yaitu peningkatan

aktivitas varian *phosphoribosyl pyrophosphate synthase* dan beberapa enzim dari *hypoxanthine phosphoribosyltransferase*. Hiperurisemia disebabkan oleh faktor genetik dan menyebabkan sekresi asam urat terganggu sehingga menyebabkan hiperurisemia. Kelainan yang menyebabkan gangguan ekskresi asam urat di urin masih belum jelas, kemungkinan adanya gangguan sekresi asam urat di tubulus ginjal (Daly *et al.*, 2009).

b. Hiperurisemia sekunder

Hiperurisemia sekunder dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu gangguan yang menyebabkan peningkatan biosintesis *de novo* yang menyebabkan peningkatan degradasi ATP atau pemecahan asam nukleat dan penurunan ekskresi. Hiperurisemia sekunder terjadi karena peningkatan biosintesis *de novo* yang terjadi karena defisiensi enzim HPRT pada sindrom *Lesch-Nyhan*, defisiensi enzim glukosa-6-fosfat pada *Von Gierke* dan defisiensi enzim aldolase fruktosa-1-fosfat (Daly *et al.*, 2009).

Peningkatan kadar asam urat dalam tubuh menyebabkan penimbunan asam urat di jaringan yang kemudian membentuk kristal urat dengan ujung runcing seperti jarum. Kondisi tersebut memicu respon peradangan dan diikuti dengan timbulnya serangan gout. Kumpulan kristal urat menyebabkan kerusakan parah pada sendi dan jaringan lunak (Kertia, 2009).

### 2.2.3. Etiologi

Terjadinya hiperurisemia disebabkan oleh: (Dincer *et al.*, 2002; Lohr, 2020)

1. Peningkatan produksi asam urat

Penyebabnya ialah idiopatik, penggunaan purin yang berlebihan, overaktivitas enzim *5'-phosphoribosyl-1'-pyrophosphate (PRPP) sintetase*, defisiensi sebagian atau komplet enzim *hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase (HGPRT)*, overaktivitas enzim

*5'-phosphoribosyl-1'-pyrophosphate (PRPP) sintetase*, peningkatan *turnover* asam nukleat, *glycogenoses (glycogen storage disease)* dan *tumor lysis syndrome*.

## 2. Penurunan ekskresi asam urat

Penyebabnya antara lain obat-obatan, penurunan fungsi ginjal, asidosis metabolik (ketoasidosis atau laktat asidosis), sindroma X, dehidrasi, hiperparatiroid, hipotiroid, diuretik, hipertensi, preeklampsia dan eklampsia serta intoksikasi timah hitam (Pb).

## 3. Kombinasi keduanya seperti alkoholik

Penyebabnya antara lain defisiensi *fruktosa-1-fosfat aldolase*, defisiensi *glukosa-6-fosfatase*, minuman ringan berpemanis fruktosa, olahraga berlebihan menyebabkan peningkatan kerusakan jaringan.

Hiperurisemia dapat disebabkan oleh dua faktor utama, yaitu sintesis asam urat yang berlebihan yang menyebabkan peningkatan produksi asam urat dalam tubuh dan penurunan ekskresi asam urat di tubulus distal ginjal. Asam urat umum terjadi pada orang dewasa, dimulai pada usia 35- 60 tahun. Secara umum, asam urat sangat diatur dan dipengaruhi oleh gaya hidup (*life style*) (Simarmata *et al.*, 2012). Kadar asam urat serum tergantung pada purin makanan, degradasi purin endogen serta ekskresi urat ginjal dan usus. Faktor dominan yang berkontribusi terhadap hiperurisemia adalah kurangnya ekskresi urat (Choi *et al.*, 2005). Penggunaan obat-obatan seperti pirazinamid, siklosporin, aspirin dosis rendah, diuretik, dan etambutol dapat menurunkan ekskresi asam urat serta asupan makanan yang mengandung purin secara berlebihan seperti jeroan, daging, kerang, kacang-kacangan, keju, dan kepiting dapat menyebabkan kadar asam urat meningkat dalam tubuh. (Yunita *et al.*, 2018). Penyakit terkait seperti hipertensi, *Chronic Kidney Disease (CKD)*, *heart failure*, diabetes mellitus tipe II, *diabetic nephropathy*, nefrolitiasis atau urolitiasis dan *Benign Prostatic Hyperplasia (BPH)* juga dapat meningkatkan kadar asam urat dalam darah ( Feig *et al.*, 2008; Bonakdaran *et al.*, 2011).

Makan lebih banyak purin meningkatkan kadar asam urat dalam darah. Sebagai senyawa awal, purin menghasilkan asam urat dari tiga sumber utama, yaitu diet tinggi purin, konversi jaringan asam nukleat menjadi nukleotida purin dan sintesis *de novo* basa purin. Dalam kondisi normal, asam terakumulasi secara berlebihan jika produksi asam urat melebihi pengeluarannya (DiPiro *et al.*, 2017).

Ada beberapa faktor yang menyebabkan meningkatnya kadar asam urat dalam tubuh, antara lain (Noviyanti & Ola, 2015):

a. Usia

Orang yang sudah lanjut usia rentan terkena penyakit. Enzim urikinase yang mengoksidasi asam urat mudah dikeluarkan dan menurun seiring bertambahnya usia. Jika pembentukan enzim ini terganggu maka kadar asam urat darah akan meningkat.

b. Jenis kelamin

Pada umumnya pria yang paling sering terserang asam urat karena secara alami pria memiliki kadar asam urat darah yang lebih tinggi dibandingkan wanita. Terlepas dari perbedaan kadar asam urat, penyebab paling umum serangan asam urat pada wanita lebih jarang adalah adanya hormon yang disebut estrogen, yang membantu mengeluarkan asam urat melalui urin.

c. Faktor genetik (keturunan)

Salah satu faktor risiko penyakit asam urat adalah faktor keturunan atau hereditas. Asam urat tergolong penyakit multifaktorial yang mirip dengan diabetes melitus atau penyakit jantung, yang melibatkan faktor genetik (keturunan) dan lingkungan.

d. Asupan makanan

Asupan makanan dan asam urat berhubungan dengan asupan purin (makanan rendah purin dan tinggi purin). Secara signifikan, pola makan yang tidak sehat dapat berisiko menjadi terserang asam urat.

Makanan tinggi purin menyebabkan produksi asam urat berlebih sehingga menyebabkan hiperurisemia.

e. Minuman ringan (*Softdrink*)

Menurut sebuah studi baru, konsumsi minuman ringan terutama pemanis di dalamnya dapat mempengaruhi kadar asam urat dalam darah. Kandungan fruktosa dalam minuman ringan dikaitkan dengan risiko penyakit asam urat. Fruktosa menghambat ekskresi asam urat sehingga menyebabkan akumulasi asam urat dalam darah.

f. Aktivitas fisik

Terlalu sedikit aktivitas fisik menyebabkan kondisi sindrom metabolik dan menyebabkan resistensi insulin yang dapat mengganggu proses ekskresi asam urat. Akibatnya, kadar asam urat meningkat karena ginjal tidak dapat mengeluarkan asam urat melalui urin.

g. Obesitas (Kegemukan)

Obesitas merupakan salah satu faktor risiko penyakit asam urat. Sebuah hasil penelitian menunjukkan bahwa orang yang mengalami obesitas memiliki kecenderungan lebih tinggi terkena hiperurisemia. Banyak penelitian menunjukkan bahwa orang yang kelebihan berat badan sering mengonsumsi protein secara berlebihan, meski tidak selalu. Obesitas memicu peningkatan asam urat melalui pola makan yang tidak seimbang. Asupan makanan protein, lemak, dan karbohidrat yang tidak seimbang menyebabkan asam urat atau protein purin menumpuk melebihi kadar normal.

h. Tekanan darah

Hiperurisemia lebih sering terjadi pada pasien hipertensi. Hipertensi berakhir dengan penyakit mikrovaskuler yang mengakibatkan iskemia jaringan yang dapat meningkatkan sintesis asam urat dengan mendegradasi ATP adenin. Hiperurisemia kronis dapat menyebabkan penyakit ginjal kronis dengan perubahan tubulus. Sejumlah penelitian juga menunjukkan hubungan antara asam urat dan hipertensi, penyakit kardiovaskular, penyakit ginjal dan obesitas.

i. Obat-obatan tertentu

Penggunaan obat-obatan seperti pirazinamid, siklosporin, aspirin dosis rendah, diuretik dan etambutol dapat menurunkan ekskresi asam urat.

j. Alkohol

Alkohol merangsang enzim tertentu di hati untuk memecah protein dan menghasilkan lebih banyak asam urat. Alkohol dapat meningkatkan kadar asam laktat plasma. Asam laktat ini mencegah ekskresi asam urat dari tubuh. Terganggunya ekskresi asam urat oleh tubuh menyebabkan akumulasi zat-zat tersebut.

k. Gangguan fungsi ginjal

Gangguan fungsi ginjal membuat ginjal tidak mampu mengeluarkan asam urat sehingga meningkatkan kadar asam urat dalam darah dan akan menyebabkan hiperurisemia.

#### **2.2.4. Manifestasi Klinik**

Umumnya hiperurisemia tidak menimbulkan gejala. Hiperurisemia akan diketahui apabila ada penyakit penyerta seperti asam urat, batu asam urat, atau nefropati asam urat. Oleh karena itu, hiperurisemia dibagi menjadi 2 golongan, yaitu hiperurisemia asimtomatik atau hiperurisemia tanpa gejala dan hiperurisemia simtomatik atau hiperurisemia dengan gejala. Kebanyakan pasien dengan hiperurisemia asimtomatik tidak pernah mengalami gout atau batu. Sedangkan skenario klinis dimana hiperurisemia dapat bergejala adalah asam urat (gout), batu asam urat (batu ginjal) atau nefropati asam urat (gagal ginjal). Gejala asam urat termasuk nyeri tiba-tiba pada persendian. Sulit berjalan karena nyeri terutama pada malam hari, bengkak, rasa terbakar dan kemerahan pada kulit sendi. Gejala yang ditimbulkan pada batu ginjal yaitu sering buang air kecil namun urin yang keluar sedikit bahkan tidak ada yang diiringi dengan rasa sakit saat buang air kecil. Sedangkan manifestasi nefropati asam urat yaitu mual-muntah, gatal-gatal, tubuh terlihat pucat dan terasa lemas, beberapa bagian tubuh bengkak serta sesak nafas (Lohr, 2020).

### 2.2.5. Pemeriksaan kadar asam urat darah

Metode pemeriksaan asam urat di laboratorium dapat dilakukan dengan menggunakan 2 metode yaitu (Jardewi, 2017):

#### 1. Metode stik

Pengujian kadar asam urat dengan metode stik dapat dilakukan dengan menggunakan alat *Nesco Multicheck*. Prinsip pengujian adalah strip asam urat darah (*blood uric acid strips*) menggunakan katalis yang dikombinasikan dengan teknologi biosensor yang khusus untuk pengukuran asam urat. Ketika darah diteteskan di zona reaksi strip, strip tes dirancang sedemikian rupa sehingga katalis asam urat memicu oksidasi asam urat dalam darah. Intensitas elektron yang terbentuk diukur dengan sensor *Nesco Multicheck* dan sebanding dengan konsentrasi asam urat dalam darah. Nilai acuan menggunakan metode stik pria 3,5-7,2 mg/dL dan wanita 2,6-6,0 mg/dL. Pengujian kadar asam urat dengan metode stik memiliki keuntungan yaitu menggunakan lebih sedikit darah karena darah yang digunakan adalah darah kapiler yang diambil dari ujung jari pasien dengan waktu pengujian yang relatif cepat.

#### 2. Metode enzimatik

Prinsip pemeriksaan kadar asam urat dengan metode enzimatik adalah *uricase* yang menguraikan asam urat menjadi allantoin dan hidrogen peroksida. Selanjutnya terbentuknya *quinoneimine* berwarna merah dengan adanya enzim *peroksidase*, *peroksida*, *Toos* dan *4-aminophenazone*. Intensitas warna yang terbentuk sebanding dengan konsentrasi asam urat. Nilai acuan untuk penggunaan metode enzimatik untuk pria: 3,4-7,0 mg/dL dan untuk wanita: 2,4-5,7 mg/dL. Pengukuran kadar asam urat menggunakan metode enzimatik ini menggunakan pengambilan sampel darah vena dan membutuhkan alat bantu yang lebih banyak serta waktu pengujian yang lebih lama dibandingkan dengan metode stik.

Ada beberapa faktor yang mempengaruhi hasil tes asam urat dalam darah. Hasil laboratorium asam urat yang akurat dapat diperoleh dengan mengamati hal-hal berikut (Jardewi, 2017).

1. Pre-analitik, meliputi persiapan pasien, metode pengambilan sampel yang digunakan, jenis sampel yang digunakan serta persiapan alat dan reagen untuk pemeriksaan.
2. Analitik yaitu pengujian (analisis) yang handal, proses pengelolaan sampel serta metode dan proses pemeriksaan laboratorium.
3. Pasca analitik yaitu proses pelaporan hasil pengujian. Dalam pelaporan hasil perlu diperhatikan identitas pasien (usia dan jenis kelamin) karena mempengaruhi interpretasi kadar asam urat.

#### **2.2.6. Komplikasi**

Kemungkinan komplikasi hiperurisemia meliputi encok, nefrolitiasis asam urat, nefropati asam urat akut, penyakit ginjal kronis (Li *et al.*, 2014). Hiperurisemia kronis dapat merusak jaringan lunak, sendi, dan ginjal. Asam urat diangkut dari darah ke ginjal dan asam urat akan mempengaruhi fungsi ginjal dan mempengaruhi filtrasi *renal*, absorpsi dan ekskresi. Setiap gangguan pada proses ekskresi dalam tubuh menyebabkan penimbunan asam urat di ginjal dan persendian (Daly *et al.*, 2009). Ketika asam urat, produk akhir metabolisme purin, mencapai batas fisiologis kelarutannya, monosodium urat dalam jaringan dapat berubah menjadi kristal dan dapat menyebabkan kristal menumpuk di persendian sehingga menyebabkan asam urat. Dalam praktiknya, hiperurisemia dapat menyebabkan arthritis pirai, nefropati asam urat, tofee dan nefrolitiasis (Gustafsson & Unwin, 2013).

Asam urat tinggi yang bertahan lama di dalam tubuh berpotensi menimbulkan komplikasi. Menurut Novianti dan Ola (2015), komplikasi penyakit asam urat antara lain:

a. Komplikasi pada ginjal

Secara umum, gangguan ginjal akibat asam urat melibatkan dua hal, yaitu risiko batu ginjal dan risiko kerusakan ginjal. Batu ginjal terbentuk ketika urin mengandung zat kristal seperti kalsium oksalat dan asam urat. Pada saat yang sama, urin kekurangan substansi yang mencegah kristal menyatu sehingga menjadikan batu ginjal terbentuk.

b. Komplikasi pada hipertensi

Hipertensi terjadi karena asam urat menyebabkan pembuluh darah ginjal vasokonstriksi sehingga terjadi aktivasi sistemik akibat penurunan enzim oksidase nitrat di endotel kapiler. Disfungsi aktivitas renin dan endotel dikaitkan dengan peningkatan asam urat pada manusia.

c. Komplikasi pada jantung

Kelebihan asam urat dalam tubuh dapat menyebabkan serangan jantung dan stroke. Kaitan antara asam urat dan penyakit jantung yaitu endotel atau pembuluh darah koroner dapat rusak karena adanya kristal asam urat.

d. Komplikasi pada diabetes mellitus

Peningkatan kadar asam urat dalam darah juga berisiko terkena diabetes mellitus. Dalam penelitian Ishwar (2011), kadar asam urat yang tinggi dalam darah berkaitan dengan peningkatan faktor risiko diabetes sekitar 20%. Kadar asam urat yang tidak terkontrol juga ditemukan 19% lebih tinggi pada penderita diabetes.

Saat ini hiperurisemia banyak dikaitkan dengan hipertensi, hipertensi pulmonal, penyakit kardiovaskular, penyakit serebrovaskular, penyakit ginjal, diabetes mellitus, kadar trigliserida, dan *autism*. Secara klinis hiperurisemia mempunyai arti penting karena dapat menyebabkan nefrolitis, asam urat nefropati, *toffee*, dan *gout arthritis* (Manampiring, 2013). Balakumar *et al.*, (2009) menyatakan dalam penelitiannya bahwa hiperurisemia merupakan faktor risiko patogenesis disfungsi endotel

vaskular serta keterlibatan mekanisme *signaling* yang mempengaruhi patogenesis tersebut.

### 2.2.7. Penatalaksanaan

Tujuan terapi hiperurisemia adalah untuk menurunkan kadar asam urat total dalam tubuh. Kadar asam urat serum harus dipertahankan di bawah 6,5 mg/dL (Dincer *et al.*, 2002).

#### 1. Terapi non-farmakologi

Terapi ini dilakukan dengan modifikasi gaya hidup dilakukan dengan pasien yang disarankan untuk menurunkan berat badan jika obesitas dan mengurangi asupan alkohol serta makanan tinggi purin (Dincer *et al.*, 2002). Terapi non-farmakologi hiperurisemia yang sering disarankan yaitu diet purin. Diet bagi penderita asam urat bertujuan untuk menurunkan kadar asam urat darah dan mempertahankan status gizi yang optimal. Penderita asam urat yang memiliki kadar asam urat di atas 7,5 mg/dL diberi makan rendah purin yang merupakan bagian dari protein, yang berarti mengurangi asupan protein (Noviyanti & Ola, 2015). Penggunaan diet rendah purin dapat membantu menurunkan kadar asam urat dalam darah secara signifikan. Ada beberapa makanan tinggi purin harus dihindari seperti daging, unggas, ikan, makanan laut, daging, alkohol dan kacang-kacangan (Mena-Sánchez *et al.*, 2020). Untuk aktivitas fisik, Tidak ada batasan aktivitas untuk pasien dengan hiperurisemia karena tidak meningkatkan kadar asam urat serum (Lohr, 2020).

#### 2. Farmakoterapi

Farmakoterapi pada hiperurisemia berdasarkan pada *overproducer* atau *undersecretion* asam urat. Terapi penurunan kadar asam urat sering dimulai dengan inhibitor XO seperti Allopurinol atau Febuxostat, tetapi jumlah pasien yang mencapai kadar urat serum <6 mg/dL (<0,35 mmol/L) berada dalam kisaran 20-40% untuk Allopurinol dan 45-67% untuk Febuxostat menunjukkan perlunya terapi tambahan

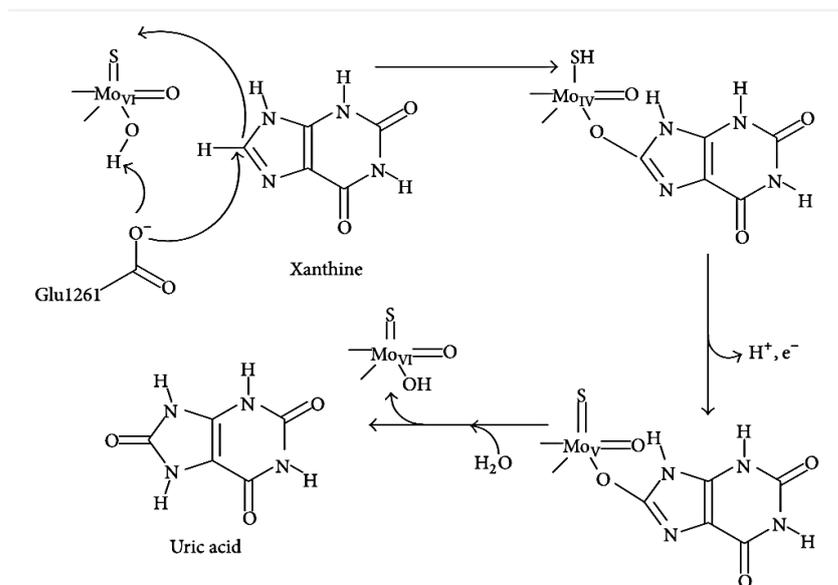
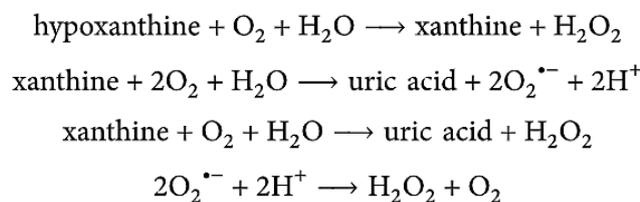
(Becker *et al.*, 2010). Meskipun demikian, Allopurinol adalah dasar pengobatan utama untuk pasien yang *overproducer*. Febuxostat adalah inhibitor XO selektif yang tidak perlu dikurangi dosis pemakaiannya pada pasien dengan gangguan ginjal.

Inhibitor XO digunakan untuk mengurangi konsentrasi asam urat serum pada pasien gout. Allopurinol dan Febuxostat adalah inhibitor XO dan mengurangi pembentukan asam urat. XO Inhibitor Allopurinol banyak digunakan untuk mengatur kadar asam urat dan mampu secara signifikan menurunkan asam urat dalam serum darah. Selain itu, banyak klinisi merekomendasikan Allopurinol untuk manajemen terapeutik jangka panjang asam urat pada pasien. Allopurinol sebagai agen penurun asam urat adalah pengobatan lini pertama. Namun, mengonsumsi makanan kaya purin maupun penggunaan obat lain yang memicu hiperurisemia dapat menyebabkan Allopurinol gagal menurunkan kadar asam urat (Khanna *et al.*, 2012). Oleh karena itu, berdasarkan penelitian yang ada, pasien harus mengontrol kadar asam uratnya tidak hanya dengan minum obat Allopurinol tetapi juga dengan diet rendah purin (Goicoechea *et al.*, 2010).

Allopurinol adalah inhibitor XO dan mencegah hipoksantin mengubah xantin dan xantin menjadi asam urat. Allopurinol juga mengurangi konsentrasi PRPP intraseluler. Karena waktu paruh metabolitnya yang panjang, Allopurinol dapat diberikan secara oral sekali sehari. Biasanya dimulai dengan dosis 100 mg/hari dan ditingkatkan 300 mg/hari dengan interval 1 minggu untuk mencapai asam urat serum 6 mg/dL atau kurang. Kadar serum dapat diperiksa 1 minggu setelah memulai pengobatan atau memodifikasi dosis. Meskipun dosis normal adalah 100-300 mg/hari, terkadang diperlukan dosis 600- 800 mg/hari. Namun dosis harus dikurangi pada pasien dengan insufisiensi ginjal (Berryman, 2000).

### 2.3. Xantine Oksidase

Xantine oksidase adalah homodimer dengan massa molekul 290 kDa. Xantine oksidase merupakan keluarga molibdenum-protein yang mengandung satu molibdenum, salah satu *flavin adenine dinucleotides* (FAD) dan dua pusat besi-sulfur (2Fe-2S) dari jenis ferredoxin di masing-masing dari dua subunit independennya. Enzim ini mengandung dua situs pengikatan substrat yang terpisah. XO mengkatalisis oksidasi hipoksantin menjadi xantin dan kemudian menjadi asam urat. Selama reoksidasi XO, molekul oksigen bertindak sebagai akseptor elektron, menghasilkan radikal superoksida dan hidrogen peroksida. Selama reaksi ini, radikal anion superoksida ( $O_2^{\bullet -}$ ) dan  $H_2O_2$  terbentuk. Radikal anion superoksida berubah menjadi hidrogen peroksida dan oksigen secara spontan atau di bawah pengaruh enzim superoksida dismutase (SOD). Reaksi ini dapat ditulis sebagai berikut (Kostić *et al.*, 2015).



Gambar 2.4 Transformasi xanthine menjadi asam urat oleh XO

Sumber: Kostić *et al.*, 2015.

XO merupakan enzim kunci dalam metabolisme purin, didistribusikan secara luas di jaringan hati dan ginjal. XO tidak hanya mengkatalisis hipoksantin menjadi xantin dan kemudian menjadi asam urat, tetapi juga secara langsung mengkatalisis xantin menjadi asam urat (Wang *et al.*, 2015). Proses katalitik ini disertai dengan pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS), seperti anion superoksida dan hidrogen peroksida (Kumar *et al.*, 2014). Kelebihan produksi atau kekurangan ekskresi asam urat dapat menyebabkan hiperurisemia yang merupakan penyebab utama gout. Hal ini juga terkait dengan perkembangan hipertensi, hiperlipidemia, diabetes, obesitas dan kanker (J. Yan *et al.*, 2013). Dengan demikian, penghambatan aktivitas XO telah dianggap sebagai salah satu target yang paling menjanjikan untuk mengendalikan kadar asam urat serta mengobati hiperurisemia dan gout (B-Rao *et al.*, 2012). Pengujian penghambatan XO penting untuk mendeteksi senyawa yang berpotensi efektif yang dapat digunakan untuk mengobati penyakit yang disebabkan oleh peningkatan aktivitas XO seperti pengobatan asam urat (Kostić *et al.*, 2015). Penghambatan XO mengurangi stres oksidatif vaskular dan kadar asam urat. Pengobatan untuk hiperurisemia adalah meningkatkan ekskresi asam urat atau mengurangi produksi asam urat yang mana inhibitor XO sangat berguna untuk itu. Inhibitor XO adalah agen yang secara langsung menghambat sintesis asam urat (Kostić *et al.*, 2015).

## 2.4. Tanaman Putri Malu (*Mimosa pudica* L.)

### 2.4.1. Taksonomi Tanaman Putri Malu



Gambar 2.5 Tanaman Putri Malu

Sumber: Dokumentasi pribadi

Tanaman putri malu biasa disebut *sensitive plant* memiliki nama latin *Mimosa pudica L.* yang juga memiliki sinonim nama latin lainnya yaitu *Mimosa asperata blanco.* *Mimosa* berasal dari bahasa Yunani *mimikos* yang memiliki arti palsu atau meniru dan nama spesies *pudica* berasal dari bahasan Latin yang memiliki arti malu atau sederhana (Parsons & Cuthbertson, 1992). Tumbuhan putri malu memiliki nama yang berbeda-beda di berbagai daerah di Indonesia, diantaranya:

Indonesia	: Putri Malu
Batak	: Sihirput, Sikerput
Bali	: Padang Getap
Manado	: Daun Kaget-Kaget
Minangkabau	: Rebah Bangun
Jawa	: Kucingan
Sunda	: Rondo Kagit
Madura	: Todusan

Klasifikasi Tanaman Putri Malu (ITIS, 2021) :

Kerajaan	: <i>Plantae</i>
Subkerajaan	: <i>Viridiplantae</i>
Infrakerajaan	: <i>Streptophyta</i>
Superdivisi	: <i>Embryophyta</i>
Divisi	: <i>Tracheophyta</i>
Subdivisi	: <i>Spermatophytina</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Superbangsa	: <i>Rosanae</i>
Bangsa	: <i>Fabales</i>
Suku	: <i>Fabaceae</i>
Marga	: <i>Mimosa L.</i>
Jenis	: <i>Mimosa pudica L.</i>

#### 2.4.2. Morfologi Tanaman Putri Malu

Putri malu (*Mimosa pudica* Linn) merupakan jenis tumbuhan dengan komponen lengkap terdiri dari daun, batang, bunga, buah dan akar. Berikut ini penjelasan mengenai komponen tumbuhan:

##### 1. Daun

Tumbuhan putri malu memiliki daun menyirip bertepi rata, kecil-kecil bersusun majemuk dengan bentuk lonjong berujung lancip, letak daunnya sejajar bersebrangan dengan jumlah daun per sirip 5-26 pasang. Warna daun bagian atasnya hijau atau kemerah-merahan dan bawahnya berwarna pucat. Tepi daunnya rata dan permukaan atas bawahnya halus dengan panjang daun 6-16 mm dan lebar 1-3 mm serta terdapat duri duri kecil pada tangkai daunnya. Ciri khas daun tanaman putri malu yaitu respon menutup terhadap rangsangan sentuh pada daun (Dalimartha, 2000; Haq, 2009).

##### 2. Batang

Tanaman putri malu memiliki batang silindris yang jika tua berwarna merah dan jika muda berwarna hijau, berbulu halus putih dengan panjang bulu  $\pm 2$  mm, bulu halus beralur dalam pola memanjang berwarna coklat muda di permukaan luar dan abu-abu di permukaan dalam dan berduri dengan diameter batang hingga 2,5 cm. Batang ini juga memiliki kulit yang mudah dipisahkan dari kayunya (Dalimartha, 2000; Ahmad *et al.*, 2012).

##### 3. Akar

Tumbuhan Putri Malu mempunyai akar tunggal dengan diameter  $>5$  mm berwarna putih kekuningan. Akar tanaman ini memiliki permukaan yang kasar dan berkerut memanjang berwarna coklat keabuan hingga dominan coklat. Struktur akarnya keras dan berkayu serta memiliki sedikit bau. Jika di cium, akar *mimosa* memiliki bau seperti buah jengkol (Dalimartha, 2000; Ahmad *et al.*, 2012).

##### 4. Bunga

Bunga putri malu berbentuk bulat seperti bola. Warnanya merah muda dan bertangkai. Bunganya berambut dan polennya berada di

ujung rambut. Putik berwarna kuning. Tangkai bunga berbulu halus. Kelopaknya kecil dan memiliki daun mahkota berwarna merah muda. Bunga pada tanaman ini tersusun atas 4 lobus dengan jumlah benangsari 4 serta memiliki ovula dengan jumlah yang banyak. Pada saat matahari tenggelam, bunga akan menutup seakan telah layu tapi jika matahari terbit keesokan paginya, bunga itu akan kembali mekar (Dalimartha, 2000; Ahmad *et al.*, 2012).

#### 5. Buah

Tanaman putri malu memiliki buah berwarna hijau, dengan bentuk lomentum, kering sederhana, berbulu halus merah, panjangnya 1-1,6 cm dan lebarnya 0,4-0,5 cm. Tangkai buah berbulu serupa dengan buah dengan panjang 3-4 cm dan berdiameter 1-2 mm. Terdapat 10-20 buah pada 1 tangkai dengan pangkal melekat pada ujung tangkai. Setiap buah memiliki 3 biji dan ketika telah masak buah akan meletup sehingga bijinya akan terlempar ke segala arah dan akan menjadi tunas baru (Dalimartha, 2000; Ahmad *et al.*, 2012).

#### 2.4.3. Kandungan Kimia Tanaman Putri Malu

Mimosin [asam  $\beta$ -[N-(3-hidroksi-4-oksipiridil)]- $\alpha$ -amino-propionat] ialah senyawa utama yang terdapat pada semua bagian tanaman *Mimosaceae* dan merupakan asam amino non-protein. Daun dan batang tanaman memiliki telah dilaporkan mengandung mimosin (Parmar *et al.*, 2015). Berdasarkan penelitian terdahulu, disebutkan tanaman Putri Malu (*M. pudica* L.) mengandung alkaloid yang tinggi, protein, asam amino, tanin, fenolat, flavonoid, steroid dan saponin (Pal *et al.*, 2015; Ranjani *et al.*, 2021). Sedangkan pada bagian bunga, senyawa yang terkandung antara lain tanin, fenol, saponin, steroid, dan flavonoid (Ranjani *et al.*, 2021). Sedangkan pada daun mengandung senyawa terpenoid, alkaloid, flavonoid, alkaloid, glikosida, fenol, saponin, tanin, dan kumarin (Sule, 2017). Dan pada bagian akar mengandung Tanin dan protein (Ranjan *et al.*, 2013).

## 2.5. Senyawa Metabolit Sekunder

Metabolit sekunder mengandung sangat sedikit karbon, nitrogen dan energi juga digunakan untuk mensintesis molekul organik yang tidak memiliki peran langsung dalam pertumbuhan dan perkembangan. Metabolit sekunder pada tumbuhan umumnya sangat spesifik dari segi fungsi dan tidak terlalu penting karena tidak menyebabkan kematian jika tidak diproduksi dalam jangka pendek. Biosintesis metabolit sekunder dapat terjadi pada semua organ tumbuhan, termasuk di akar, pucuk, daun bunga, buah, dan biji. Beberapa metabolit disimpan dalam organ atau tipe sel yang terspesialisasi. Konsentrasi metabolit sekunder beracun di bagian ini sangat tinggi, menjadikannya pertahanan yang efektif melawan herbivora (Anggraito *et al.*, 2018).

Klasifikasi metabolit sekunder secara sederhana terdiri atas tiga kelompok utama, yaitu (Anggraito *et al.*, 2018):

1. Terpen (glikosida kardiak, volatil, sterol, dan karotenoid);
2. Fenolik (asam fenolat, lignan, kumarin, stilbena, tanin, flavonoid, dan lignin); dan
3. Senyawa mengandung nitrogen (glukosinolat dan alkaloid).

Dengan berkembangnya ilmu pengetahuan dan teknologi, manusia menggunakan metabolit sekunder dalam berbagai bidang kehidupan, mulai dari kesehatan, pertanian, pangan dan sejenisnya. Sampai saat ini, puluhan ribu metabolit sekunder telah diisolasi dan dikarakterisasi, banyak di antaranya telah diperdagangkan (Anggraito *et al.*, 2018). Pada dunia kesehatan, metabolit sekunder sangat banyak diuji aktivitasnya untuk pengembangan senyawa obat baru dan pengembangan obat herbal. Berikut adalah beberapa golongan senyawa metabolit sekunder:

### 1. Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu kelompok metabolit sekunder yang paling umum ditemukan dalam jaringan tanaman dan termasuk dalam golongan senyawa fenolik dengan struktur kimia C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>. Kerangka flavonoid mengandung satu cincin aromatik A, satu cincin aromatik B dan cincin

tengah yang mengandung oksigen heterosiklik dan bentuk teroksidasi cincin ini dijadikan dasar pembagian flavonoid ke dalam sub-sub kelompoknya (Redha, 2010).

Flavonoid diklasifikasikan sebagai flavon, flavanon, flavonol, katekin, kalkon dan antosianin. Disintegrasi flavonoid didasarkan pada perbedaan struktur terutama pada gugus aromatik pusat yang menyebabkan aktivitas farmakologis yang berbeda pada substitusi karbon (Alfaridz & Amalia, 2018).

## 2. Alkaloid

Alkaloid merupakan metabolit sekunder yang paling melimpah yang mengandung atom nitrogen yang terdapat pada jaringan tumbuhan dan hewan. Biasanya alkaloid mengandung satu atau lebih unsur nitrogen, yang biasanya memiliki sistem cincin (siklik). Dalam reaksi asam-basa, atom nitrogen bertindak sebagai alkali (basa) dan bereaksi dengan asam membentuk garam (Ningrum et al., 2016).

Sebagian besar senyawa alkaloid terutama angiospermae berasal dari tumbuhan. Lebih dari 20% varietas angiospermae mengandung alkaloid. Alkaloid dapat ditemukan di berbagai bagian tumbuhan seperti biji, bunga, ranting daun, kulit batang, dan akar. Alkaloid biasanya harus dipisahkan dari campuran kompleks senyawa yang berasal dari jaringan tumbuhan karena ditemukan dalam konsentrasi kecil. Alkaloid bersifat basa sehingga dapat menjaga keseimbangan ion tumbuhan yang biasanya dijaga oleh basa mineral. Alkaloid pada tumbuhan berperan sebagai senyawa penyimpanan yang mampu mensuplai nitrogen dan unsur lain yang dibutuhkan oleh tumbuhan, faktor pertumbuhan dan sebagai toksin yang melindunginya dari serangga dan herbivora (Ningrum *et al.*, 2016).

Berdasarkan kerangka karbonnya, alkaloid diklasifikasikan sebagai berikut (Julianto, 2019):

1. Alkaloid sebenarnya (*True alkaloid*), misalnya *Atrophine*, *Nicotine*, *Morphine*.
2. Protoalkaloid, misalnya *Ephedrine*, *Mescaline*, *Adrenaline*.
3. Pseudoalkaloid, misalnya *Caffeine*, *Theobromine*, *Theophylline*.

### 3. Terpenoid

Struktur senyawa terpenoid adalah alil siklik, beberapa diantaranya merupakan senyawa tak jenuh dengan satu atau lebih ikatan rangkap. Akibatnya senyawa dapat dengan mudah mengalami reaksi adisi dengan hidrogen, halogen, asam dan lain-lain. Beberapa aditif memiliki sifat antiseptik. Terpenoid mudah teroksidasi oleh agen pengoksidasi serta mudah dipolimerisasi dan didehidrogenasi (Julianto, 2019).

Senyawa terpena merupakan kelompok senyawa organik hidrokarbon melimpah yang diproduksi oleh berbagai jenis tumbuhan. Senyawa ini biasanya berbau kuat dan dapat melindungi tumbuhan dari herbivora dan predator. Terpenoid juga merupakan bahan utama dalam minyak atsiri berbagai jenis tumbuhan dan bunga. Minyak atsiri banyak digunakan untuk wangi-wangian parfum dan digunakan dalam pengobatan seperti aromaterapi (Julianto, 2019).

## 2.6. Mekanisme Antihiperurisemia Tanaman

Flavonoid, alkaloid dan senyawa fenol diduga dapat menghambat kerja XO (Wahyuningsih, 2010). Flavonoid dan alkaloid merupakan golongan senyawa aktif yang dapat mencegah terjadinya hiperurisemia karena dapat menghambat aktivitas xantin oksidase dan superoksidase dalam pembentukan asam urat di dalam darah. Senyawa golongan flavonoid yang memiliki ikatan rangkap pada C-2 dan C-3 sering berperan sebagai inhibitor serta C-5 dan C-7 memiliki gugus hidroksil dan C-4 memiliki gugus karbonil dapat membentuk ikatan hidrogen dan berperan pada interaksi inhibitor dengan sisi aktif enzim xantin

oksidase sehingga flavon dan flavonol mudah menangkap elektron dari sisi aktif enzim xantin oksidase karena posisi gugus hidroksilnya serta memiliki daya inhibisi terbesar jika dibandingkan dengan golongan flavonoid lainnya (Lin *et al.*, 2002).

Senyawa aktif alkaloid dan triterpenoid juga diduga mampu untuk menghambat XO, namun masih belum diketahui mekanisme dalam menginhibisinya. Kolkisin juga merupakan jenis senyawa alkaloid yang mampu menghambat aktivitas xantin oksidase dalam menguraikan xantin dan hipoxantin menjadi asam urat dan juga bersifat antiinflamasi yang bekerja pada peradangan terhadap kristal urat dengan menghambat kemotaksis sel radang (Wajdie *et al.*, 2018).

Senyawa fenolik juga diduga memiliki aktivitas sebagai antihiperurisemia karena mampu menghambat kerja dari enzim xantin oksidase (Sonia *et al.*, 2020). Chen *et al.*, (2006) dalam penelitiannya juga menyebutkan saponin memiliki efek antihiperurisemia yang kuat pada hewan hiperurisemia dan mekanismenya mungkin relevan dalam mempercepat ekskresi dan menurunkan produksi asam urat.

## **2.7. *In silico***

Selama dekade terakhir telah terlihat bahwa metode komputasi (*in silico*) telah dikembangkan dan diterapkan pada pengembangan dan pengujian hipotesis farmakologi. Asal istilah *in silico* diambil dari perangkat computer yang biasa disebut chip dengan salah satu penyusun utamanya logam atau otak komputer yang terbuat dari *Silica* dengan lambang kimia Si (Mirza, 2019). *In silico* merupakan sebuah metode yang cara kerjanya memerlukan bantuan dari perangkat komputer yang kemudian terus berkembang hingga dapat dimanfaatkan secara luas salah satunya dalam bidang farmakologi. Metode *in silico* juga mencakup beberapa lingkup diantaranya adalah pengolahan data, pemakaian *database*, identifikasi kekerabatan, dan pemodelan serta penambatan molekuler. Metode *in silico* ini mencakup *database*, hubungan

struktur-aktivitas kuantitatif, farmakofor, model homologi dan pendekatan pemodelan molekul lainnya, pembelajaran mesin, penambangan data, alat analisis jaringan dan alat analisis data yang menggunakan komputer. Metode *in silico* terutama digunakan bersamaan dengan pembuatan data *in vitro* baik untuk membuat model maupun untuk mengujinya. Model tersebut telah sering digunakan dalam penemuan dan optimalisasi molekul baru dengan afinitas terhadap target, klarifikasi penyerapan, distribusi, metabolisme, ekskresi dan sifat toksisitas serta karakterisasi fisikokimia (Ekins *et al.*, 2007).

Metode *in silico* menjanjikan untuk mengurangi penggunaan hewan, melakukan analisis dengan efisiensi super dengan biaya rendah dan dikenal luas sebagai alat yang memungkinkan untuk mengungkap informasi baru dengan potensi sebagai bukti ilmiah untuk mendukung penilaian risiko (Valerio, 2014). Prinsip dasar dari metode pengujian *in silico* adalah dengan menempelkan ligan atau calon senyawa obat pada targetnya atau untuk mendapatkan sifat fisik dan kimia reseptor berupa makromolekul, dari yang baik sampai yang buruk. (Wadood *et al.*, 2013).

Metode *in silico* ini mencakup cakupan yang luas, termasuk diantaranya (Geldenhuys *et al.*, 2006):

1. Studi *docking*, di mana ligan atau obat dipelajari secara komputasi selama proses pengikatan ke protein target tertentu;
2. Kimiawi, di mana aktivitas dan struktur dikorelasikan dengan menggunakan data statistik; atau
3. Bioinformatika, di mana target obat diturunkan dari data genomik.

## 2.8. Penambatan Molekuler

Penambatan molekuler merupakan metode komputasi *in silico* yang paling sering digunakan untuk memprediksi interaksi antara dua molekul untuk menghasilkan model yang mengikat dengan cara menambatkan molekul obat dengan reseptornya. Reseptor merupakan sisi aktif obat yang berperan terhadap efektifitas farmakologis. Penambatan (*docking*) merupakan proses

mencocokkan dua molekul dengan menambatkannya di ruang 3 dimensi (Lelita *et al.*, 2017). Banyak aplikasi penemuan obat yang dapat melakukan penambatan mikromolekul dengan makromolekul seperti pengikatan protein-ligan. Saat ini *docking* juga dapat diterapkan untuk memprediksi mode pengikatan antar dua makromolekul seperti ikatan protein ke protein (Makatita *et al.*, 2020).

Tujuan utama penambatan molekuler yang akurat yaitu memahami dan memprediksi identifikasi molekuler serta dapat memangkas biaya, energi dan waktu yang dibutuhkan dibanding menggunakan metode konvensional. Proses komputasi mencari ligan yang menunjukkan kecocokan energi (memprediksi afinitas ikatan) dan kecocokan geometris (menemukan mode ikatan yang paling mungkin) (Yanuar, 2012).

Penambatan molekuler lebih fokus mempelajari tentang bagaimana dua atau lebih struktur molekul (misalnya obat dan protein) cocok bersama. Dalam definisi sederhana, penambatan molekuler adalah teknik pemodelan molekul yang digunakan untuk memprediksi bagaimana protein (enzim) berinteraksi dengan molekul kecil (ligan). Kemampuan protein (enzim) 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 penambatan molekuler terdiri atas beberapa tahap yang kompleks. Proses awal adalah penerapan *docking* algoritma dengan konformasi ligan harus berada dalam situs pengikatan target yang sesuai, maka ligan akan diposisikan oleh algoritma dengan konformasi dan urutan pencarian tertentu pada sisi aktif. 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. Tahap berikutnya dilakukan *scoring function* untuk melengkapi algoritma *docking*. *Scoring function* mengevaluasi konformasi dengan melakukan perhitungan berdasarkan sifat fisikokimia untuk mendapatkan struktur molekul yang optimal. Dari proses ini akan diperoleh energi ikatan bebas ( $\Delta G$ ) yang merupakan parameter stabilitas konformasi antara ligan-reseptor. Ligan-reseptor yang berinteraksi cenderung berada dalam keadaan energi paling rendah, menyebabkan molekul menjadi stabil, sehingga nilai  $\Delta G$  menjadi kecil dan interaksi ligan-reseptor semakin stabil. Interaksi molekul pada ligan reseptor mencakup interaksi elektrostatik, ikatan hidrofobik (terutama interaksi *Van der Waals*) dan ikatan hidrogen yang berkontribusi terhadap nilai energi ikatan bebas ( $\Delta G$ ) ligan-reseptor (Ferreira De Freitas & Schapira, 2017; Kumar & Kumar, 2019).

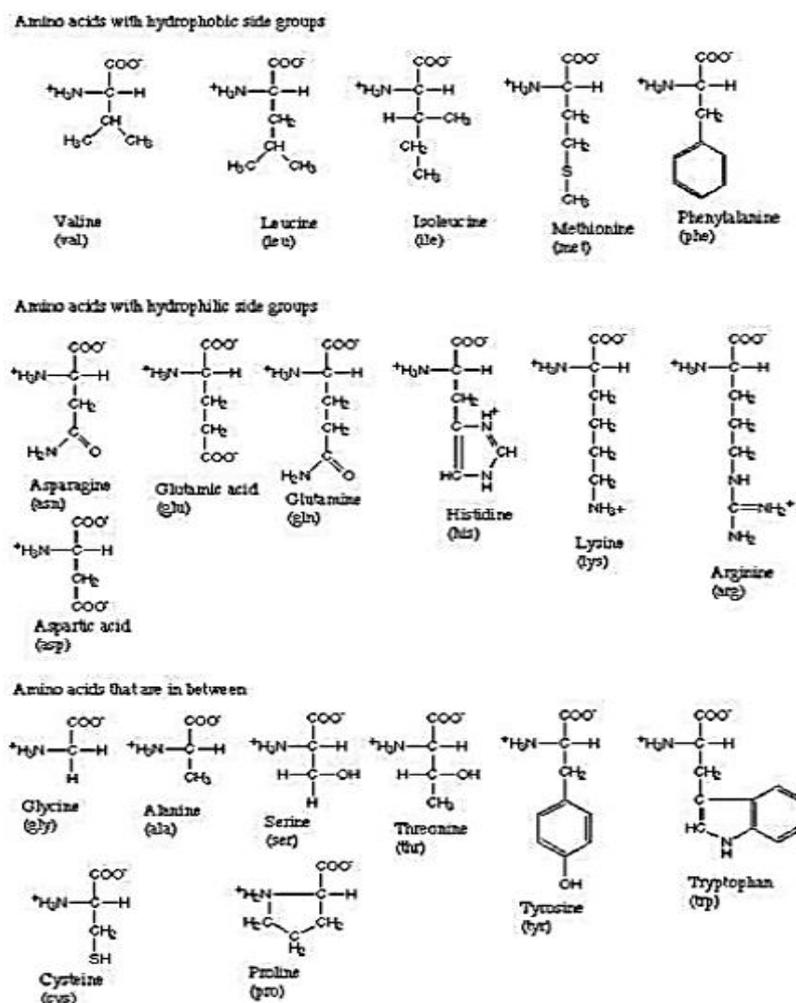
Terdapat beberapa parameter yang biasa dipakai untuk menilai kualitas hasil dari penambatan molekuler suatu ligand terhadap reseptor, diantaranya: *posing*, *scoring* dan *ranking*. Bahan yang digunakan untuk melakukan validasi ini pada umumnya adalah ligan yang terdapat di dalam struktur tiga dimensi 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 ligan dan struktur kristal (Yanuar, 2012).

## 2.9. Protein

Protein merupakan salah satu kelompok dari bahan makronutrisi yang dibandingkan dengan bahan lainnya (lemak dan karbohidrat) lebih berperan penting dalam pembentukan biomolekul daripada sebagai sumber energi dan merupakan makromolekul yang paling banyak (hampir setengah dari berat keringnya) di dalam sel. Selain mempunyai struktur C, H, O, dan S protein juga mengandung N dan juga merupakan peptide dengan berat molekul tinggi

yang terikat dengan polimer asam amino. Protein kompleks mengandung bahan tambahan seperti glikoprotein, protein heme dan lipoprotein sedangkan protein sederhana hanya mengandung asam amino (Wahjuni, 2014).

Pada dasarnya protein merupakan senyawa makromolekuler dengan bobot polipeptida tinggi yang tersusun oleh ikatan peptide yang terdiri dari ikatan beberapa asam amino (20-21 macam asam amino yang khas); Semua asam amino pembangun protein memiliki 1 gugus C primer yang berdampingan dengan salah satu gugus karboksi yang dikenal sebagai asam amino- $\alpha$  dengan sifat-sifat unik karena memiliki gugus R berbeda (Wahjuni, 2014).



Gambar 2.6 Jenis asam amino pembangun protein beserta struktur

Sumber: Wahjuni, 2014.

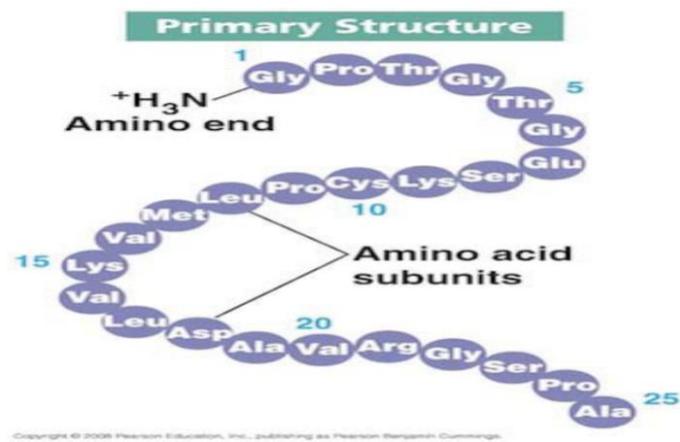
Pada protein, ikatan peptide menghubungkan asam amino satu sama lain menggunakan ikatan yang terbentuk dari gugus karboksil komponen asam amino dengan gugus amina asam amino. Asam amino yang diberi nama “residu aminoasi” dengan gugus  $\alpha$ -karboksilat yang terlihat saat pembentukan ikatan peptide nama dengan akhiran *-il* dengan menggantikan akhiran *-at* dan *-in* pada asam amino bebas, misalnya aspartil, alanil, tirosinil. Peptide yang diberi nama “devirat residu aminoasil” dengan gugus terminal karboksil yaitu tetrapeptida Lys-Leu-Tyr-Gln ini merupakan derivat glutamin dan disebut dengan lisil – leusil – tirosil – glutamin. Akhiran *-in* pada glutamin menunjukkan adanya  $\alpha$ -karboksilnya yang tidak terlibat dalam pembentukan ikatan peptida (Wahjuni, 2014).

Protein dapat diklasifikasikan menurut cara kerjanya, misalnya sebagai katalitik, protein struktural, atau protein transpor. Protein katalitik (Enzim) yang menyusun sebagian besar jenis protein, dipilih secara acak menurut cara kerjanya. Selain itu, itu dibagi lagi berdasarkan penyusun komposisi senyawanya yang dibedakan oleh protein sederhana serta protein ganda. Hidrolisis protein sederhana akan menghasilkan asam amino- $\alpha$ , sedangkan dari protein rangkap selain asam amino, ditemukan juga senyawa non-protein yang disebut gugus prostetik (Wahjuni, 2014).

Tingkatan struktur protein diklasifikasikan menjadi 4 yaitu:

### **2.9.1. Struktur Primer**

Struktur primer adalah residu asam amino sepanjang rantai polipeptida yang berstruktur linier dengan melibatkan ikatan peptide dan ikatan disulfida dari intra atau antra ranti polipeptida yang menjadi ikatan kovalen (Wahjuni, 2014).

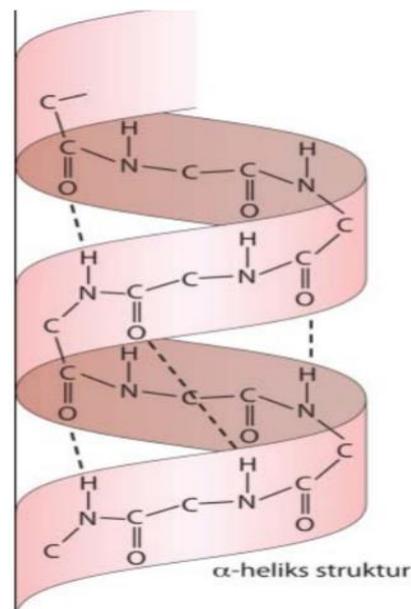


Gambar 2.7 Struktur primer protein (ikatan peptida)

Sumber: Murray, 2003

### 2.9.2. Struktur Sekunder

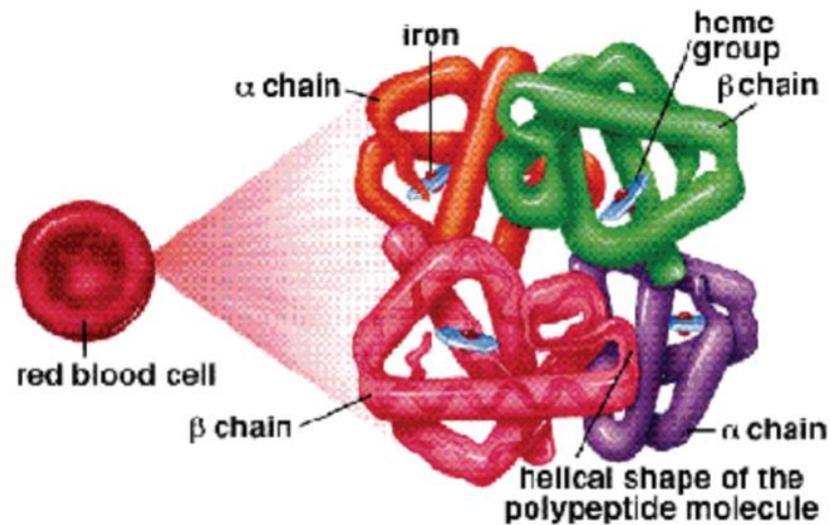
Struktur sekunder adalah struktur tiga dimensi dari pelipatan rantai peptide dari bagian-bagian rantai polipeptida yang membentuk struktur tertentu beraturan seperti  $\alpha$ -heliks dengan melibatkan ikatan-ikatan hidrogen dari gugus polar pada residu asam amino dan pembentukan ikatan kovalen antar, ikatan diisulfida dari sistein dan asam amino (Wahjuni, 2014).



Gambar 2.8 Struktur sekunder protein yang merupakan ikatan alfa-heliks

Sumber: Wahjuni, 2014





Gambar 2.10 Struktur Kuartern (4 unit polipeptida, makromolekul hemaglobin)

Sumber: Devlin, 2007

## 2.10. Interaksi Protein Ligan

### 2.10.1. Interaksi Ikatan Hidrogen

Atom hidrogen bermuatan positif sebagian yang terikat pada atom sangat elektronegatif (nitrogen, oksigen, fluor) dan atom elektronegatif lain didekatnya memiliki gaya tarik-menarik yang disebut juga dengan ikatan hidrogen. Biasanya atom hidrogen akan membentuk ikatan kovalen dengan atom lain, namun atom hidrogen yang terikat secara kovalen dengan atom donor yang bermuatan elektronegatif juga dapat berinteraksi membentuk ikatan hidrogen dengan atom akseptor yang juga elektronegatif yang setidaknya mempunyai sepasang elektron sunyi (menyerang 6 dari atom hidrogen) sehingga membentuk ikatan hidrogen yang bersifat polar. Pada system biologis, terutama atom dalam gugus amino ( $-\text{NH}_2$ ) dan hidroksil ( $-\text{OH}$ ) baik donor maupun akseptor biasanya oksigen dan nitrogen. Karen ikatan antara N-H dan O-H bersifat polar, atom H dapat mengikat atom akseptor (Lodish *et al.*, 2000).

Interaksi non-kovalen, seperti ikatan heteroatom-hidrogen  $\text{X}---\text{H}---\text{Y}$  ( $\text{X} = \text{O}$  atau  $\text{N}$ ;  $\text{Y} = \text{O}$ ,  $\text{N}$ , atau halogen) dan interaksi  $\pi / \pi$  memainkan

peran penting dalam pembentukan kompleks protein-ligan. Interaksi tersebut terwujud antara protein dan ligannya 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 (MacLeod & Rosei, 2011).

### 2.10.2. Interaksi Hidrofobik

Interaksi hidrofobik merupakan interaksi terbanyak yang terjadi dalam interaksi protein-ligan. Hidrofobik berasal dari bahasa Yunani yang berarti “takut-air” yang juga bermakna molekul yang tidak larut dalam air dan biasanya disebut molekul non-polar. Ikatan nonpolar yang paling umum dalam sistem biologisnya adalah ikatan kovalen C-C dan C-H. Senyawa yang terbentuk dari karbon dan hidrogen yang memiliki sifat tak larut dalam air disebut juga hidrokarbon. Ikatan hidrofobik merupakan gaya yang menyebabkan molekul hidrofobik yang berada didalam molekul nonpolar lebih menyatu dan tidak terlarut dalam air (Lodish *et al.*, 2000).

Interaksi antara ligan dan rantai samping hidrofobik protein berkontribusi secara signifikan terhadap peningkatan energi bebas. Penyebab interaksi hidrofobik karena ketidakmampuan zat nonpolar membentuk suatu larutan ikatan hidrogen dengan molekul air, hal ini menyebabkan gangguan pada struktur air yang memaksa air membentuk kurungan kaku yang terikat oleh ikatan hidrogen di sekitarnya. 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. Gaya hidrofobik bukan merupakan gaya yang menyebabkan pemisahan melainkan gaya yang diperlukan untuk memasukkan molekul nonpolar ke dalam air (Lodish *et al.*, 2000).

Lipatan protein globular melibatkan keberadaan residu asam amino tertentu dalam struktur untuk mengendalikan pembentukan konfigurasi tertentu lalu diperoleh bentuk aktif biologisnya sehingga mempengaruhi interaksi hidrofobik. Interaksi *Van der Waals* juga dapat mengikat molekul nonpolar secara bersamaan. Lalu total hasil dari kedua interaksi tersebut membuat molekul hidrofobik tidak dengan air dapat berkaitan sangat kuat. Sederhananya, molekul polar larut dalam pelarut polar seperti air sedangkan molekul nonpolar larut dalam pelarut nonpolar seperti heksan sesuai dengan teori *like dissolves like* (Lodish *et al.*, 2000).

### **2.10.3. Interaksi Ikatan *Van der Waals***

molekul-molekul netral yang bertumbukan atau melintas sangat dekat satu sama lain memiliki gaya tarik-menarik yang lemah yang disebut dengan interaksi *Van der Waals*. Gaya *Van der Waals* dihasilkan dari gaya tarik sementara antara daerah kaya elektron dari satu molekul dan daerah miskin elektron di molekul lain. Ketika dua atom mendekati satu sama lain akan membentuk gaya tarik yang lemah dan nonspesifik yang menyebabkan interaksi *Van der Waals* yang sangat lemah (0,1- 4 kJ / mol) bila dibandingkan dengan ikatan kovalen atau interaksi elektrostatik. Interaksi nonspesifik ini disebabkan oleh fluktuasi acak dalam distribusi elektron di semua atom yang menyebabkan peningkatan distribusi elektron sementara yang tak seimbang yaitu dipol elektrik sementara. Jika dua atom yang terikat secara kovalen berdekatan, dipol sementara pada satu atom mengganggu elektron atom

lainnya dan akan menyebabkan dipol sementara dari atom kedua dan kedua dipol tersebut saling tarik-menarik secara lemah. Demikian pula ikatan kovalen yang polar dalam satu molekul akan menarik dipol yang berlawanan dari molekul lain. Ikatan ini mencakup gaya antara dipol permanen dan dipol yang diinduksi sesuai (gaya Debye) dan gaya antara dua dipol yang diinduksi secara instan (gaya dispersi London). Interaksi *Van der Waals* umumnya terjadi antara cincin benzena dengan reseptor atau rantai hidrokarbon dengan reseptor (Lodish *et al.*, 2000; Bronowska, 2012; Rashid *et al.*, 2015; La Kilo *et al.*, 2019).

## 2.11. Sumber Informasi Basis Data

*Database* yang bias disebut juga basis data adalah suatu sistem pengolahan dan penyimpanan data dimana penyimpanan data ini dapat di akses dengan menggunakan komputer yang terhubung dengan internet, *database* pada studi penambatan molekuler adalah tempat untuk menyimpan protein, senyawa dan lain-lain. Berikut adalah sumber informasi *database* yang digunakan dalam proses penambatan molekuler:

### 2.11.1. PubChem

PubChem adalah kumpulan informasi kimia terbesar di dunia yang dapat diakses secara bebas. PubChem memiliki informasi data diantaranya bahan kimia berdasarkan nama, rumus molekul, struktur dan pengenalan lainnya, sifat kimia dan fisik, aktivitas biologis, informasi keselamatan dan toksisitas serta paten. 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/>. Sepuluh juta lebih struktur tersedia dalam pubchem yang dikelompokkan berdasarkan tingkat kesamaan hubungan ikatan, adanya tautomer; kesamaan steokimia; kesamaan isotop. PubChem terdiri dari 3 *database* yang saling berhubungan yaitu *Substance*, *BioAssay*, dan *Compound*. 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).

### 2.11.2. Protein Data Bank (PDB)

*Protein Data Bank* (PDB; <https://www.rcsb.org/>) merupakan gudang data struktur 3D protein dan asam nukleat. Data ini diperoleh dari kristalografi sinar-X atau spektroskopi NMR yang dilaksanakan oleh ilmuwan biologi dan biokimia di 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 Structural 44 Biology Protein Data Bank* (RSCB PDB). RSCB adalah portal informasi untuk mempelajari biologi molekuler struktural serta hubungan dengan fungsi, sekuen, dan penyakit. Penyimpanan pada PDB berguna dalam proses penambatan molekuler dimana protein spesifik dipersiapkan terlebih dahulu. Persiapan ini memerlukan suatu sekuens database sebagai pembanding dari sekuens target yang ada, Sekuens *database* inilah yang disediakan data bank, termasuk PDB. PDB sendiri secara khusus menyediakan *database* sekuens protein berupa struktur 3D (Yanuar, 2012).

## 2.12. Perangkat Lunak

### 2.12.1. Discovery Studio

Rangkaian perangkat lunak untuk mensimulasikan sistem makromolekul dan molekul kecil disebut juga Discovery Studio. Discovery Studio merupakan antarmuka grafis tunggal yang unik dan mudah digunakan untuk penelitian desain obat dan pemodelan protein

yang canggih. Komponen fundamental untuk berbagai aktivitas penelitian adalah menentukan struktur tiga dimensi dan sifat makromolekul, seperti enzim, antibodi, DNA atau RNA. Discovery Studio berisi aplikasi standar emas yang sudah mapan (mis., Catalyst, MODELER, CHARMM, dll.). Perangkat lunak ini berfungsi menghasilkan model struktur 3D menggunakan 27 MODELER dikembangkan dan didistribusikan oleh *Accelrys*. Portofolio komprehensif alat ilmiah terdepan dan tervalidasi di pasar yang diberikan oleh Discovery Studio dapat membantu dalam setiap aspek penelitian berbasis makromolekul. *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).

### 2.12.2. Chem3D

ChemOffice merupakan salah satu *software* yang memiliki beberapa aplikasi diantaranya Chem Draw, Chem Finder, dan Chem 3D yang dikeluarkan oleh perusahaan raksasa bidang kimia Perkin Elmer dan CambridgeSoft untuk memudahkan pembuatan struktur kimia. Salah satu fitur yang dapat digunakan pada Chem 3D adalah *minimize energy* dari suatu senyawa atau ligan dengan algoritma MM2. Minimisasi energi MM2 dapat mengidentifikasi lebih dari satu konformasi molekul yang stabil. MM2 paling sering digunakan untuk menghitung model molekul organik (Parkin, 2018; Strack, 2001).

### 2.12.3. Open Babel

Sejak 2001, Open Babel telah dikembangkan dan diperluas secara substansial sebagai proyek kolaborasi internasional menggunakan model pengembangan *open-source*. Open Babel mendukung total 111

format file kimia dan dapat membaca 82 format serta menulis 85 format, yang meliputi banyak format umum yang digunakan dalam kimiawi (SMILES, InChI, MOL), file masukan dan keluaran dari berbagai paket kimia komputasi (GAMESS, Gaussian), format reaksi (MDL RXN), format file kristalografi (CIF, ShelX), format yang digunakan oleh paket gambar 2D (ChemDraw), format file yang digunakan oleh dinamika molekul dan paket *docking* (AutoDock), penampil tiga dimensi (Chem 3D Molden) dan kinetika kimia dan termodinamika (ChemKin, Thermo). Aplikasi Open Babel dapat digunakan untuk mengkonversi format file struktur apapun, termasuk sdf menjadi file pdbqt (Khaerunnisa & Awaluddin, 2020).

#### 2.12.4. AutoDock

*Computer Aided Drug Design* (Perancangan obat dengan bantuan komputer) 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 merupakan molekuler linker yang memiliki dua program utama yaitu AutoDock yang digunakan untuk mengikat ligan dengan protein yang diinginkan dan AutoGrid yang digunakan untuk menghitung jumlah energi yang dihasilkan ketika ligan tersebut telah selesai ditambahkan. AutoDock terdiri atas dua generasi perangkat lunak: AutoDock 4 dan AutoDock Vina (Trott & Olson, 2010; Yanuar, 2012).

#### 2.12.5. PyMOL

PyMOL merupakan *software* offline visualisasi molekuler yang dikembangkan oleh Warren Lyford Delano. Kata Py dari PyMOL berarti bahwa program dijalankan menggunakan bahasa program Python. PyMOL merupakan aplikasi yang memberikan kualitas

gambaran 3D yang baik pada molekul 50 kecil dan makromolekul biologis (protein) serta dapat digunakan untuk peta potensial elektrostatik, peta densitas elektron, dan kumpulan data volumetrik lainnya (Yanuar, 2012).

#### 2.12.6. PkCSM

PkCSM adalah sebuah metode baru untuk mengoptimalkan dan memprediksi sifat farmakokinetik serta toksisitas suatu molekul kecil yang bergantung pada grafik berbasis jarak. Konsep pemindaian batas ini digunakan untuk merepresentasikan struktur molekul kecil dan kimiawi (dinyatakan sebagai label node farmakofor atom) untuk merepresentasikan dan memprediksi sifat farmakokinetik dan toksisitasnya. 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.*, 2015).

#### 2.12.7. MarvinSketch

MarvinSketch adalah *software* buatan ChemAxon. MarvinSketch merupakan *software* gratis khusus kimia yang memvisualisasikan formula struktur kimia dengan gambar dan animasi molekul yang dapat dengan mudah dikembangkan. MarvinSketch digunakan untuk menggambar, reaksi kimia struktur molekul, menampilkan sifat-sifat dari struktur seperti data analisis topologi, koefisien partisi, protonasi. Preparasi pH, menggambar senyawa bahkan memvisualisasi bentuk tiga dimensi dapat ditentukan dengan *software* MarvinSketch (Ruswanto *et al.*, 2018).

### 2.12.8. LigPlot+

LigPlot+ merupakan pengerjaan ulang secara lengkap dari program LigPlot original dengan antarmuka pengguna grafis (GUI) baru. Program LigPlot+ merupakan sebuah program perangkat lunak yang secara otomatis membuat beberapa diagram 2D dari interaksi protein ligan dari koordinat 3D kompleks antara protein-ligan dari input file PDB standar dimana diagram tersebut menggambarkan pola interaksi ikatan hidrogen dan kontak hidrofobik antara ligan dan elemen rantai utama atau rantai samping protein. Program ini dapat digunakan untuk model struktural yang ditentukan secara eksperimental, model homologi atau hasil penambatan, di mana juga dapat digunakan untuk menganalisis ansambel kompleks ligan yang telah di *docking*. Pemasangan dan penyelarasan struktur 3D sepenuhnya otomatis, sehingga pengguna hanya perlu memilih struktur yang relevan dalam format PDB. Untuk setiap plot berikutnya, program melapisinya, satu demi satu, secara otomatis menyoroti posisi residu mana yang berada pada posisi setara dalam struktur 3D yang dilapisi (Laskowski & Swindells, 2011).