

**PENAMBATAN MOLEKUL DAN PREDIKSI TOKSISITAS SENYAWA FLAVONOID  
YANG TERDAPAT DALAM TANAMAN GENUS *CLERODENDRUM* L. SEBAGAI  
ANTIINFLAMASI.**

**Laporan Tugas Akhir**

**Risa Kartika Handayani  
12161032**



**Universitas Bhakti Kencana  
Fakultas Farmasi  
Program Strata I Farmasi  
Bandung  
2020**

## LEMBAR PENGESAHAN

**PENAMBATAN MOLEKUL DAN PREDIKSI TOKSISITAS SENYAWA FLAVONOID  
YANG TERDAPAT DALAM TANAMAN GENUS *CLERODENDRUM* L. SEBAGAI  
ANTIINFLAMASI.**

### **Laporan Tugas Akhir**

Diajukan untuk memenuhi syarat kelulusan Program Strata I Farmasi

**Risa Kartika Handayani**  
**12161032**

Bandung, 10 Juli 2020

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Serta,



(Lia Marliani, M. Si., Apt)



(R. Herni Kusriani, M. Si., Apt)

## ABSTRAK

### PENAMBATAN MOLEKUL DAN PREDIKSI TOKSISITAS SENYAWA FLAVONOID YANG TERDAPAT DALAM TANAMAN GENUS *CLERODENDRUM L.* SEBAGAI ANTIINFLAMASI .

Oleh :

**Risa Kartika Handayani**

**12161032**

Inflamasi merupakan keadaan dimana terjadinya kerusakan jaringan yang disebabkan oleh patogen, bahan-bahan kimia, trauma, panas, atau fenomena lainnya. Prevalensi penyakit yang melibatkan proses inflamasi di dalam tubuh di Indonesia masih cukup tinggi diantaranya Diabetes Melitus dengan prevalensi 31,07%; Pnemonia 55,77%; dan Tumor/Kanker 3,2%. Senyawa flavonoid yang terkandung dalam tanaman genus *Clerodendrum L.* memiliki aktivitas antiinflamasi yang dihasilkan dari kemampuannya menghambat enzim siklooksigenase atau lipooksigenase dan menghambat akumulasi leukosit dalam darah sehingga dapat menjadi obat herbal alternatif yang aman dalam menangani inflamasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji afinitas dan interaksi senyawa flavonoid yang terkandung dalam tanaman genus *Clerodendrum L.* dengan protein COX-2 serta prediksi toksisitas secara *in silico*. Tahapan penambatan molekul meliputi validasi penambatan molekul dengan parameter nilai RMSD  $\leq 2,0$  Å dan penambatan molekul terhadap duabelas senyawa uji dengan parameter nilai energi bebas ikatan ( $\Delta G$ ) dan konstanta inhibisi ( $K_i$ ). Hasil penambatan molekul terbaik adalah senyawa Scuttellarein terhadap protein 2AW1 dengan nilai  $\Delta G$  dan  $K_i$  sebesar -7,44 kcal/mol dan 3,51 uM. Dapat disimpulkan bahwa senyawa flavonoid tersebut memiliki potensi sebagai anti inflamasi. Melalui prediksi toksisitas yang dilakukan, diketahui bahwa duabelas senyawa uji menunjukkan sifat mutagen pada *AMES Test*; senyawa Scuttellarein, Hispidulin, Tricin, 7-hydroxyflavonone, Cirsimaritin, dan Kaempferol menunjukkan negatif toksik terhadap tikus; senyawa Scuttellarein dan 7-hydroxyflavonone menunjukkan negatif toksik terhadap mencit; serta senyawa Scuttellarein, Apigenin, Hispidulin, Luteolin, Tricin, 7-hydroxyflavonone, Cirsimaritin, Scuttellarein-4-methyl, Salvigenin, dan Kaempferol beresiko sedang terhadap kardiotoxik. Disimpulkan bahwa senyawa Scuttellarein dapat dijadikan sebagai *lead compound* dalam penemuan obat antiinflamasi.

Kata Kunci : antiinflamasi, flavonoid, *Clerodendrum L.*, penambatan molekul, prediksi toksisitas

## ABSTRACT

### **DOCKING AND TOXICITY PREDICTION OF FLAVONOID COMPOUNDS WHICH CONTAINED IN GENUS CLERODENDRUM L. PLANT AS ANTIINFLAMATION.**

By :

**Risa Kartika Handayani**

**12161032**

*Inflammation is a condition in which tissue damage is caused by pathogens, chemicals, trauma, heat, or other phenomena. The prevalence of diseases involving inflammatory processes in the body in Indonesia is still quite high including Diabetes Melitus with a prevalence of 31.07%; Pneumonia 55.77%; and Tumors / Cancer 3.2%. Flavonoid compounds contained in the plant genus Clerodendrum L. have anti-inflammatory activity resulting from their ability to inhibit the enzyme cyclooxygenase or lipooksigenase and inhibit the accumulation of leukocytes in the blood so that it can be an alternative herbal medicine that is safe in inflammation tretment. This study aims to examine the affinity and interactions of flavonoid compounds contained in the genus Clerodendrum L. plant with COX-2 protein and toxicity predictions in silico. Molecular docking steps include validation of molecular docking with RMSD value of  $\leq 2.0 \text{ \AA}$  and molecular docking towards twelve test compounds with parameters of free bond energy value ( $\Delta G$ ) and inhibition constant ( $K_i$ ). The best molecular docking results are Scuttellarein compounds against 2AW1 protein with  $\Delta G$  and  $K_i$  values of  $-7.44 \text{ kcal/mol}$  and  $3.51 \text{ \mu M}$ . It can be concluded that the flavonoid compound has potential as an anti-inflammatory. Through the prediction of toxicity, it is known that twelve test compounds showed mutagenic properties in the AMES test; Scuttellarein, Hispidulin, Tricin, 7-hydroxyflavonone, Cirsimaritin and Kaempferol compounds showed negative toxicity to rats; Scuttelarein and 7-hydroxyflavonone compounds showed negative toxicity to mice; and Scuttellarein, Apigenin, Hispidulin, Luteolin, Tricin, 7-hydroxyflavonone, Cirsimaritin, Scuttellarein-4-methyl, Salvigenin and Kaempferol compounds are at moderate risk for cardiotoxicity. It was concluded that the Scuttellarein compound can be used as a lead compound in the discovery of anti-inflammatory drugs.*

*Keywords: anti-inflammatory, Flsvonoid, Clerodendrum L., docking, toxicity prediction.*

## KATA PENGANTAR

*Assalamu'alaikum Warohmatullohi Wabarakatuh*

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, karena berkat limpahan rahmat dan karunia-Nya akhirnya penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini. Shalawat dan salam senantiasa tercurah kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW, kepada keluarganya, para sahabat dan para pengikutnya yang senantiasa berdiri diatas sunnahnya, serta para seluruh umatnya hingga akhir zaman, aamiin.

Penulisan skripsi ini diajukan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Fakultas Farmasi Universitas Bhakti Kencana Bandung. Judul yang penulis ajukan adalah “

Penulis menyadari bahwa dalam menyelesaikan penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bimbingan, bantuan, dan dorongan dari berbagai pihak. Dengan rasa tulus, ikhlas serta segala kerendahan hati pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak H. Mulyana selaku Ketua Yayasan Adhiguna Kencana.
2. Bapak Dr. Entris Sutrisno, S.Farm., MH. Kes., Apt. selaku Rektor Universitas Bhakti Kencana Bandung.
3. Ibu Lia Marliani, M. Si., Apt. selaku dosen pembimbing utama dan Ibu R. Herni Kusriani, M. Si., Apt. selaku dosen pembimbing serta yang telah menyempatkan waktu, pikiran dan senantiasa memberikan bimbingan, arahan, dan memiliki pengaruh besar terhadap proses penelitian dan penyusunan skripsi ini.
4. Dosen – dosen yang telah memberikan ilmu pengetahuan selama masa perkuliahan yang sangat bermanfaat.
5. Orang tua dan adik yang selalu memberikan dukungan moril, materil serta motivasi dan doanya.
6. Sahabat terbaik Tedi Kadarusman yang telah menjadi rekan belajar dan rekan diskusi.
7. Teman – teman satu angkatan yang telah memebrikan dukungan dan semangat dalam penyelesaian Tuga Akhir ini.
8. Rekan seperjuangan FA5 non-reguler yang bersama – sama berjuang dalam segala hal dan semua pihak yang telah membantu yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa Tugas Akhir ini masih banyak terdapat kekurangan. Untuk itu, penuli mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun demi perbaikan dimasa yang akan datang.

*Wassalamualaikum Warohmatullahi Wabarakatuh*

Bandung, Juli 2020

Penulis

## DAFTAR ISI

ABSTRAK.....	ii
<i>ABSTRACT</i> .....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
DAFTAR TABEL.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
I.1    Latar belakang.....	1
I.2    Rumusan masalah.....	2
I.3    Tujuan dan manfaat penelitian.....	3
I.4    Hipotesis penelitian.....	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
II.1    Tinjauan Botani.....	4
II.1.1    Klasifikasi Tanaman.....	4
II.1.2    Nama daerah.....	5
II.1.3    Kandungan Kimia.....	5
II.1.4    Aktivitas Farmakologi.....	6
II.2    Inflamasi.....	12
II.2.1    Definisi.....	12
II.2.2    Klasifikasi.....	13
II.2.3    Penyebab Inflamasi.....	14
II.2.4    Mediator Inflamasi.....	14
II.2.5    Mekanisme Inflamasi.....	17
II.3    Penggunaan Komputer di Bidang Penemuan Obat.....	21
II.3.1 <i>Computer-aided Drug Design (CADD)</i> .....	21
II.3.2    Skrining Virtual.....	21
II.3.3 <i>Docking</i> Molekuler ( Penambatan Molekul ).....	21
II.3.4    Komponen dasar penambatan molekul.....	23
II.3.5    Penyiapan molekul.....	23
II.3.6    Prediksi Toksisitas.....	24
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN.....	26
BAB IV. PROSEDUR PENELITIAN.....	27
IV.1    Pemilihan Reseptor.....	27

IV.2	Penyiapan Senyawa Uji .....	27
IV.3	Validasi Penambatan Molekul .....	28
IV.4	Penambatan Molekul Senyawa uji .....	28
IV.5	Prediksi Toksisitas Senyawa Uji .....	28
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN .....		29
V.1	Pemilihan Reseptor .....	29
Tabel V.1 Reseptor 2AW1 .....		29
V.2	Penyiapan Ligan.....	30
V.2.1	Pemodelan struktur 2D dan 3D .....	31
V.2.2	Analisis sifat fisikokimia .....	32
V.2	Analisis HOMO-LUMO dan <i>Gap Energi</i> .....	34
V.3	Validasi Penambatan Molekul .....	35
V.3.1	Nilai RMSD, Energi Bebas Ikatan ( $\Delta G$ ), dan Konstanta Inhibisi ( $K_i$ ) .....	36
V.3.2	Visualisasi Validasi Penambatan Molekul .....	37
V.3.3	Interaksi reseptor dan ligan alami.....	37
V.4	Penambatan Molekul Senyawa Uji .....	40
V.4.1	Energi bebas ikatan ( $\Delta G$ ) dan konstanta inhibisi ( $K_i$ ) .....	40
V.4.2	Interaksi reseptor – ligan uji.....	42
V.5	Prediksi Toksisitas Senyawa Uji .....	43
BAB VI. SIMPULAN DAN SARAN .....		45
VI.1	Kesimpulan .....	45
VI.2	Saran.....	45
DAFTAR PUSTAKA .....		46
LAMPIRAN.....		49



## DAFTAR TABEL

Tabel V.1 Reseptor 2AW1.....	29
Tabel V.2 Nama Senyawa Uji.....	30
Tabel V.3 Total Energi terendah ligan senyawa uji hasil optimasi geometri.....	32
Tabel V.4 Koefisien Partisi (LogP), Refraktivitas Molar (MR), dan Bobot Molekul (BM).....	33
Tabel V.5 Analisis HOMO-LUMO dan <i>Gap Energy</i> .....	34
Tabel V.6 Parameter Validasi <i>Docking</i> yang digunakan saat validasi protein 2AW1 .....	36
Tabel V. 7. Hasil Penambatan Molekul Senyawa Uji dengan Protein 2AW1.....	40
Tabel V.8 Prediksi Toksisitas Senyawa Uji.....	44

## DAFTAR GAMBAR

Gambar II 1. Tanaman <i>Clerodendrum indicum</i> (a), Tanaman <i>Clerodendrum inerme</i> (b), dan Tanaman <i>Clerodendrum phlomoides</i> (c).....	4
Gambar II. 2. Mekanisme Terjadinya Inflamasi.....	18
Gambar II.3. Jalur sintesis prostaglandin oleh enzim COX.....	20
Gambar V.4. (a) Protein COX-2 2AW1 dan (b) Ligan alami COX.....	29
Gambar V.5. Visualisasi tumpang tindih antara ligan alami 2AW1 sebelum dan sesudah validasi penambatan molekul. Warna abu-abu adalah ligan alami sebelum validasi penambatan molekul dan warna kuning setelah validasi penambatan molekul.....	37
Gambar V.6. Visualisasi interaksi ikatan reseptor-ligan alami 2AW1 (a) sebelum dan, (b) setelah validasi penambatan molekul.....	39
Gambar V.7. Interaksi terbaik antara protein 2AW1 dengan ligan uji senyawa Scuttellarein.....	42

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Daftar Senyawa Yang Digunakan Pada Penelitian.....	49
Lampiran 2. Pemodelan Struktur secara 2D dan 3D.....	52
Lampiran 3. Tabel RMSD Validasi Penambatan Molekul Ligan Alami Protein 2AW1 .....	55
Lampiran 4. Visualisasi Interaksi Reseptor – Ligan Alami Protein 2AW1.....	59
Lampiran 5. Visualisasi Interaksi Hasil Penambatan Molekul Ligan Senyawa Uji Terhadap Protein 2AW1.....	60

## **BAB I. PENDAHULUAN**

### **I.1 Latar belakang**

Di Indonesia penyakit yang melibatkan proses inflamasi di dalam tubuh menunjukkan angka kejadian masih cukup tinggi. Prevalensi nasional penyakit Diabetes Melitus adalah 31,07%, penyakit Pneumonia adalah 55,77%, penyakit Tumor/Kanker adalah 3,2%, penyakit tersebut termasuk penyakit yang dapat menimbulkan reaksi inflamasi (Pusdatin, 2018).

Inflamasi sendiri merupakan keadaan di mana terjadi kerusakan jaringan yang disebabkan oleh patogen, bahan-bahan kimia (asam dan basa kuat, fenol, racun), trauma, panas atau fenomena lainnya. Berbagai zat dilepaskan oleh jaringan yang rusak tersebut dan menyebabkan perubahan sekunder pada jaringan lain yang tidak mengalami kerusakan. Keseluruhan proses kompleks perubahan pada jaringan ini yang disebut inflamasi (Kumar et al, 2012). Beberapa mediator yang menyebabkan reaksi inflamasi adalah histamin, bradikinin, serotonin, prostaglandin, leukotrin, Tumor Necrotic Factor alfa (TNF- $\alpha$ ), dan Nitrit Oksida (NO) (Cunnick et al, 2009). Inflamasi dicirikan dengan vasodilatasi pembuluh darah setempat; peningkatan permeabilitas dari pembuluh kapiler yang menyebabkan kebocoran dalam jumlah besar cairan ke dalam ruang interstisial; sering terjadi penyumbatan cairan dalam ruang interstisial yang disebabkan oleh jumlah berlebihan dari fibrinogen dan protein-protein lain yang bocor dari pembuluh darah kapiler; migrasi granulosit dan monosit dalam jumlah besar ke dalam jaringan; dan pembengkakan sel-sel pada jaringan (Leelapraksh & Mohan, 2011). Jika inflamasi tidak segera diobati dapat menyebabkan timbulnya penyakit lain seperti rinitis vasomotor, rematoid, artritis, dan arterosklerosis (R Ilakkiya et al, 2013).

Obat-obatan yang memiliki efek antiinflamasi adalah golongan obat yang dapat mengurangi pembengkakan dan rasa sakit akibat peradangan dengan menghambat mediator-mediator inflamasi. Obat-obat tersebut berasal dari golongan Antiinflamasi Non Steroid (AINS) dan golongan Steroid, yang memiliki kegunaan klinis lain yaitu sebagai antipiretik dan analgetik. Dalam pemakaian jangka panjang obat-obat golongan ini memiliki resiko toksisitas gastrointestinal, toksisitas jantung, dan lainnya. Obat antiinflamasi dengan efek samping yang ringan sangat diperlukan agar terhindar dari resiko tersebut. Tanaman obat menjadi pilihan alternatif untuk pengobatan antiinflamasi,

tetapi pada saat ini masih kurang bukti ilmiah untuk khasiat tersebut (P, Marunthi, Kamala, Rahma, & E,2012).

Pada era modern saat ini baik di dalam maupun di luar negeri penelitian dan pengembangan tanaman obat berkembang dengan pesat, terutama dalam bidang khasiat farmakologisnya, salah satunya penelitian mengenai khasiat sebagai antiinflamasi (F, Marisa, & Suhartono, 2015). Dari berbagai hasil penelitian yang dilaporkan, kandungan kimia yang memiliki khasiat sebagai antiinflamasi adalah flavonoid. Flavonoid dapat menghambat siklooksigenase atau lipooksigenase dan menghambat akumulasi leukosit di darah sehingga dapat menjadi antiinflamasi (Agustina, R. et al, 2015). Ada beberapa tanaman yang dipercaya oleh masyarakat secara empiris dapat mengobati inflamasi, diantaranya *Clerodendrum infortunatum* L ( Peruvilai) (N.Shrivastava, 2007), *Clerodendrum philippinum* S ( (Scent Malli) (B.Venkatanarasimman, 2012), *Clerodendrum phlomidis* L (Vathamudakki) (S.Jeeva, 2006).

Pengembangan dan pemanfaatan obat bahan alam obat tradisional Indonesia ini perlu mendapatkan substansi ilmiah yang lebih kuat, terutama melalui penelitian dan standarisasi sehingga obat herbal Indonesia dapat diintegrasikan dalam sistem pelayanan kesehatan nasional. Studi interaksi antara senyawa flavonoid dan target reseptor inflamasi dapat dilakukan melalui penambatan molekul. Penambatan molekul dengan menggunakan target protein 2AW1 golongan COX-2 dapat dijadikan studi dalam melihat potensi antiinflamasi.

Dari uraian di atas, percobaan ini mencoba mengkonfirmasi bahwa salah satu cara untuk menghambat inflamasi adalah dengan penggunaan tanaman genus *Clerodendrum* L. yang diduga mengandung zat aktif yaitu flavonoid yang dapat menghambat proses pembentukan inflamasi.

## **I.2 Rumusan masalah**

Berdasarkan latar belakang diatas, maka dirumuskan masalah penelitian sebagai berikut:

- 1) Apakah senyawa flavonoid yang terkandung dalam tanaman genus *Clerodendrum* L. memiliki potensi sebagai antiinflamasi serta interaksi apa yang akan terjadi antara senyawa tersebut dengan target molekul pada antiinflamasi ?

- 2) Apakah senyawa flavonoid yang terkandung dalam tanaman genus *Clerodendrum* L. memiliki potensi toksisitas yang berbahaya bagi manusia ?

### **I.3 Tujuan dan manfaat penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah :

- 1) Untuk mengetahui potensi senyawa yang terkandung dalam tanaman genus *Clerodendrum* L. sebagai antiinflamasi melalui kajian interaksi terhadap target molekul inflamasi menggunakan *docking* molekul.
- 2) Untuk melakukan analisis toksisitas terhadap senyawa flavonoid yang terkandung dalam tanaman genus *Clerodendrum* L. sehingga diperoleh agen terapi yang efektif sebagai antiinflamasi.

### **I.4 Hipotesis penelitian**

Senyawa turunan flavonoid memiliki potensi menghambat siklooksigenase dan lipooksigenase yang berperan dalam proses inflamasi.

### **I.5 Tempat dan waktu Penelitian**

Penelitian dilakukan dalam selang waktu 2 bulan dari bulan Mei sampai Juni 2020 bertempat di Laboratorium Kimia Komputasi Fakultas Farmasi Universitas Bhakti Kencana.

## BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

### II.1 Tinjauan Botani

*Clerodendrum* L. adalah genus tanaman berbunga yang termasuk kedalam keluarga *Lamiaceae* (*Verbenaceae*). *Clerodendrum* adalah genus tanaman kecil, semak, liliana, dan tanaman herbal (Harley R.M, dkk. 2004). Perkiraan jumlah spesies di *Clerodendrum* sangat bervariasi, dari sekitar 150 hingga sekitar 500 spesies, dan merupakan tanaman asli di daerah beriklim tropis dan sedang di dunia, dengan sebagian besar spesies terdapat di afrika tropis dan asia bagian selatan, tetapi terdapat beberapa spesies di amerika tropis dan australia utara, dan beberapa memebentang ke utara ke zona beriklim sedang di asia timur(Yuan Y.W, dkk. 2010). Terdapat 40 spesies di daratan cina, terutama di wilayah selatan dan barat daya, termasuk *C.serratum*; *C. Inerme*; *C. Bungei*; *C. Phlomidis*; *C. Infortunatum*; *C. Trichotomum*; *C. Chinense*; *C. Parasite*; *C. Grayi*; *C. Indicum* dll. *Clerodendrum trichotomum* adalah spesies umum dibelahan dunia (Yuan Y.W, dkk. 2010).

#### II.1.1 Klasifikasi Tanaman

Kingdom : Plantae  
Divisi : Magnoliophyta  
Subdivisi : Spermatophyta  
Kelas : Magnoliopsida  
Bangsa : Lamiales  
Suku : Verbenaceae (Lamiaceae)  
Marga : *Clerodendrum*



(a)



(b)



(c)

Gambar II. 1. Tanaman *Clerodendrum phlomoides* (a), Tanaman *Clerodendrum inerme* (b), dan Tanaman *Clerodendrum indicum* (c).

( Tjitrosoepomo, 2004).

### II.1.2 Nama daerah

Tanaman *Clerodendrum indicum* di Indonesia sering disebut dengan tanaman genje, biduyuk, mamadatan, ronggadipo, sekar pethak, di negara Inggris sering disebut dengan *glorybower*; tanaman *Clerodendrum inerme* di Indonesia sering disebut dengan tanaman gambir laut; serta tanaman *Clerodendrum phlomoides* di Indonesia sering disebut dengan tanaman ganikarika, jayanthi, tarkari dan munja (Yjitrosoepomo, 2004).

### II.1.3 Kandungan Kimia

Berdasarkan penelitian yang telah ada sejauh ini diketahui lebih dari 280 konstituen kimia telah diisolasi dan diidentifikasi dari spesies genus *Clerodendrum*. Senyawa ini terdiri dari : 27 monoterpen dan turunannya, contohnya : Serratumin A, Serratoside A, Monomelittoside, Inerminosides A, 8-0-*foliamenthoyleuphroside*, dll; 3 seguiterpen yaitu Sammangaoside A, Sammangaoside B, dan 2-{(2S.5R)-5-[(1E)-4-*hydroxy-4-methylhexa-1,5-dien-1-yl*]-5-*methyltetrahydrofuran-2-yl*}propan-2-yl- $\beta$ -*d-glucopyranoside*; 58 diterpenoid, contohnya : Mandarone A, Clerodermic acid, 3-*epicaryoptin*, Teuvincenone B, Villosin C, dll; 31 triterpenoid, contohnya : Glutinol, Clerodone,  $\alpha$ -amyrin, Lupeol, 3-0-*acetyloleanolicacid* dll; 43 flavonoid dan flavonoid



glikosid, contohnya : Apigenin, Hispidulin, Scutellarin, Luteolin, *Hispidulin-7-O-glucoronide*, dll; 40 glikosida phenylethanoid, contohnya : Salidroside, Campneoside II, 3,4-*dihydroxyphenylethanol*, Isoacteoside, Benzylglucoside, dll; 43 steroid dan glikosida steroid, contohnya : *Stigmasterol-3-O-β-d-glucopyranoside*, Serratin, 22,23-*dihydrostigmasterol*, Colebrin A, dll; 13 cyclohexylethanoids. Contohnya : Rengyol, Cleroindicin, 5-0-*butyl* cleroindin D, 5-0-*ethylcleroindicin* D, dll; 4 antrakuinon, yaitu : Aloe-emodin, Emodin, Chrysophanol, dan 2,5-*dimethoxybenzoquinone*; 2 glikosida cyanogenic, yaitu : (*R*)-lucumin dan (*R*)-prunasin; dan 19 senyawa lainnya, contohnya : Spicatoliganan B, *Trans*-phytol, Palmitic acid, Daucosterol, 1H-indole-3-*carboxylic acid*, dll. Senyawa fitokimia yang terisolasi dari genus *Clerodendrum*, bagian tanaman akar dan daun adalah target investigasi yang paling umum untuk prinsip bioaktif, dan sebagian besar senyawa ini dilaporkan dari *C. Serratum*, *C. Inerme*, *C. Bungei*, *C. Indicum*, *C. Infortunatum*, dan *C. Trichotomum*. Diterpenoid, flavonoid, glikosida phenylethanoid, dan steroid adalah bioaktif utama dan banyak terdapat di genus *Clerodendrum*.

#### **II.1.4 Aktivitas Farmakologi**

##### **1) Aktivitas Anti-Inflamasi dan Anti-Nosiseptik**

Banyak penelitian telah memberikan data tentang efek antiinflamasi pada *C. Phlomidis*, *C. Petasites*, *C. Laevifolium*, *C. Inerme*, *C. Bungei*, dan *C. Serratum* ekstrak dari bagian tanaman akar, daun, dan batang.

Prakash dkk (2014), melaporkan bahwa senyawa monomer 3-*hydroxy*, 2-*methoxy-sodium butanoate* (HMSB, pada dosis 25, 50, 100 mg/kg) yang diisolasi dari daun *C. Phlomidis* memberikan hasil efek antiinflamasi dan efek anti artritis yang diinduksi karagen dan diinduksi FCA terhadap tikus. Hasil penelitian menunjukkan bahwa HMSB secara signifikan dapat mengurangi respon edema, mengurangi enzim lisosom, karbohidrat terikat protein, dan kadar protein fase akut. Selain itu, HMSB dapat secara signifikan menurunkan regulasi sitokin proinflamasi, kadar protein TNF, IL-1 dan IL-6 dan ekspresi mRNA pada sendi tergantung pada dosis. Hasil ini menunjukkan bahwa HMSB memiliki potensi yang cukup besar terhadap aktivitas antiinflamasi dan memiliki efek anti rematik yang baik.

Panthong dkk (2003), mengevaluasi aktivitas antiinflamasi dan antipireti dari ekstrak metanol *C. Petasites* (pada dosis 1.0, 2.0, 4.0 mg/telinga). Hasilnya membuktikan bahwa ekstrak tersebut memiliki aktivitas penghambatan sedang pada fase akut peradangan dalam dosis terkait pada edema telinga yang diinduksi etil fenilpropiolat ( $ED_{50} = 2.34$  mg/telinga), serta edema yang diinduksi karagen ( $ED_{30} = 420.42$  mg/kg) pada tikus, dan juga mengurangi aktivitas alkali fosfatase dalam serum. Selain itu, ekstrak tersebut memberikan efek antipiretik yang sangat baik dengan induksi ragi pada tikus. Ekstrak metanol dapat memberikan efek antiinflamasi dan antipiretik disebabkan oleh penghambatan sintesis prostaglandin.

Naryanan dkk (1999), mempelajari efek antinoseptik dari ekstrak alkohol akar *C. Serratum* (50, 100, dan 200 mg/kg) yang diamati dengan induksi asam asetat (200mg/kg) dan metode hot plate (100 dan 200 mg/kg). penurunan jumlah konstrikdi abdomen pada asam asetat yang diinduksi pada tikus, mengindikasikan efek antinoseptik dari *C. Serratum* yang selanjutnya telah didukung oleh metode hot plate dimana peningkatan signifikan di area bawah kurva. Namun, responnya jauh lebih kecil jika dibandingkan dengan morfin dan mekanisme yang tepat masih harus diselidiki secara rinci. Naryanan et al juga telah mengidentifikasi aktivitas antipiretik pada ekstrak alkohol dari akar *C. Serratum* (100 and 200 mg/kg) terhadap kelinci melalui pengurangan dosis setelah pemberian *C. Serratu*. Ekstrak etanol dari daun *C. Serratum* telah ditemukan untuk aktivitas analgesik yang bekerja sentral dalam uji flick pada dosis 250 mg/kg dan aktivitas analgesik yang bekerja secara perifer dalam asam asetat yang diinduksi dengan tes menggeliat pada dosis 500 mg/kg yang ditemukan sebanding dengan natrium diklofenak. Penghambatan permeabilitas kapiler atau pelepasan zat endogen seperti prostaglandin mungkin merupakan mekanisme yang dipublikasikan.

Kombinasi efek antiinflamasi, anti-noseptik dan antipiretik dari genus *Clerodendrum* menunjukkan prospek intervensi dengan sintesis prostglandin, karena prostaglandin telah ditetapkan sebagai mediator umum dalam semua respon ini. namun, kemungkinan ini masih harus diselidiki secara menyeluruh. studi lanjutan dapat dilakukan dengan tujuan pemurnian senyawa kimia dan investigasi jalur biokimia untuk pengembangan agen analgesik yang kuat dengan toksisitas rendah dan indeks terapi yang lebih baik.

## 2) Aktivitas Anti-Oksidan

Bhujbal dkk (2009), telah menunjukkan efek antioksidan secara in-vitro dari ekstrak etanol akar *C. Serratum* (50-250 µg/ml) pada berbagai konsentrasi dalam uji pembersihan radikal DPPH (nilai IC<sub>50</sub> = 175 µg/ml); uji FRAP (ferrie mengurangi daya antioksidan) dan pengujian radikal peroksida ( nilai IC<sub>50</sub> = 85 µg/ml) dan menyarankan peran polifenol dan flavonoid untuk efek antioksidan yang diamati dalam ekstrak. Potensi antioksidan ekstrak metanol daun *C. Serratum* ditemukan lebih kuat (nilai EC<sub>50</sub> = 0.51 µg/ml) karena kandungan polifenol yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak lainnya (eter minyak bumi, kloroform, dan air) ketika dievaluasi dalam TEAC, DPPH, dan ABTS. Potensi antioksidan dari ekstrak metanol daun *C. Serratum* (200-1000 µg/ml) kemudian didukung dengan laporan tambahan pada uji DPPH, mengurangi uji daya, dan total uji aktivitas antioksidan.

## 3) Aktivitas Anti-Kanker

Chinchali dkk (2012), telah melaporkan bahwa pemberian ekstrak metanol daun *C. Serratum* secara signifikan mengurangi perkembangan tumor pada 7,12-dimethylbenz anthracene (DMBA) menginduksi karsinogenesis kulit pada testis, hati, dan ginjal tikus. Para peneliti telah menunjukkan lebih lanjut bahwa flavonoid dan fenol dapat secara efektif mengurangi kejadian multiplisitas papiloma kulit, banyak para peneliti telah mengkonfirmasi aktivitas antikanker *C. Serratum* dengan berbagai studi secara *in vivo* dan *in vitro*. Ekstrak metanol akar *C. Serratum* menunjukkan aktivitas antikanker secara *in vivo* dengan menggunakan metode sel DLA pada dosis 100 dan 200 mg/ kg berat badan.

Xu dkk (2016), melaporkan bahwa diterpenoid cryptojaponol, fortunin E, 12-methoxy-6,11,14,16-tetrahydroxy-17(15-16)-abeo-5,8,11,13-abietatetraen-3,7-dione yang diisolasi dari ekstrak hidroalkohol *C. Kiangsiense* menunjukkan sitotoksitas yang signifikan terhadap leukimia myeloid manusia (HL-60), careinoma hepatoseluler (SMMC-7721), kanker paru-paru (A-549), dan sel kanker payudara (MCF-7), dan kisaran nilai IC<sub>50</sub> adalah 1.8-5.0 µM. Hasilnya menunjukkan bahwa senyawa ini mungkin berpotensi untuk menjadi agen antikanker. Senyawa Uncinstone; Mandarone E; 17(15-16),18(4-3)-diabeo-abieta-3,5,8,11,13-pentaene-7-one; 17-(15-16),18(4-3)-diabeo-abieta-5,8,11,13-tetraene-7-one; Teuvincenone E; dan 12,16-

*epoxy-17(15-16),18(4-3)-diabeo-abieta-3,5,8,12,15-pentaene-7,11,14-trione* yang diisolasi dari akar *C. Trichotomum* menunjukkan aktivitas sitotoksitas yang luar biasa terhadap lima jalur sel kanker manusia ( BGC-823, Huh-7, KB, KE-97 dan Jurkat ) dengan menggunakan metode pengujian viabilitas sel Titer Glo™ Luminescent dengan nilai IC<sub>50</sub> mulai dari 0.83 hingga 50.99 µM. Diantara senyawa tersebut, Teuvincenone E menunjukkan aktivitas yang paling ampuh terhadap lima garis sel dengan nilai IC 3.95; 5.37; 1.18; 1.27 dan 0.83 µM.

#### 4) Aktivitas Anti-Bakteri

Arokiyaraj dkk (2012), melaporkan bahwa ekstrak metanol daun *C. Siphonanthus* menunjukkan efek antibakteri yang signifikan terhadap *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Bacillus subtilis*, dan zona penghambat 30, 16, 16, 12, 11.5, dan 10 mm.

Liu dkk (2015), melaporkan bahwa ekstrak n-butyl dari akar *C. Bungei* menunjukkan efek antibakteri yang menonjol terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Micrococcus pyogenes* dan nilai penghambat minimum (MIC) masing-masing adalah 50 mg/ml dan 25 mg/ml. Selain itu, ekstrak air dari akar *C. Bungei* memiliki aktivitas antibakteri terutama pada *Rhizoctonia cerealis*, *Fusarium graminearum*, *Rhizoctonia solani*, dan *Setosphaeria turrum*, terutama ekstrak air yang menunjukkan aktivitas antibakteri terkuat pada *Furarium graminearum* dengan nilai MIC 10 mg/ml.

#### 5) Aktivitas Anti-Fungi

Gong dkk (2015), pertama kali menemukan bahwa ekstrak etil asetat endofit dari batang *C. Inerme* menunjukkan aktivitas anti jamur *in vitro* yang luas terhadap sejumlah patogen jamur termasuk *Alternaria*, *Lasiodiplodia*, *Pestalotiopsis*, *Nigrospora*, *Diaporthe*, dan *Phomopsis* dan menghambat pertumbuhan sebagian besar jamur. Ekstrak etil asetat dan kloroform dari akar, daun, dan batang *C. Infortunatum* menunjukkan aktivitas penghambatan yang signifikan terhadap bakteri dan jamur sebanding dengan tetrasiklin dan flukonazol obat standar. Zona penghambatan rata-rata diameter maksimum dicatat pada galur bakteri terhadap *Bacillus megaterium*, *S. Typhi*, *K. Pneumoniae* dan terhadap jamur *Anisops niger* dan *Clerodendrum albicans*. Nilai MIC dari ekstrak etil asetat dan kloroform sebesar 64 µg/ml, terhadap *B. Subtilis* dan *K. Pneumoniae*; *S.β-haemolyticus* dan *S. Typhi*, untuk

ekstrak etil asetat 128 µg/ml terhadap *S.aureus* dan *E.coli*; dan ekstrak etil asetat dan kloroform dari akar hanya terhadap *S.typhi* dan ekstrak kloroform terhadap *S.β-haemolyticus*.

#### **6) Aktivitas Anti-Plasmodial**

Adia dkk (2016), mengungkapkan bahwa ekstrak etil asetat, metanol dan ekstrak air dari daun *C. Rotundifolium* menunjukkan hasil yang signifikan secara *in vitro* aktivitas antiplasmodial terhadap strain chloroquin dan resisten chloroquin dengan strain *Plasmodium falciparum* yang resisten dengan  $IC_{50} <$  pada waktu pertama kali 5 µg/ml.

#### **7) Aktivitas Insektisida**

Banyak tes farmakologis dan pengamatan klinis telah mengetahui bahwa ekstrak berbeda dari *C. Chinese* memiliki efek insektisida yang signifikan terhadap diskase dan organisme termasuk schistosomiasis dan trichomoniasis.

Govidarajan dkk (2016), melaporkan bahwa *C. Chinense* menghasilkan nanopartikel (Ag NPs) buatan yn=ang menunjukkan toksisitas yang lebih tinggi terhadap *Anisops subpictus*, *Anisops albopictus* dan *Clerodendrum tritaeniorhychus* dengan nilai  $LC_{50}$  masing-masing sebesar 10.23, 11.10, dan 12.38 µg/ml. Ag NP buatan *C. Chinense* dibuat lebih aman untuk organisme non-target seperti *Diplonychus indicus*, *Anisops bovieri* dan *Gambusia affinis*, dengan nilai  $LC_{50}$  masing-masing berkisar antara 647.05 hingga 6877.28 µg/ml. Hasil ini menunjukkan bahwa Ag NP buatan *C. Chinense* adalah alat yang menjanjikan terhadap populasi larva dari vektor nyamuk yang penting secara medis dan veteriner, dengan toksisitas yang dapat diabaikan terhadap perairan yang bukan target.

#### **8) Aktivitas Anti-Hipertensi**

Lokesh dkk (2012), mengevaluasi potensi anti-hipertensi dari ekstrak cair dan fraksi air, n-butanol, etil aseta dan kloroform daun *C. Colebrookianum* menggunakan model hipertensi yang diinduksi fruktosa pada jantung tikus dan katak yang terisolasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa setiap frkasi menampilkan efek inotropik dan kronotropik negatif pada jantung katak yang terisolasi dan penurunan signifikan dalam tekanan darah sistolik dan denyut jantung pada tikus hipertensi. Selain itu, setiap frkasi pada dosis 100 mg/ml menunjukkan antagonisme kalsium pada ileum tikus dan

pada dosis 50 mg/ml dan 75 mg/ml menunjukkan Rho-kinase (ROCK-II) dan inhibisi *phosphodiesterase-5* (PDE-5). Aktivitas antihipertensi *C. Colebrookiamum* dapat memediasi terutama oleh aksi kolinergik dan mengikuti penghambatan ROCK-II dan PDE-5.

Liu dkk (2015), menunjukkan bahwa empat senyawa 15-*dehydrocyrtophyllone A*, *Verbascoside*, *Leucosceptoside* A, dan *Isoacteoside* diisolasi dari akar kering *C. Bungei* menunjukkan efek penghambatan terhadap angiotensin converting enzim (ACE) dan glukosidasi. Di antara mereka, 5-*delhydrocyrtophyllone A* menunjukkan efek penghambatan terhadap ACE dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 42.7 µM, sedangkan ketiga glikosid phenylethanoid : *Verbascoside*, *Leucosceotoside*, dan *Isoacteoside*, menunjukkan efek penghambatan yang lebih kuat terhadap α-glukosidase dengan nilai IC<sub>50</sub> masing-masing 0.5 mM, 0.7 nM, dan 0.1 mM.

### 9) Aktivitas Anti-Diabetes

Bachhawat dkk (2011), melaporkan bahwa ekstrak metanol (100 mg/ml) dari akar *C. serratum* dievaluasi untuk aktivitas α-glukosida menggunakan uji enzim. Ekstrak tidak ditemukan efektif secara signifikan (tingkat penghambatan 32,3%, dengan nilai IC<sub>50</sub> 265 µg/ml), dan mungkin memerlukan dosis yang lebih tinggi untuk menghasilkan efek.

### 10) Aktivitas Anti-Obesitas

Obesitas awalnya dianggap sebagai masalah di negara maju, kini telah menjadi penyakit di seluruh dunia, karena peningkatan prevalensi di negara-negara berkembang serta negara-negara maju. Dampak ekstrak metanol dari *C. Phlomidis* pada penurunan berat badan dalam memberi makan diet tinggi lemak yang diinduksi obesitas pada tikus betina. Studi menunjukkan bahwa ekstrak metanol *C.phlomidis* pada dosis 200 dan 400 mg/kg secara signifikan mengurangi konsumsi makanan, berat badan, indeks adipositas, aktivitas lipase pankreas, diameter adipositas, glukosa, insulin, serum glutamik oxaloacetik transminase (SGOT), serum glutamin pirin transminase (SGPT), trigleserida (TG), kolesterol total (TC), kadar lipoprotein (LDL) berdensitas rendah pada tikus betina yang diinduksi obesitas, dan nilai LD<sub>50</sub> dibuat menjadi lebih dari 2000 mg/kg.

Jadeja dkk (2011), melaporkan bahwa ekstrak dari daun *C.glandulosum* menunjukkan efek anti-adipogenik yang signifikan dengan mengurangi adipogenesis, akumulasi TG, pelepasan leptin dan aktivitas gliseraldelyde-fosfat delydrogenase (G3PDH) bersama dengan pelepasan gliserol yang lebih tinggi tanpa secara signifikan mengubah viabilitas 3T3L1 pra-adiposit secara *in vitro*. Penelitian ini merupakan penelitian mendalam terhadap ekstrak *C.glandulonum* dan perannya dalam mencegah adiposit dengan regulasi dan viskositas yang berbeda dari PPAR $\gamma$ -2 dan ekspresi leptin. Penelitian ini memvalidasi klaim terapi tradisional penggunaan ekstrak *C.glandulosum* dalam mengendalikan obesitas.

## II.2 Inflamasi

### II.2.1 Definisi

Inflamasi adalah suatu proses sistem pertahanan tubuh terhadap respon berbahaya, yang akan berakhir pada homeostasis. Inflamasi yang tidak terkontrol menyebabkan respon reversible seperti demam, nyeri, kemerahan, dan pembengkakan. Pada jalur eikosanoid, sebagian besar menggunakan asal lemak dan asam arakhidonat yang merupakan prekursor pembentukan prostaglandin dan leukotrien. Pada jumlah yang sedikit, asam arakhidonat akan tersimpan dalam bentuk ester di membran fosfolipid. Apabila dalam keadaan banyak akibat rangsangan ekstrim seperti trauma, maka eikosanoid akan disintesis secara berlebihan menjadi asam arakhidonat, dan berlanjut ke tahap pembentukan endoperoksida siklik, PGG<sub>2</sub>, dan PGH<sub>2</sub> secara cepat (Whicher & Evans 1992).

Inflamasi merupakan upaya untuk menghilangkan pemicu terjadinya luka (misalnya infeksi) dan untuk mengawali terjadinya proses penyembuhan luka. Meskipun demikian, inflamasi yang bersifat progresif dapat menimbulkan penyakit-penyakit tertentu yang tidak diinginkan, seperti demam, periodonitis, atherosklerosis, rheumoid arthritis, dan bahkan kanker. Hal-hal yang tidak diinginkan tersebut terjadi karena keluarnya enzim-enzim fagositosis dari sel-sel fagosit seperti *phagocyte oxydase*, *inducible nitric oxyde synthase*, dan *lysosomal protease* yang memproduksi senyawa-senyawa radikal bebas dan superoksida yang dapat menyebabkan luka pada jaringan sekitar (Abbas & Lichtman 2004).

Terdapat lima tanda utama (*cardinal signs*) yang umum muncul saat terjadinya inflamasi, yaitu nyeri (*dolor*), panas (*color*), kemerahan (*rubor*), bengkak (*tumor*), dan hilangnya fungsi (*functio laesa*). Terjadinya panas dan kemerahan disebabkan oleh meningkatnya aliran darah, bengkak disebabkan oleh akumulasi cairan, nyeri disebabkan oleh pelepasan berbagai senyawa yang merangsang syaraf nyeri, dan hilangnya fungsi dipengaruhi oleh bermacam-macam sebab (Chandrasoma & Taylor 2005).

### II.2.2 Klasifikasi

Secara umum inflamasi dibagi menjadi :

- 1) Inflamasi akut, yaitu inflamasi dengan durasi relatif lebih singkat bertahan untuk beberapa jam atau satu sampai dua hari. Karakteristik utamanya berupa adanya cairan eksudat dari protein plasma (udem) dan migrasi dari leukosit, terutama neutrofil.
- 2) Inflamasi kronis, yaitu inflamasi dengan durasi lebih lama. Secara histologi dihubungkan dengan adanya limfosit dan makrofag, serta proliferasi pembuluh darah dan jaringan ikat (Pringgoutomo, 2002).

Berdasarkan pada karakteristik utama inflamasi akut dan kronik, dapat dibedakan menurut jenis eksudat dan variabel morfologi :

- 1) Inflamasi serosa, yaitu inflamasi yang ditandai dengan melimpahnya cairan encer, tergantung dari daerah luka dapat berasal dari serum darah atau sekresi sel mesotel yang terhubung dengan peritoneum, pleura dan perikardium.  
Contoh : luka bakar dan efusi pleura.
- 2) Inflamasi kataral, yaitu inflamasi permukaan ditandai dengan meningkatnya sekresi mukus pada mukosa, terutama pada saluran pernafasan. Inflamasi ini terlihat pada penyakit flu dan berbagai bentuk kolitis.
- 3) Inflamasi fibrinosa, yaitu inflamasi yang menghasilkan eksudat protein plasma dalam jumlah besar, termasuk fibrinogen dan endapan fibrin. Karakteristik utama, respon inflamasi melibatkan rongga-rongga tubuh seperti pleura, perikardium dan peritoneum.  
Contoh : pneumonia, karditis rheumatika.
- 4) Inflamasi supuratif / purulenta, yaitu inflamasi yang ditandai dengan adanya produksi nanah dalam jumlah besar atau eksudat purulen, biasanya terjadi pada infeksi bakteri piogenik.



Contoh : pleuritis supuratif, peritonitis supuratif.

- 5) Ulser, yaitu efek lokal pada permukaan organ atau jaringan yang dihasilkan oleh terkelupasnya jaringan nekrotik terinflamasi (Robbins dkk, 2007).

### II.2.3 Penyebab Inflamasi

Inflamasi disebabkan oleh beberapa faktor, yaitu :

- 1) Mikroorganisme (infeksi bakteri, virus, jamur, protozoa, dan ragi).
- 2) Iritan kimia (asam dan basa kuat, fenol, racun).
- 3) Iritan fisika (trauma, benda asing, dingin, arus listrik, radiasi).
- 4) Jaringan nekrosis.
- 5) Semua jenis reaksi imunologi : hipersensitifitas, kompleks imun, autoimun (Rubbin, 1998).

### II.2.4 Mediator Inflamasi

Mediator-mediato yang dihasilkan dalam proses inflamasi dapat digolongkan menjadi dua, yaitu humoral dan seluler. Humoral antara lain senyawa amina : histamin, serotonin, bradikinin, prostaglandin, protein peptida, kinin, komponen-komponen aktif, eosinofil *chemotactic factor of anaphylaxis* (ECF-A). Seluler antara lain sel mast, leukosit polimorfonuklear, leukosit polimorfunuklear eosinofilik, sel mononuklear, limfosit (limfosit T dan limfosit B) dan monosit (Melmon,1997).

#### 1) Histamin

Histamin muncul karena sel mast mendapatkan rangsangan. Sel mast banyak terdapat pada hidung, mulut, dan kaki, permukaan kulit tubuh dan pembuluh darah. Histamin biasanya dalam keadaan tidak aktif, tetapi ketika terdapat rangsangan pada sel mast, histamin mulai dilepaskan. Edema yang disebabkan oleh histamin terjadi karena efek amine pada reseptor H<sub>1</sub> pada pembuluh darah sirkulasi mikro, khususnya pada pembuluh darah pasca kapiler (Katzung, 2007).

Histamin mempunyai empat reseptor, yaitu H<sub>1</sub>, H<sub>2</sub>, H<sub>3</sub>, dan H<sub>4</sub>. Reseptor H<sub>1</sub> menyebabkan meningkatnya permeabilitas vaskular, vasodilatasi, kontaksi otot polos dinding pembuluh darah. Rangsangan pada H<sub>2</sub> dapat menstimulasi sekresi asam lambung, jantung, dan relaksasi otot uterus. Reseptor H<sub>3</sub> mempunyai peran penting dalam menghambat neurotransmitter pada sistem saraf pusat (Rang & Dale, 2007).

Histamin adalah senyawa amin yang disimpan dalam sel mast dan granula basofil. Konsentrasi histamin paling tinggi antara lain terdapat pada paru-paru, kulit, dan mukosa gastrointestinal (Rang & Dale, 2007).

## **2) Serotonin (5-hidroksitriptamin)**

Serotonin atau 5-hydroxytryptamine (5 HT), merupakan vasokonstriktor dalam proses inflamasi. Serotonin dengan konsentrasi tinggi dalam tubuh terdapat pada enterokromatin saluran gastrointestinal. Reseptor 5HT terbagi tiga bagian yaitu 5HT<sub>1</sub>, 5HT<sub>2</sub>, dan 5HT<sub>3</sub>. Serotonin terdapat juga dalam luka jaringan yang biasa terdapat eksudat selama satu jam setelah luk terjadi (Katzung, 2001).

Efek serotonin juga menimbulkan efek yang pada permeabilitas vaskuler, dan merangsang terjadinya inflamasi, dalam hal ini serotonin tidak memiliki peran langsung dalam proses inflamasi, kecuali diperantarai oleh mediator lainnya (Melmon, 1997). Serotonin merupakan vasokonstriktor kuat dalam proses inflamasi, kecuali pada area otot skelet dan jantung. Serotonin juga dijumpai pada berbagai luka jaringan, dan dapat ditemukan dalam eksudat selama satu jam setelah kerusakan jaringan terjadi. Serotonin juga mengakibatkan agregasi trombosi melalui reseptor 5-HT<sub>2</sub> (Katzung, 2007).

## **3) Bradikinin**

Bradikinin memainkan peran penting dalam proses inflamasi. Bradikinin dapat menyebabkan kemerahan, panas setempat, bengkak dan nyeri. Bradikinin menyebabkan vasodilatasi yang hebat di dalam beberapa rangkaian vaskular, termasuk jantung, ginjal, otot rangka, usus, dan hepar. Dalam hal ini, bradikinin 10 kali lebih kuat dari pada histamin (Katzung, 2001).

## **4) Kinin**

Kinin adalah polipeptida yang berasal dari kininogen dengan perantaraan reaksi enzimatik, kininogen diubah menjadi kinin. Kininogen terikat pada fraksi protein plasma alfa globulin. Kininogen dalam plasma terdapat dalam bentuk inaktif, tetapi selama proses inflamasi, kininogen akan teraktivasi yang menyebabkan perubahan kininogen menjadi kinin melalui reaksi enzimatik. Injeksi kinin ke dalam kulit dapat

menyebabkan inflamasi dan peningkatan permeabilitas secara lambat (Rang & Dale, 2007).

### 5) Eikosanoid

Eikosanoid adalah gugus asam lemak tidak jenuh dengan struktur 20 atom karbon, dan memiliki 4 ikatan rangkap. Eikosanoid yang berperan aktif dalam proses inflamasi adalah prostaglandin, prostasiklin, tromboksan dan leukotrien. Sintesis eikosanoid terjadi apabila asam arakhidonat dilepaskan dari membran fosfolipid oleh stimuli dan dapat mengakibatkan bermacam-macam efek biologik dengan spektrum luas (Katzung, 2007).

### 6) Prostaglandin

Prostaglandin menyebabkan relaksasi otot polos dan mencegah tukak lambung. Prostasiklin sebagian besar disintesis oleh endotel vaskular, merupakan vasodilator kuat dan menghambat agregasi platelet (Katzung, 2007). Prostaglandin adalah asam lemak tak jenuh yang dihidrolisasi dari asam arakhidonat. Senyawa ini sebenarnya berasal dari asam arakhidonat (asam poli tak jenuh C-20) yang kemudian diubah oleh *Enzm Cyclo Oxygenase* menjadi asam endoperoksida yang memuat prostaglandin sebagai komponennya. Pada awalnya diduga sintesanya hanya di dalam prostat (prostaglandin), tetapi ternyata senyawa ini biasanya banyak dibentuk lokal di seluruh tubuh, misalnya di dinding lambung, ginjal, rahim, dan paru-paru. Prostaglandin bertanggung jawab untuk sebagian besar gejala inflamasi (Tan & Rahardja, 2007).

Prostaglandin dikenal ada 3 kelompok :

a) Prostaglandin A sampai F (PGA-PGF)

Prostaglandin ini menyebabkan vasodilatasi dan peningkatan permeabilitas dinding pembuluh darah dan membran sinovial. Selain itu reseptor nyeri juga disintesis hingga efek dari mediator lain (histamin, bradikinin, serotonin dan lain-lain) diperkuat.

b) Prostasiklin (PGI<sub>2</sub>)

Prostasiklin dibentuk terutama di dinding pembuluh darah. Prostasiklin berdaya vasodilatasi otot polos (bronkus, lambung, rahim, dan lain-lain), dan juga memiliki efek protektif terhadap mukosa lambung.

c) Tromboksan (TXA<sub>2</sub> dan TXB<sub>2</sub>)

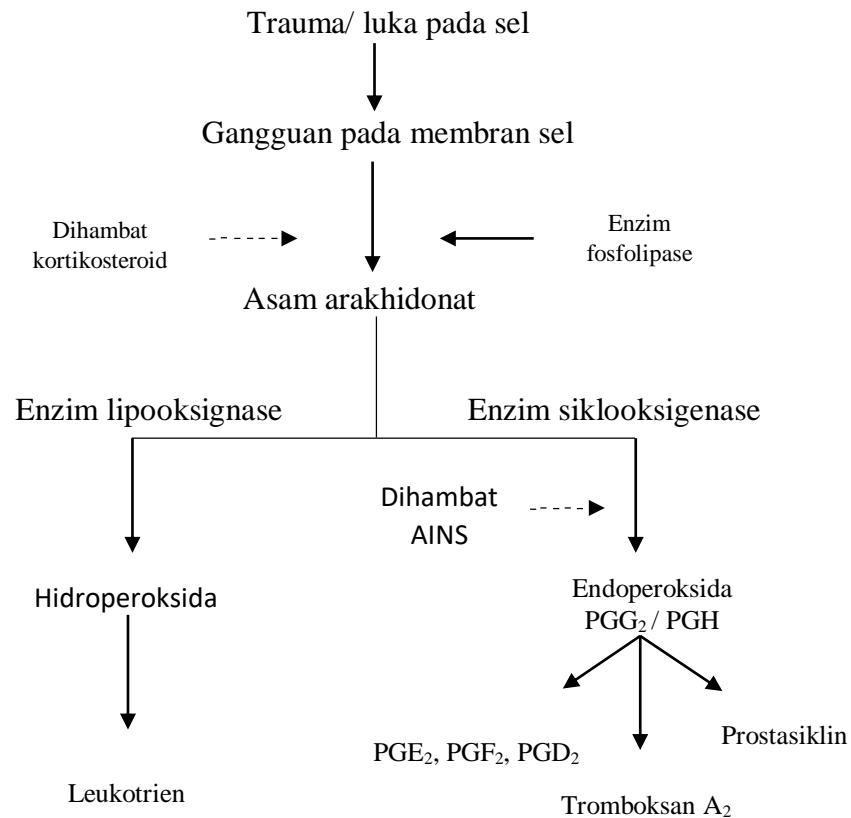
Tromboksan khusus dibentuk dalam trombosit, berdaya vasokonstriksi antara lain pada pembuluh darah jantung, dan menstimulasi agregasi trombosit dalam darah.

### **II.2.5 Mekanisme Inflamasi**

Mekanisme terjadinya inflamasi dimana jalur cyclooxygenase (COX) dari metabolisme arakhidonat menghasilkan prostaglandin-prostaglandin yang mempunyai beberapa efek pada pembuluh darah, ujung saraf, dan pada sel-sel yang terlibat dalam inflamasi. Penemuan isoform-isoform COX (COX-1 dan COX-2) menjurus pada konsep bahwa isoform COX-1 yang konstitutif (bersifat pokok, selalu ada) cenderung menjadi homeostatis dalam fungsinya, sedangkan COX-2 diinduksi selama inflamasi dan digunakan untuk memfasilitasi respons inflamasi. Maka dari itu, penghambatan COX-2 yang sangat selektif telah dipasarkan dengan asumsi bahwa penghambat-penghambat selektif itu akan lebih aman dibandingkan dengan penghambatan COX-1 yang nonselektif, tetapi tentunya tanpa kehilangan kemanjurannya (Katzung, 2002).

Membran sel mengalami kerusakan oleh suatu rangsangan kimia, fisika, atau mekanis, maka enzim fosfolipase diaktifkan untuk mengubah fosfolipida menjadi asam arakhidoat. Kemudian asam lemak tak jenuh ini sebagian diubah oleh enzim siklooksigenase menjadi endoperoksida dan seterusnya menjadi zat-zat prostaglandin (Tjay & Rahardja, 2007).

Siklooksigenase terdiri dari dua isoenzim yaitu COX-1 dan COX-2. COX-1 berperan pada pemeliharaan fungsi ginjal, homeostasis vaskuler dan melindungi lambung dengan cara membentuk bikarbonat dan lendir, serta menghambat produksi asam. COX-2 dalam keadaan normal tidak terdapat di dalam jaringan, tetapi dibentuk selama proses inflamasi oleh sel-sel inflamasi dan kadarnya dalam sel meningkat sampai 80 kali. Bagian lain dari arakhidonat diubah oleh enzim lipooksigenase menjadi zat-zat leukotrien. Baik prostaglandin maupun leukotrien bertanggung jawab bagi sebagian besar dari gejala inflamasi. Menurut perkiraan penghambatan COX-2 ini yang memberikan NSAID efek antiinflamasinya (Tjay & Rahardja 2007). Obat-obat inflamasi seperti obat-obat antiinflamasi nonsteroid dan steroid menghambat mediator kimia sehingga mengurangi proses inflamasi (Kee & Hayes, 1996).



Gambar. II. 2 : Mekanisme Terjadinya Inflamasi. (Gunawan, 2007).

### 1. Asam Arakhidonat

Asam arakhidonat adalah prekursor eikosanoid yang paling penting dan terbanyak, merupakan asam lemak 20 karbon (C20) yang mengandung empat ikatan ganda dimulai pada posisi omega-6 untuk menghasilkan asam 5,8,11,14-eikosatetraenoat (dinyatakan dengan c20: 4-6). Agar sintesis eikosatetraenoat dapat terjadi, mula-mula asam arakhidonat harus dilepaskan atau dimobilisasi dari fosfolipid membran oleh satu atau lebih dari tipe fosfolipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>). Setidaknya tiga fosfolipase memperantai pelepasan arakhidonat dari lipid membra: PLA<sub>2</sub> sitosol, PLA<sub>2</sub> sekretori, dan PLA<sub>a</sub> yang tidak bergantung pada kalsium. Selain itu, arakhidonat juga dilepaskan oleh kombinasi fosfolipase C dan lipase digliserida. (Katzung, 2010). Setelah dimobilisasi, asam arakhidonat dioksidasi melalui empat jalur terpisah: jalur siklooksigenase (COX), lipooksigenase, epooksigenase P450, dan juga isoprostan (Katzung, 2010). Sebagai salah satu asam lemak esensial bagi tubuh, asam arakhidonat sangat dibutuhkan bagi sebagian besar mamalia. Metabolit-metabolit dari asam arakhidonat yang biasa disebut eikosanoid mempunyai peran

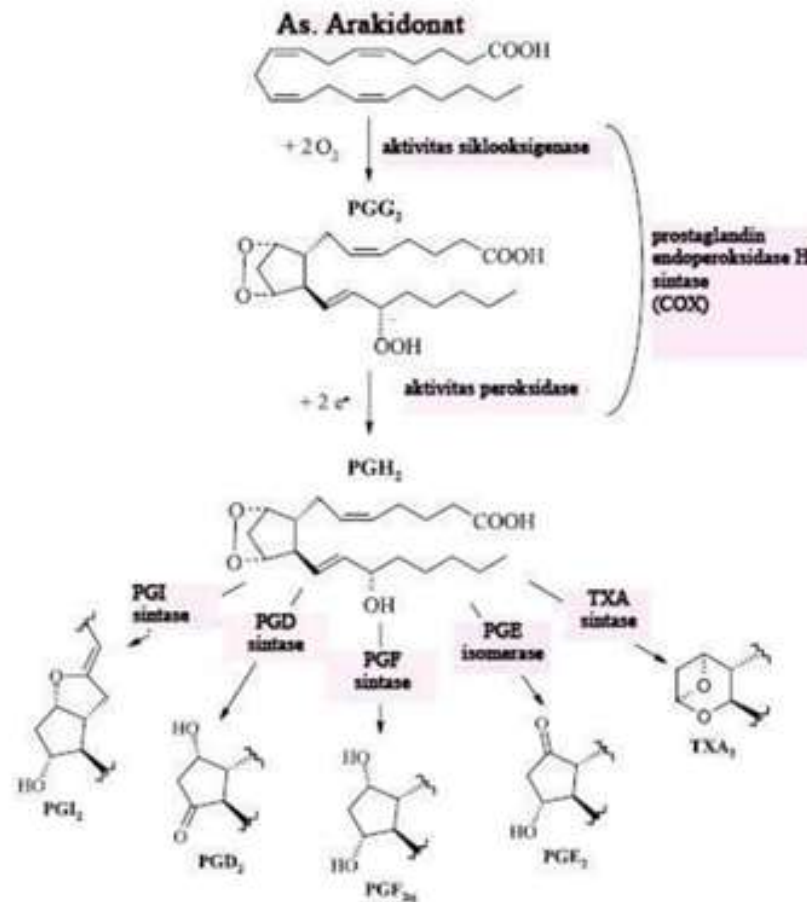
penting dalam berbagai jalur *signaling* seluler yang berhubungan dengan fungsi fisiologis maupun patologis (Hyde & Missailidis, 2009).

## **2. Enzim Fosfolipase (PL)**

Fosfolipase (PL) adalah sekelompok enzim yang memiliki kemampuan untuk menghidrolisis suatu substrat yang berupa fosfolipid. Fosfolipase memiliki bermacam-macam fungsi pada sisi aktifnya. Masing-masing berbeda fungsi dan cara kerjanya, serta mereka juga yang meregulasi. Saat ini, fosfolipase telah banyak dimurnikan, dikarakterisasi dan kristal penuhnya telah dielusidai. Sejauh ini fungsi seluler dari jenis fosfolipase tersebut telah diperiksa menggunakan bermacam-macam teknik molekuler termasuk didalamnya penyisipan gen, *gen knockouts*, dan strategi antisense. Mekanisme ini akan terhambat aktivitasnya apabila ada inhibitor yang mirip dengan substrat, seperti kortikosteroid akan menghambat fosfolipase A<sub>2</sub> (Blackwell, dkk. 1978).

## **3. Enzim Siklooksigenase (COX)**

Enzim siklooksigenase (COX) merupakan enzim dwi fungsi yang terikat pada membran yang berperan mengkatalisis dua tahap penting dalam pembentukan prostonoid, yaitu siklooksigenase dan peroksidasi. Tahap siklooksigenase merupakan tahap dimana COX melakukan proses siklisasi dan penambahan dua molekul oksigen terhadap asam arakhidonat untuk membentuk prostaglandin G<sub>2</sub> (PGG<sub>2</sub>). Sedangkan tahap peroksidasi merupakan tahap reduksi terhadap PGG<sub>2</sub> menjadi senyawa endoperoksida yang tidak stabil yang disebut prostaglandin H<sub>2</sub> (PGH<sub>2</sub>). PGH<sub>2</sub> merupakan senyawa intermediet dalam biosintesis prostonoid-prostonoid aktif seperti PGE<sub>2</sub>, PGF<sub>2</sub>, PGD<sub>2</sub>, PGI<sub>2</sub>, dan tromboksan-A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) yang dilakukan oleh enzim sintase dan isomerase yang spesifik untuk setiap produk (Claria, 2003).



Gambar.II.3. Jalur sintesis prostaglandin oleh enzim COX (Charlier & Michaux, 2003).

Protonoid-protonoid yang dihasilkan melalui jalur COX tersebut mempunyai peran dalam mengatur berjalannya fungsi-fungsi fisiologis seperti perlindungan terhadap mukosa lambung, agregase platelet, dan pengaturan fungsi ginjal. Selain itu protonoid juga mempunyai fungsi patologi seperti saat terjadinya inflamasi, nyeri dan demam.

Sisi aktif COX tersusun atas kanal hidrofobik yang merupakan tempat berinteraksinya NSAID (*non-steroidal anti-inflammatory drugs*). Sisi aktif asam arakhidonat berada pada sisi atas kanal, mulai dari Arg120 sampai Try385. Ser530 terletak ditengah kanal dan dapat menghasilkan ukuran sisi aktif yang lebihbesar (sekitar 20%) dan lebih luas. Pertukaran valin pada posisi 523 di COX-2 relatif lebih besar dibandingkan isoleusin (Ile) pada COX-1 pada posisi yang sama, sehingga menyebabkan perubahan struktur. Modifikasi pada enzim COX-2 menghasilkan kantung tambahan pada sisi aktif yang kemudian dijadikan persyaratan pada semyawa-senyawa selektif COX-2 dan tidak terdapat pada COX-1. Penukaran

Ile434 menjadi valin pada Cox-2 memungkinkan residu Phe518 untuk bebas dan meningkatkan akses ke kantung hidrofobik. Selain itu residu arginine juga menggantikan histidine di COX-1 yang dapat berinteraksi dengan bagian polar. Perbedaan antara sisi aktif COX memiliki implikasi terhadap profil selektivitas inhibitor.

## **II.3 Penggunaan Komputer di Bidang Penemuan Obat**

### **II.3.1 *Computer-aided Drug Design (CADD)***

*Computer-aided Drug Design (CADD)* adalah teknik-teknik yang digunakan untuk menemukan, merancang, dan mengoptimasi obat-obatan baru yang efektif dan aman dengan bantuan komputer. Dalam bidang biomedik, CADD digunakan untuk memilih senyawa penuntun, mengoptimasi profil absorpsi, distribusi, metabolisme, eliminasi dan toksisitas dan mengurangi masalah-masalah yang berkaitan dengan keamanan penggunaan obat (Rahman dkk, 2013).

### **II.3.2 *Skrining Virtual***

Skrining virtual adalah suatu proses evaluasi terhadap kumpulan data senyawa yang menggunakan bantuan program komputer (Walters dkk, 1998). Tujuan dari skrining virtual adalah untuk menemukan dan mengidentifikasi senyawa baru (novel) dan mempunyai aktivitas potensial terhadap target yang dituju. Oleh karena itu, salah satu keberhasilan skrining virtual ditunjukkan dengan ditemukannya senyawa-senyawa dengan kerangka struktur yang baru dan menarik. Hit rate yang rendah yang terdiri atas senyawa-senyawa dengan kerangka struktur yang baru dan menarik lebih disukai daripada hit rate yang tinggi tetapi berisi senyawa-senyawa dengan kerangka struktur yang telah diketahui (Irwin 2008).

### **II.3.3 *Docking Molekuler ( Penambatan Molekul )***

Docking molekuler adalah suatu metode kimia secara *in silico* yang sering muncul dalam desain dan penemuan obat. Sebuah upaya dalam pencarian senyawa dengan biaya rendah dan waktu yang lebih baik. Metode kimia komputasi terfokus kepada pengembangan obat yang cepat dan efisien secara docking molekuler untuk penggambarannya secara virtual. Metode docking molekuler dapat digunakan untuk melakukan skrining secara *in silico* (virtual) terhadap senyawa-senyawa yang diperkirakan memiliki afinitas tinggi terhadap suatu protein target sebelum senyawa



tersebut disintesis dan diuji secara eksperimental di laboratorium, sehingga dapat mengurangi ketidakefisienan biaya, waktu, dan tenaga yang digunakan. proses pencarian ligan yang cocok pada sisi aktif, baik secara geometrik, maupun dengan energi, secara komputasional (Leach et al 2006; Setiajid 2012).

Metode docking molekuler digunakan dalam pencarian ruang energi yang dari konformasi protein-ligand dan menilai hasil geometris dengan melihat energi ikatannya (energy binding) (Bikadi & Hazai 2009). Metode docking secara garis besar digunakan untuk studi interaksi protein-ligan dan penemuan obat, serta pengembangannya. Secara khusus, proses dimulai dengan target yang diketahui strukturnya seperti struktur kristalografi dari suatu enzim dari obat yang diinginkan. Docking digunakan untuk memprediksi konformasi ikatan dan energi bebas ikatan dari molekul kecil pada target. Penelitian docking tunggal sangat berguna untuk mengeksplorasi fungsi dari target, screenig virtual, sebagai penyusun senyawa yang di docking dan diurutkan, dan mungkin juga digunakan untuk identifikasi inhibitor baru dalam pengembangan obat (Forli dkk, 2016).

Terdapat dua komponen penting di dalam setiap perangkat lunak docking, yaitu algoritma docking dan scoring function. Algoritma docking berfungsi untuk mengeksplorasi konformasi ruang dan ligan atau target protein, sedangkan scoring function berfungsi untuk mengevaluasi pose dengan memperhitungkan kekuatan afinitas antara ligan dengan protein dan kemudian mengarahkan eksplorasi pose ligan kepada pose yang memiliki afinitas lebih kuat (Moitessier dkk, 2008). Penerapan dan simulasi docking molekuler digunakan untuk mempelajari hampir semua jenis makromolekul (misalnya, protein, asam nukleat, lipid, karbohidrat) dan fungsi-fungsi yang diperantarai oleh biomolekul seluler seperti sinaptik, fusi vesikel, translasi ribosom, mekanisme aksi membran, pergerakan protein dan bahkan lipatan protein (McCarmon, 1977 dalam Ganoth 2013). Akar simulasi MD dimulai dengan gagasan bahwa geometri molekul, energi, dan berbagai properti molekul dapat dihitung dari model yang mirip yang mencerminkan energi fisika dasar. Suatu molekul direpresentasikan sebagai suatu sistem mekanik di mana partikel-partikel, yang merupakan atomnya dihubungkan oleh pegas berupa ikatan antara atom-atom. Untuk mengasumsikan konformasi molekul dalam ruang tiga dimensi, molekul dapat bergetar, berputar, dan bereaksi aktif terhadap gaya antarmolekul dan intramolekul yang

diberikan padanya. Kekuatan antara sistem atom meniru sistem asli dan menjadi dasar dari potensi interaksi, yang disebut sebagai medan gaya. Medan gaya adalah kumpulan parameter fisik yang mewakili interaksi terikat dan tidak terikat dalam system mencakup sejumlah istilah harmonik dari hukum Hooke untuk panjang ikatan dan penyimpangan sudut ikatan dari nilai keseimbangan referensi, ekspansi kosinus untuk sudut torsi, serta istilah Lennard–Jones dan Coulomb untuk interaksi non-ikatan. Dengan menggunakan fungsi potensial ini, gaya-gaya pada semua atom dalam sistem dihitung dan digunakan untuk menyelesaikan persamaan Newtonian klasik tentang gerak (Ganoth, 2013).

#### **II.3.4 Komponen dasar penambatan molekul**

Setiap program penambatan memiliki dua komponen penting: algoritma pencarian dan fungsi scoring energi (Leach dkk., 2006). Penelusuran algoritma, mulai dari penelusuran konformasi gaya kasar atau algoritma berbasis stokastik lebih efektif dan efisien. Secara umum, pengambilan sampel dari berbagai kemungkinan posisi akan mengarah ke probabilitas yang lebih tinggi untuk menemukan struktur pengikatan yang benar. Banyak posisi yang dihasilkan dari langkah pencarian, untuk itu diperlukan suatu sistem untuk membagi sesuai dengan kemungkinan ikatan; energetik, afinitas yang mengikat, atau beberapa matriks lainnya. Fungsi penilaian evaluasi struktur ini tidak hanya akurat dalam menghitung energi pose, tetapi juga efisien untuk menentukan peringkat sejumlah besar struktur dalam waktu yang tepat (Jain, 2006). Nilai ikatan atau energi yang dihasilkan dari berbagai fungsi dapat didasarkan pada prinsip medan gaya mekanika molekul, data empiris (fungsi yang cocok untuk data eksperimen), semiempiris (kombinasi dari keduanya), atau berdasarkan pengetahuan (statistik dan heuristik). Tingginya tingkat kesulitan dalam memprediksi energi ikatan, afinitas relatif efektif untuk memprediksi kelompok senyawa. (Saxena, 2009).

#### **II.3.5 Penyiapan molekul**

Ligan yang dipilih memengaruhi bagaimana langkah pencarian harus dilakukan. Secara umum, protokol penambatan dapat dibagi menjadi pemilihan protein molekul kecil dan protein molekul besar. Molekul yang lebih kecil (misalnya, obat) didefinisikan sebagai ligan dan protein yang lebih besar didefinisikan sebagai makromolekul (Saxena, 2009).

### 1) Makromolekul

Terlepas dari ligan, protein makromolekul biasanya ditangani dengan cara yang sama. Ukuran protein yang sangat kecil dan derajat kebebasan potensial biasanya menandakan bahwa pengambilan sampel jumlah besar tidak mungkin dilakukan. Banyak program memiliki kemampuan pengambilan sampel yang terbatas, terutama untuk rantai samping melalui penggunaan perpustakaan rotamer, tetapi mereka cenderung tidak cukup mencontoh konformasi *backbone*. Serangkaian *snapshot* akan memberikan algoritma pencarian penambatan struktur awal yang berbeda dari mana untuk sampel, dan ini dapat membantu dalam representasi holistik yang lebih baik dari ruang konformasi. Format, teknis, dan keadaan muatan makromolekul sangat penting dan perlu dipertimbangkan secara menyeluruh karena sering menjadi kekuatan pendorong banyak interaksi intermolekul. Informasi eksperimental, seperti pH atau ketergantungan garam dapat membantu menentukan apa yang harus ditetapkan oleh status tagihan grup tertentu. Beberapa program memerlukan tangan yang aktif dalam membuat teka-teki ini. Mungkin ada langkah lain untuk mempersiapkan makromolekul, seperti mendefinisikan wilayah fleksibel dan obligasi yang dapat diputar, yang penting untuk dipertimbangkan. (Ganoth, 2013).

### 2) Protein ligan dan molekul kecil ligan

Ligan protein ini diperlakukan dengan cara yang sama seperti makromolekul (Vajda dan Kozakov, 2009). Obat-obatan dan peptida kecil cenderung memiliki derajat kebebasan yang lebih terbatas dan oleh karena itu dapat dilakukan pendekatan yang lebih sistematis. Semakin sedikit ikatan yang dapat diputar, semakin mudah untuk sampel. Sama seperti untuk makromolekul, elektrostatik pada ligan sangat penting dalam mendorong interaksi, dan jika tidak benar diwakili, hasilnya bisa sangat terpengaruh (Saxena, 2009).

### II.3.6 Prediksi Toksisitas

Secara tradisional pencarian obat baru terkonsentrasi pada aktivitas yang diperlukan, dengan mengesampingkan pertimbangan ketersediaan hayati dan toksisitas. Sebagai contoh ada obat yang harus ditarik, karena toksisitas yang tidak dapat diterima, dalam uji klinis dan bahkan setelah mencapai pasar (Dearden, 2003). Pengujian metabolisme obat, farmakokinetik dan toksisitas saat ini dilakukan lebih awal, yaitu sebelum

keputusan diambil untuk mengevaluasi senyawa secara klinik (Waterbeemd dan Gifford, 2003).

Toksisitas merupakan ukuran yang menunjukkan efek yang tidak diinginkan atau merugikan dari suatu senyawa. Prediksi toksisitas secara *in silico* merupakan pengujian toksisitas secara komputasi dengan menggunakan aplikasi komputer untuk menganalisis, memvisualisasikan dan memprediksi toksisitas dari suatu senyawa. Tujuan dilakukan prediksi toksisitas secara *in silico* antara lain untuk meminimalisir biaya, waktu dan dapat memprediksi toksisitas sebelum disintesis (Hardjono, 2015).

Sebelum berkembangnya prediksi toksisitas secara *in silico*, studi toksisitas dilakukan menggunakan hewan percobaan namun studi ini mempunyai keterbatasan yakni waktu pengujian lama, dana yang diperlukan besar, adanya masalah tentang etika dalam penggunaan hewan sebagai bahan uji dan masalah lainnya. Sehingga untuk membantu keterbatasan tersebut dilakukan prediksi toksisitas secara *in silico* (Zubaidi, 2012). Prediksi toksisitas dapat dilakukan menggunakan beberapa aplikasi antara lain Toxtree, ADMET Predictor dan Pre-ADMET berbasis web (Pratiwi, 2016). Prediksi toksisitas yang dilakukan meliputi tes Ames, tes karsinogenik dan toksisitas terhadap jantung dengan menggunakan Pre-ADMET berbasis web.