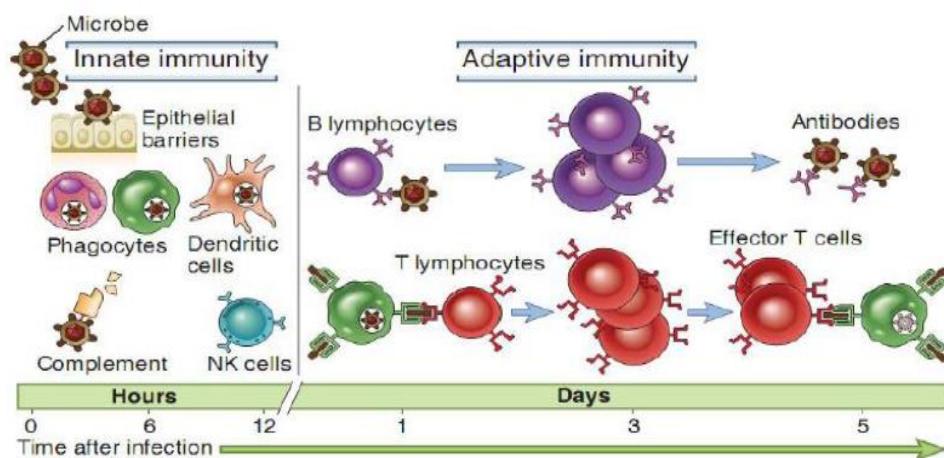


Bab II. Tinjauan Pustaka

II.1. Sistem Imun

Sistem imun merupakan molekul, sel, jaringan dan organ yang berfungsi untuk memberikan kekebalan atau perlindungan terhadap organisme asing. Sistem imun dibagi menjadi dua jenis, yaitu sistem imun alami (*nonspesifik* atau *innate immune*) dan sistem imun dapatan (*spesifik* atau *adaptive immune*)



Gambar 2. 1. Mekanisme Imunitas Alami dan Adaptif

(Abbas dkk., 2016)

II.1.1. Sistem Imun Alami (*non-spesifik*)

Sistem imun alami merupakan sistem imun yang berperan terdepan dalam menghadapi serangan dari berbagai mikroorganisme. Sistem imun ini tidak ditujukan terhadap mikroorganisme tertentu sehingga disebut *non-spesifik*. Komponen-komponen sistem imun *non-spesifik* terdiri dari pertahanan fisik dan mekanis, pertahanan biokimia, pertahanan humorai, pertahanan selular (Baratawidjaja, 2009).

a. Pertahanan Fisik dan Mekanis

Pertahanan fisik atau mekanis seperti kulit, selaput lendir, silia saluran pernapasan, batuk, dan bersin dapat mencegah beberapa patogen yang masuk kedalam tubuh. Pertahanan ini merupakan pertahanan dari tubuh.

b. Pertahanan Biokimia

Asam hidroklorik dalam cairan lambung, lisosim dalam keringat, Iudah, air mata, dan air susu dapat melindungi tubuh terhadap kuman gram positif dengan jalan menghancurkan peptidoglikan kurnan tersebut.

c. Pertahanan Humoral

Pertahanan humoral berada dalam sirkulasi seperti komplemen, interferon, CRP, dan kolektin. Komplemen terdiri atas sejumlah protein yang jika diaktifkan akan memberikan proteksi terhadap infeksi dan berperan dalam respon inflamasi. Komplemen dengan spectrum aktifitas yang luas diproduksi oleh hepatosit dan monosit (Togatorop dkk., 2021).

d. Pertahanan Selular

Dalam sistem imun alami terdapat pertahanan selular diantaranya sel fagosit, sel makrofag, sel NK, dan sel mast. Mekanisme pertahanan tubuh oleh sistem imun alami bersifat spontan, tidak spesifik, dan tidak berubah baik secara kualitas maupun kuantitas bahkan setelah paparan berulang dengan patogen yang sama sedangkan sistem imun dapatan muncul setelah proses mengenal oleh limfosit, yang tergantung pada paparan terhadap patogen sebelumnya. Adanya sistem imun kongenital memungkinkan respon imun dini untuk melindungi tubuh selama 4-5 hari yang merupakan waktu yang diperlukan untuk mengaktivasi limfosit (imunitas dapatan) (Abbas dkk., 2016). Komponen sistem imun terdiri dari 2 komponen yaitu komponen seluler dan komponen humoral

II.1.2. Sistem Imun Dapatkan (Spesifik)

Sistem imun spesifik mempunyai kemampuan untuk mengenal benda yang dianggap asing bagi tubuh. Benda asing yang pertama kali muncul kedalam tubuh akan dikenali oleh sistem imun spesifik. Bila sel sistem tersebut terpapar ulang oleh benda asing yang sama, yang akhirnya akan dikenal lebih cepat dan dihancurkan. Oleh karena itu sistem tersebut disebut spesifik.

Sistem imun spesifik dapat bekerja sendiri untuk menghancurkan benda asing yang berbahaya bagi badan, tetapi pada umumnya terjalin kerja sama yang baik antara antibodi, komplemen, fagosit dan antara sel T-makrofag. Oleh karena itu komplemen turut diaktifkan, respons imun yang terjadi sering disertai dengan reaksi inflamasi

II.1.3. Komponen Seluler

Komponen seluler dalam sistem imun ada 2 yaitu sel fagosit dan sel limfosit.

II.1.3.1 Sel Fagosit

Sel Fagosit terbagi menjadi 2 yaitu polimorfonuklear dan mononuclear

a. Polimorfonuklear

Merupakan leukosit yang paling banyak dalam darah, berjumlah 4000-10.000/ μ L. Pada respon terhadap infeksi, produksi neutrofil dari sumsum tulang meningkat cepat dan jumlahnya meningkat hingga 20.000/ μ L darah. Ada 3 jenis polimorfonuklear yaitu sel neutrofil, eosofil, dan basophil.

b. Neutrofil

Neutrofil merupakan tipe sel utama yang memberikan respon terhadap infeksi dan merupakan sel yang dominan pada saat terjadi inflamasi akut. Eosofil merupakan sel yang terlibat dalam respon antiparasit dan infeksi alergi, infeksi parasit dan inflamasi kulit. Basofil merupakan granulosit yang hanya terdapat 0,4 - 1% yang ada dalam sel darah putih. Jumlah basophil dapat meningkat pada kasus leukimia pada beberapa respons alergi, pada pasien penderita inflamasi kronis dan pada pasien setelah terapi. Basofil berperan dalam inflamasi dan alergi (Playfair & Chain, 2012).

c. Mononuklear

Mononuklear dihasilkan oleh sel induk (*stem cell*) di dalam sumsum tulang kemudian berdiferensiasi menjadi premonosit-monosit-makrofag. Lalu bermigrasi dan menetap di jaringan, sel monosit dan menjadi makrofag. Sel makrofag berkembang, dan organelnya bertambah kompleks (Playfair & Chain, 2012).

II.1.3.2 Sel Limfosit

Limfosit merupakan sel yang memproduksi reseptor spesifik untuk antigen yang beragam yang terdistribusi secara klonal, limfosit merupakan mediator kunci imunitas adaptif. Sel limfosit naif berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi sel limfosit memori dan berbagai sel efektor yang mensekresi berbagai limfokin yang dapat berperan sebagai mediator dalam sistem imunitas. Limfokin ini berpengaruh pada aktivasi sel B, sel T, sel NK dan sel lain yang terlibat dalam respon imun (Abbas dkk., 2016).

Limfosit berperan dalam sistem imunitas tubuh karena berpengaruh terhadap respon imun. Limfosit ditemukan di darah dan limfe (cairan tak berwarna yang menghubungkan nodus limfatis di tubuh satu sama lain melalui aliran darah yang berada di pembuluh limfatis). Limfosit juga ditemukan pada organ limfoid seperti timus, nodus limfatis, limpa, dan apendiks (Prakoeswa, 2020).

a. Limfosit B

Merupakan sel yang mampu memproduksi antibodi, sel-sel yang memerantarai imunitas humoral sel B dan mengekspresikan antibody lalu membentuk membran yang berlaku sebagai reseptor yang mengenali antigen dan mengawali proses aktivasi sel. Antigen terlarut dan antigen permukaan mikroba serta sel-sel lainnya dapat berikatan dengan reseptor antigen limfosit B, yang diawali proses aktivasi sel B. Hal tersebut menyebabkan sekresi antibodi terlarut yang mempunyai spesifisitas antigen yang sama dengan reseptor membran sel B (Suardana, 2017).

b. Limfosit T

Limfosit T bertanggung jawab untuk imunitas seluler. Respon antigen dari sebagian besar limfosit T hanya mengenali fragmen-fragmen peptida khusus yang menyajikan molekul, yang disebut molekul *Major Histocompatibility Complex* (MHC), pada permukaan sel khusus yang disebut sel penyaji antigen (*antigen presenting cells* APC). Sel T CD4+ disebut sel T *helper* karena membantu sel limfosit B memproduksi antibodi dan membantu sel fagosit menghancurkan mikroba yang telah dimakan. Limfosit CD8+ disebut limfosit sitotoksik karena membunuh sel-sel yang mengandung mikroba intraseluler. Beberapa sel T CD4+ termasuk ke dalam kelompok khusus yang berfungsi mencegah atau membatasi respons imun disebut limfosit T regulator (Suardana, 2017).

c. Sel NK (Natural killer)

Sel NK adalah sumber penting IFN- γ , terutama ketika dirangsang dengan IL-12 dan IL-18. Selain itu, IFN- γ merupakan penambah aktivitas sel NK sitotoksik. Dengan demikian, sel-sel NK yang toksik pada defisiensi IFN- γ . Sebagai catatan, IFN- γ adalah penginduksi paling kuat dari protein pengikat IL-18, inhibitor signifikan IL-18. Dengan fungsi pengaturan ini, IFN γ menginduksi jalur umpan balik negatif dalam proses inflamasi, juga mempengaruhi produksi sel NK itu sendiri. Dalam sel B, IFN- γ bertindak langsung pada sekresi antibodi dengan mengatur perpindahan kelas Ig dari IgM ke isotipe hilir (Avau & Matthys, 2015). Sel NK mengenali sel yang terinfeksi dan memberikan respons terhadap interleukin-12 yang diproduksi oleh makrofag untuk membunuh sel mikroba dengan mensekresikan sitokin IFN- γ yang mengaktifkan makrofag untuk membunuh mikroba yang difagositosis (Abbas dkk., 2016).

II.1.4 Komponen Humoral

Komponen humoral dalam sistem imun ada tiga yaitu sitokin, antibodi, dan komplemen.

II.1.4.1 Sitokin

Sitokin merupakan polipeptida atau glikoprotein yang diproduksi dan disekresi oleh berbagai sel yang berperan dalam respons imun bawaan dan respon imun dapatkan sebagai respon terhadap antigen yang masuk kedalam tubuh (Soeroso, 2007)

II.1.4.2 Antibodi

Antibodi disebut juga *Imunoglobulin* (Ig). Antibodi terbuat dari sekumpulan protein yang sangat mirip, setiap protein ini mampu berikatan secara spesifik dengan sejumlah antigen yang sedikit berbeda, dengan spesifitas yang berlainan untuk setiap antigen. Antibodi dapat berikatan dengan dan menetralisir toksin bakteri dan beberapa virus secara langsung, tetapi antibodi juga bekerja dengan cara opsonisasi dan mengaktivasi komplemen pada permukaan patogen yang menyerang (Abbas dkk., 2016).

Molekul antibodi terdiri dari dua untaian, peptida pendek yang dikenal dengan *light chain*, *kappa*, dan *lambda* yang terdiri dari 230 asam amino, sedangkan yang terdiri dari untaian peptida panjang yang disebut *heavy chain* terdiri dari lima jenis yaitu igA, igE, igD, igG, dan igM (Baratawidjaja, 2009).

II.1.4.3 Komplemen

Komplemen merupakan sekumpulan protein yang ada dalam serum, yang jika teraktivasi akan menimbulkan efek inflamasi yang meluas, disertai juga dengan lisis bakteri dsb. Beberapa bakteri mengaktivasi komplemen secara langsung sedangkan bakteri lain dapat melakukan hal ini dengan bantuan antibodi (Abbas dkk., 2016). Komplemen merupakan terdiri dari sejumlah protein yang berperan dalam pertahanan hospes, baik dalam sistem imun nonspesifik maupun sistem imun spesifik. Aktivasi komplemen merupakan usaha tubuh untuk menghancurkan antigen asing. Komplemen merupakan salah satu sistem enzim serum yang berfungsi antara lain untuk lisis bakteri, oposonisasi yang meningkatkan fagositosis partikel antigen, mengikat reseptor komplemen spesifik pada sel sistem imun sehingga memicu fungsi sel spesifik untuk memproduksi antibodi (Baratawidjaja, 2009).

II.1.5 Respon imun

Tubuh akan memberikan rangsangan terhadap sel apabila ada zat yang masuk ke dalam tubuh dan dianggap asing oleh sel dan jaringan. Zat yang merangsang sistem imun disebut antigen atau imunogen dan prosesnya disebut dengan respon imun dan menghasilkan suatu zat yang disebut antibodi, dalam keadaan tertentu, sistem imun tidak dapat membedakan zat asing dari zat yang berasal dari tubuhnya sendiri, sehingga sel dalam

sistem imun membentuk antibodi terhadap jaringan tubuhnya sendiri. Hal tersebut disebut dengan Autoantibodi (Suardana, 2017).

Sistem imun bekerja dengan berbagai cara yang berbeda tanpa disadari. Tubuh akan menyadari sistem imun bekerja saat sistem imun memberikan respon dengan menimbulkan efek samping yang dapat dirasakan (Sudiono, 2014).

Ada dua jenis respon imun yaitu respon imun *non-spesifik* dan respon imun spesifik.

II.1.5.1 Respon imun *non-spesifik*

Respon imun *non-spesifik* merupakan imunitas bawaan yang dimana respon imun terhadap zat asing dapat terjadi walaupun belum pernah terpapar oleh zat tersebut. Imunitas nonspesifik berperan paling awal dalam pertahanan tubuh melawan mikroba patogen yaitu dengan cara menghalangi masuknya mikroba dan dengan cepat mengeliminasi mikroba yang masuk ke jaringan tubuh. Respon imun nonspesifik ini akan memberikan respon yang sama terhadap semua jenis agen yang masuk dan tidak memiliki kemampuan untuk mengenali agen tersebut meskipun sudah pernah terpapar sebelumnya (Suardana, 2017).

Reaksi utama sistem imun alami yaitu inflamasi dan pertahanan antivirus. Pertahanan imun alami terhadap virus intraselular diperantarai oleh sel *natural killer* (NK) yang membunuh sel yang terinfeksi virus dan sitokin yang disebut interferon yang menghambat replikasi virus di dalam sel inang. Inflamasi terdiri dari akumulasi dan aktivasi leukosit dan protein plasma pada lokasi infeksi atau kerusakan jaringan. Sel-sel dan protein tersebut bertindak bersama untuk membunuh terutama mikroba ekstraselular dan eliminasi jaringan yang rusak. Inflamasi merupakan suatu reaksi jaringan yang mengirimkan mediator-mediator pertahanan sel-inang dan protein dalam darah menuju lokasi infeksi dan kerusakan jaringan. Sel-sel dan protein tersebut bertindak untuk membunuh mikroba ekstraselular dan mengeliminasi jaringan yang rusak. Inflamasi merupakan suatu reaksi jaringan yang mengirimkan mediator-mediator pertahanan sel-inang dan protein dalam darah menuju lokasi infeksi dan jaringan yang rusak. Respon imun alami diatur oleh berbagai mekanisme yang dirancang untuk mencegah kerusakan jaringan yang berlebihan. Mekanisme regulasi tersebut termasuk produksi sitokin antiinflamasi oleh makrofag dan sel dendritik, termasuk interleukin-10 yang menghambat fungsi mikrobisida dan proinflamasi makrofag dan antagonis reseptor IL-1 yang menghambat kerja IL-1. Terdapat juga banyak mekanisme umpan balik dimana sinyal

yang merangsang produksi sitokin proinflamasi juga merangsang ekspresi penghambat sinyal sitokin (Abbas dkk., 2016).

II.1.5.2 Respon imun spesifik

Respon imun spesifik merupakan respon imun yang timbul akibat dari rangsangan antigen tertentu atau sebagai akibat tubuh pernah terpapar zat asing sebelumnya. Respon imun spesifik terdiri dari respon imun seluler dan respon imun humorai (Suardana, 2017). Respon imun seluler diperlukan untuk melawan mikroba yang berada di dalam sel seperti virus dan bakteri. Respon ini dimediasi oleh limfosit T (sel T) dan berperan mendukung penghancuran mikroba yang berada di dalam fagosit dan membunuh sel yang terinfeksi. Beberapa sel T juga berkontribusi dalam eradikasi mikroba ekstraseluler dengan merekrut leukosit yang menghancurkan patogen dan membantu sel B membuat antibodi yang efektif (Playfair & Chain, 2012).

Respon imun humorai akan melawan agen yang berada diluar sel. Respon ini dimediasi oleh serum antibodi, suatu protein yang di sekresikan oleh sel. Sel B berdiferensiasi menjadi satu klon sel plasma yang memproduksi dan melepaskan antibodi spesifik ke dalam darah serta membentuk klon sel B memori. Sel B menghasilkan antibodi yang spesifik untuk antigen tertentu. Antibodi ini berikatan dengan antigen membentuk suatu kompleks antigen-antibodi yang dapat mengaktifasi komplemen dan mengakibatkan hancurnya antigen tersebut (Baratawidjaja, 2009).

II.2. Immunomodulator

Imunomodulator merupakan obat yang dapat memperbaiki sistem imun yang fungsinya terganggu atau untuk menekan sistem imun yang berfungsi secara berlebihan (Handayani, 2010). Imunomodulator adalah komponen imunoterapi di mana respon imun diinduksi, diperkuat, dilemahkan, atau dicegah sesuai dengan tujuan terapeutik (Trung & An, 2018). Efek imunodulator dapat dilihat dari meningkatnya aktivitas sel-sel efektor seperti limfosit dan makrofag sehingga mampu memproduksi dan melepas sitokin, interlukin (IL)-1, IL-6, IL-12 dan *tumor necrosis factor alpha* (TNF α). Peran imunomodulator adalah memperbaiki sistem imun dengan cara stimulasi (imunostimulan) atau menormalkan reaksi imun yang abnormal (imunosupresan) (Handayani, 2010).

Imunostimulan atau imunostimulator merupakan senyawa yang mengaktifkan sistem imun tubuh, baik pada hewan ataupun manusia, dan dapat meningkatkan atau memperbaiki daya tahan tubuh terhadap berbagai macam infeksi virus dan bakteri. Secara

umum, imunostimulan menginduksi sintesis antibodi spesifik dan sitokin untuk pengobatan penyakit infeksi. Imunostimulan dapat dikelompokkan kedalam dua kelompok utama, yang pertama yaitu imunostimulan spesifik yang bekerja sebagai antigen untuk menstimulasi respon imun. Dan yang kedua yaitu imunostimulan non-spesifik yang tidak mempunyai sifat antigenik tetapi dapat meningkatkan respon imun terhadap antigen lain (Med dkk., 2020).

Imunosupresan merupakan golongan senyawa yang menekan respon imun yang berlebihan. Imunosupresan bekerja dengan cara mengurangi limfosit lalu mengalihkan jalur limfosit dan menghambat respon limfosit. Imunosupresan memiliki 3 efek, yaitu efek terapeutik dengan cara menekan terjadinya rejeki (penolakan), yang kedua mencegah terjadinya akibat konsekuensi imunodesensi (kekurangan imun), dan yang ketiga mengurangi terjadinya toksisitas terhadap jaringan lain (Ma'at, 2018).

II.3. Anggur (*Vitis vinifera* L)

Anggur (*Vitis vinifera* L) merupakan salah satu tanaman buah di dunia dengan tingkat produksi yang tinggi, yaitu sekitar 75 juta ton/tahun. Sekitar 50% dari produksi anggur tersebut digunakan untuk membuat wine sepertiganya dikonsumsi sebagai buah segar, dan sisanya dipasarkan dalam bentuk buah yang dikeringkan atau dibuat jus buah (nonfermentasi) (FAO & OIV, 2016). Anggur mulai berkembang di Indonesia seiring dengan dikeluarkannya Surat Keputusan Menteri Perdagangan dan Koperasi No. 505/1982 untuk mengurangi impor anggur. Anggur termasuk keluarga *Vitaceae* merupakan tanaman buah perdu merambat. Tanaman ini berbentuk semak, silindris, dengan batang berkayu, warna kecoklatan, arah tumbuh batang memanjang dan arah tumbuh cabang membelit (Tajuddin dkk., 2012).

Tumbuhan anggur merupakan tumbuhan kering yang hidup di dataran rendah sekitar 300 mdpl. Pohon anggur memiliki tempat tumbuh yang terpapar oleh sinar matahari dari pagi sampai petang dan juga pohon anggur mendapat tempat yang terlindung dari angin besar. Suhu yang sesuai untuk tanaman anggur pada saat tumbuh tunas dan buah diantara 20°C – 30°C, intensitas sinar matahari sekitar 50% - 80 %, kelembaban udara sekitar 40% - 80% (Purwantiningsih dkk., 2001).



Gambar 2. 2. Buah Anggur

(Schneider, 2019)

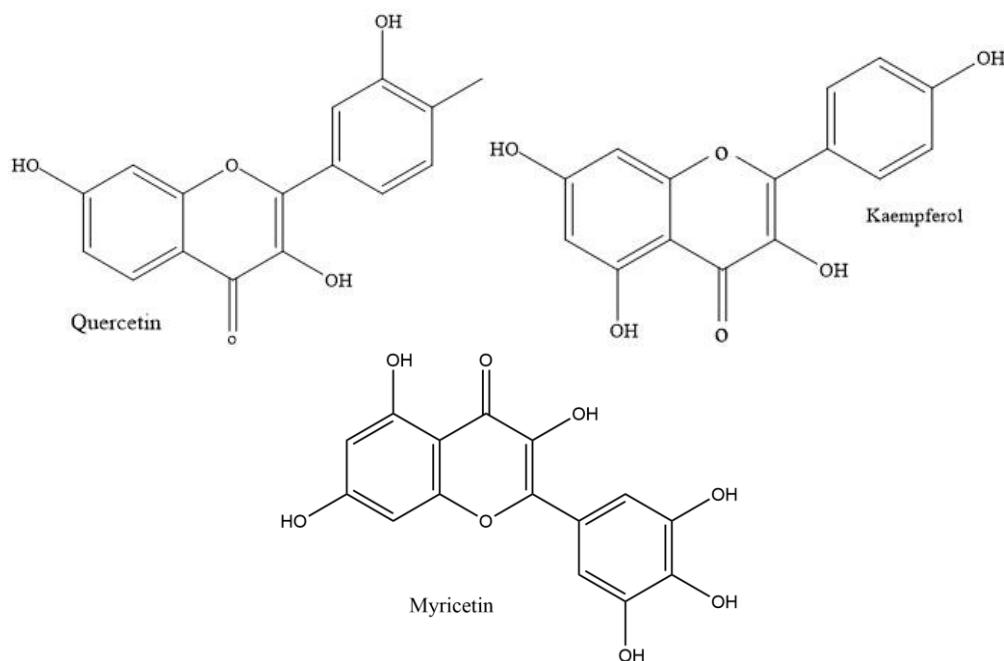
Berdasarkan klasifikasi taksonominya menurut (Cahyono, 2011), anggur termasuk ke dalam:

Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Rhamnales
Keluarga	: Vitaceae
Genus	: Vitis
Spesies	: <i>Vitis vinifera</i>

Anggur memiliki komponen kimia seperti gula, asam organik, asam amino, peptide, protein, vitamin, karotenoid, dan komponen senyawa aktif (isoflavonoid, antosianin, flavonols, resveratrol (stilbene) (Tabeshpour dkk., 2018).

II.4. Flavonoid

Flavonoid termasuk kedalam metabolit sekunder tanaman yang memiliki struktur polifenol yang banyak ditemukan dalam buah-buahan dan sayuran tertentu. Flavonoid memiliki berbagai efek biokimia dan antioksidan yang menguntungkan untuk berbagai penyakit seperti kanker, aterosklerosis, dll. Flavonoid memiliki beberapa subkelompok diantaranya flavonol, isoflavon , flavon, dan kalkon (Hosseinzade dkk., 2019). Anggur mengandung flavonoid (4–5%), termasuk kaempferol-3-O-glucosides, quercetin-3-O-glucosides, quercetin dan myricetin (Jang dkk., 2008).

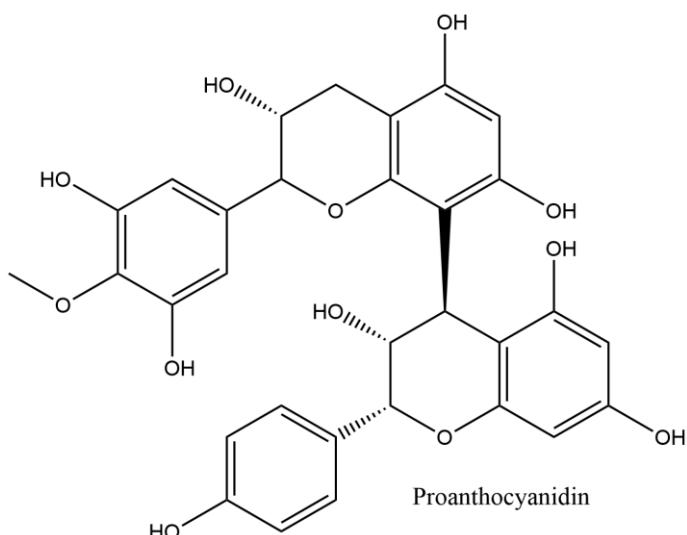


Gambar 2. 3. Struktur Quercetin, Myricetin, dan Kaempferol

II.5. Proantosianidin

Proantosianidin adalah antioksidan kuat yang secara langsung mempengaruhi banyak penyakit penting seperti penyakit jantung koroner, kolesterol dll. Proanthocyanidin adalah salah satu suplemen makanan penting, yang terutama ditemukan dalam biji anggur.

Proantosianidin disebut juga tannin terkondensasi atau lebih luas sebagai poliflavanoid, tersebar luas di kingdom tumbuhan dan mewakili kelompok fenolat tanaman. Buah-buahan yang dapat dimakan adalah salah satu sumber proantosianidin terkaya, dan kita mengonsumsi senyawa ini setiap hari dari buah-buahan segar seperti anggur, dan makanan olahan yang terbuat dari buah-buahan. Mereka terdiri dari oligomer dan polimer senyawa flavonoid (Kwik-Uribe dkk., 2010).



Gambar 2. 4. Struktur Proanthicyanidins

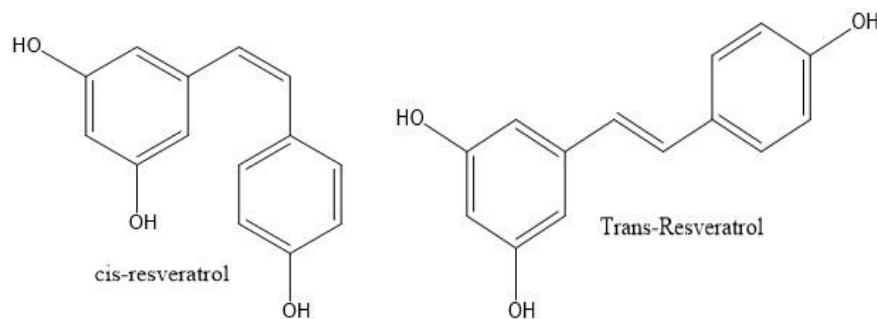
II.6. Resveratrol

Resveratrol merupakan senyawa aktif yang menarik karena efek farmakologisnya, senyawa ini banyak ditemukan ditanaman termasuk anggur, beri, kacang tanah. Resveratrol pertama kali diisolasi di *Veratrum grandiflorum* pada tahun 1940. Senyawa ini dikenal karena kemampuannya untuk memberi tanaman ketahanan terhadap infeksi mikroba dan jamur (Berman dkk., 2017).

Resveratrol memiliki banyak targer dan dapat memodulasi banyak sinyal seperti Wnt, Nuclear factor- κ B (NF- κ B), sitokin, caspase, Notch, metalloproteinase matriks (MMPs), 5'-AMP-activated protein kinase (AMPK), Intercellular adhesion molecule (ICAM), vascular cell adhesion molecule (VCAM), sirtuin type 1 (SIRT1), factor nekrosis tumor α (TNF- α), peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator 1 α (PGC-1 α), insulin-like growth factor 1(IGF-1), insulin-like growth factor-binding protein (IGFBP-3), ras association domain family 1 isoform A (RASSF-1 α), pAkt, vascular endothelial growth factor (VEGF), cyclooxygenase 2 (COX-2), nuclear factor erythroid 2 like 2(Nrf2), dan Kelch-like ECH-associated protein 1 (Keap1). Meskipun resveratrol memiliki banyak target, tetapi penggunaan klinisnya terbatas karena metabolismenya yang cepat dalam tubuh manusia. Bioavailabilitas resveratrol yang dicerna secara oral sangatlah rendah hanya sekitar 1%. Hal itulah yang membatasi penggunaan efek terapeutiknya (Singh dkk., 2019).

Resveratrol merupakan polifenol stilbenoid, yang memiliki dua cincinfenol yang dihubungkan oleh jembatan etilen. Struktur kimia resveratrol (*trans*-3,5,4'-trihydroxystilbene) diidentifikasi dalam dua bentuk isomer, *cis*- dan *trans*-Resveratrol.

Resveratrol dalam bentuk *trans* lebih dominan dalam hal nya prevalensi dan aktivitas biologis yang terkait, yaitu dalam menginduksi respons seluler seperti sebagai penangkapan siklus sel, diferensiasi, apoptosis, dan untuk meningkatkan anti-proliferasi sel kanker (Salehi dkk., 2018).



Gambar 2. 5 Struktur Kimia Resveratrol (*cis*-Resveratrol dan *trans*-Resveratrol)

II.7. Toll-like receptors (TLRs)

TLR merupakan kelompok glikoprotein yang berfungsi sebagai reseptor permukaan transmembran yang terlibat dalam respons imun alami terhadap mikroorganisme patogen. TLR juga merupakan komponen kunci pada respons imun alami yang dapat mengenali komponen mikroorganisme. *Toll-like receptors* (TLRs) merupakan salah satu reseptor pengenal utama sistem imunitas alami. Sistem imunitas alami bisa mengenali patogen melalui *pathogen-associated molecular patterns* (PAMPs). PAMPs adalah bagian dari patogen seperti lipoprotein, lipopeptida, flagela, serta asam nukleat (Anwar dkk., 2019).

TLR adalah protein transmembran yang dikodekan germline yang berasal dari keluarga gen tol, yang memainkan peran penting dalam mendeteksi banyak pola mikroba dan mengaktifkan sistem imun bawaan. Ekspresi TLR berbeda dalam berbagai jenis sel darah putih. Mereka diekspresikan pada sel dendritik (DC), makrofag, sel pembunuh alami (NK), limfosit T dan B dan sel non-imun seperti sel epitel, sel endotel dan fibroblas. Setidaknya ada 10 TLR yang ada pada mamalia yang masing-masing dilengkapi dengan kemampuan unik untuk mengenali PAMP yang berbeda (Vidya dkk., 2018). Reseptor ini terdiri dari daerah yang kaya dengan *leucine* pada ekstrasel dan region ekor sitoplasma yang merupakan reseptor dari IL-1 dan IL-8 dan disebut Toll/IL-1 reseptor (TIR). Struktur molekul TLR terdiri dari region esktraseluler (LRR) yang kaya *leucine* terdiri 24-29 asam amino dan region intraseluler yang disebut TIR terdiri dari 200 asam amino (Hikmah & Dewanti, 2011).

II.8. Computer Aided Drug Design (CADD)

CADD merupakan software dan alat komputasi yang digunakan untuk simulasi interaksi antara obat dan reseptor. CADD digunakan untuk mengidentifikasi calon obat, memilih senyawa induk, dan optimasi senyawa induk (misalnya meningkatkan sifat-sifat kimia, fisika, farmasetika, farmakokinetika dengan modifikasi struktur senyawa aktif biologis). (Suhud, 2015).

Pendekatan CADD dievaluasi sebagai teknik yang sesuai dengan kebutuhannya, dengan semua desain obat berbasis struktur dan pendekatan desain obat berbasis ligan yang merupakan teknik yang sangat efisien dan kuat dalam penemuan dan pengembangan obat (Jain, 2017).

II.9. Parameter Sifat Fisikokimia

Parameter sifat fisikokimia merupakan salah satu syarat yang harus dipenuhi khususnya untuk sedian obat peroral. Parameter sifat fisikokimia yang dihitung antara lain adalah bobot molekul (BM), koefisien partisi (LogP), ikatan donor dan akseptor hidrogen. Syarat yang harus dipenuhi oleh suatu ligan berdasarkan aturan Lipinski adalah berat molekul< 500 Da, nilai LogP< 5, ikatan hidrogen akseptor < 10 dan molar refractivity antara 40-130. Sifat fisikokimia ini dilakukan sebagai data pendukung untuk mendapatkan sifat fisikokimia (Lipinski dkk., 2012).

II.9.1. Bobot Molekul

Bobot Molekul yang terlalu besar akan menghalangi senyawa molekul target saat berdifusi menembus membrane plasma (Lipinski dkk., 2012). Semakin besar bobot molekul yang diperoleh maka semakin buruk kemampuan dalam berdifusi menembus membran. Senyawa yang memiliki bobot molekul lebih dari 500 merupakan senyawa yang kurang baik dalam kemampuan difusi membran biologis karena bobotnya lebih besar sehingga akan sulit untuk menembus membrane (Benet dkk., 2016).

II.9.2 Log P

Nilai log P sangat berkaitan dengan distribusi obat dalam tubuh. Karena nilai log P merupakan ukuran kenonpolaran dari suatu senyawa, semakin besar nilai log P maka senyawa akan semakin non polar. Semakin bersifat non polar suatu senyawa maka efek toksik akan semakin besar. Karena senyawa tersebut akan mudah mengendap dalam tubuh (Tanbin dkk., 2021).

II.9.3. MR

Refraksi molar (MR) yaitu ukuran molar pada molekul senyawa. Nilai *Calculated Molar Refraction* (CMR) yaitu kalkulasi reflaksi molar. Refraktivitas molar digunakan untuk menyatakan sifat sterik suatu senyawa yang dapat mempengaruhi interaksi obat terhadap reseptor. Semakin besar hasil CMR maka semakin besar sifat sterik yang didapatkan, maka interaksi obat terhadap reseptor kurang baik (Gyebi dkk., 2021).

II.9.4. Donor Ikatan Hidrogen dan Akseptor Ikatan Hidrogen

Syarat jumlah donor ikatan hidrogen yaitu <5 dan jumlah akseptor ikatan hidrogen <10 . Semakin tinggi nilai donor dan akseptor ikatan hidrogen maka semakin tinggi energi yang dibutuhkan agar proses absorpsi dapat terjadi, sehingga kemampuan menembus membrane biologis memerlukan waktu yang relatif lama (Lipinski dkk., 2012)

II.10. Penambatan molekul

Penambatan molekul merupakan salah satu metode *in silico* berbasis struktur yang paling popular dan sukses, dengan tujuan memprediksi interaksi yang terjadi antara molekul dan target biologis. Metode berbasis struktur bergantung pada informasi yang diperoleh dari pengetahuan tentang struktur 3D target yang diamati dengan proses penambatan molekul yang dilakukan tanpa mengetahui letak sisi aktif atau tempat penambatan dari reseptor (Pradani dkk., 2021). Pada dasarnya, tujuan dari penambatan molekul adalah untuk memberikan prediksi struktur kompleks antara ligan dengan reseptor menggunakan metode komputasi. Penambatan molekul dapat dicapai melalui dua langkah yang saling terkait, yaitu dengan mengambil sampel konformasi ligan pada sisi aktif protein; kemudian peringkat konformasi ini melalui fungsi penilaian. Idealnya, algoritma pengambilan sampel harus dapat mereproduksi mode pengikatan eksperimental dan fungsi penilaian juga harus memberi peringkat tertinggi di antara semua konformasi yang dihasilkan (Meng, X. Y., Zhang, H. X., Mezei, M., Cui, 2011).

II.10.1 AutoDock

AutoDock dirancang untuk memprediksi interaksi protein dengan molekul kecil seperti molekul obat dan substrat. Aplikasi alat ini sangat luas, mulai dari desain obat berbasis struktur, optimasi molekul timbal, docking protein-ligan, docking protein-protein, analisis dan validasi mekanisme kerja molekul obat, dll. AutoDock memiliki dua versi, yaitu AutoDock4 dan Auto Dock Vina. AutoDock4 menganalisis interaksi molekul ligan di situs target protein yang ditentukan. Pengguna dapat menentukan situs target

menggunakan *gridbox*. AutoDock4 memiliki dua program utama yang akan dijalankan, yaitu Autogrid4 dan AutoDock4. Autogrid4 menyiapkan peta kisi dari asam amino yang ada di dalam *gridbox*. AutoDock4 kemudian menganalisis interaksi asam amino tersebut dengan molekul ligan (Ravi & Krishnan, 2016).

Terdapat dua komponen penting di dalam setiap perangkat lunak docking, yaitu *algorithm docking* dan *scoring function*. *Algorithm 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

II.10.2 Validasi penambatan molekul

Validasi penambatan molekul bertujuan untuk mendapatkan pengaturan data yang valid. Validasi penambatan molekul dalam aplikasi Autodock dengan cara penambatan ulang ligan alami terhadap protein target. Konformasi dan tempat ligan berinteraksi di tentukan dengan pengaturan *gridbox* (Muttaqin, 2019). Dalam bioinformatika RMSD merupakan ukuran deviasi rata - rata akar kuadrat dari posisi atom. RMSD biasanya digunakan untuk ukuran kuantitatif kesamaan dua molekul atau lebih, dalam penambatan molekul RMSD berguna untuk mempelajari konfigurasi ligan ketika terikat pada makromolekul dengan melihat tumpang tindih hasil penambatan ulang, semakin rendah nilai RMSD maka semakin baik model struktur dengan struktur aslinya (Zubair dkk., 2020).

II.11. Dinamika molekul

Dinamika molekuler pertama kali diperkenalkan oleh Alder dan Wainwright pada akhir 1950-an, metode ini digunakan untuk mempelajari interaksi hardsphere. Dari studi ini, mereka belajar tentang perilaku cairan sederhana. Pada tahun 1964, Rahman melakukan simulasi pertama menggunakan potensi realistik untuk argon cair. Dan pada tahun 1974, Rahman dan Stillinger melakukan simulasi dinamika molekul pertama dengan menggunakan sistem realistik yaitu simulasi air cair. Simulasi protein pertama kali muncul pada tahun 1977 dengan simulasi penghambat tripsin pankreas bovine (BPTI) (Astuti dkk., 2011).

Simulasi dinamika molekul merupakan metode yang dapat memprediksi sifat statik maupun dinamik dari interaksi senyawa dan reseptor. Dinamika molekul menggunakan aplikasi AMBER versi 18, aplikasi tersebut dapat menghasilkan interaksi kestabilan

antara senyawa dan reseptor pada waktu tertentu. Simulasi dinamika molekul digunakan untuk mengevaluasi perubahan konformasi protein dan ligan yang terikat. Simulasi dinamika molekul dapat menganalisis stabilitas dan mekanisme interaksi kompleks protein-ligan melalui RMSD dan RMSF pada setiap langkah simulasi berdasarkan waktu yang telah diatur (Scott A. Hollingsworth & Ron O. Dror, 2018).

Simulasi ini sangat kuat karena beberapa alasan. Pertama, mereka menangkap posisi dan gerakan setiap atom di setiap titik waktu, yang sangat sulit dilakukan dengan teknik eksperimental apapun. Kedua, kondisi simulasi diketahui dengan tepat dan dapat dikontrol dengan hati-hati. Keadaan, suhu, tegangan melintasi membran, dan sebagainya. Dengan membandingkan simulasi yang dilakukan di bawah kondisi yang berbeda, seseorang dapat mengidentifikasi efek dari berbagai gangguan molekuler (Scott A. Hollingsworth & Ron O. Dror, 2018).

II.11.1. AMBER

AMBER adalah paket program komputer yang fungsinya memungkinkan pengguna untuk melakukan simulasi dinamika molekul (MD) dengan struktur kimia dari banyak jenis, seperti: molekul organik, anorganik dan biomolekul. Rangkaian program memberikan pilihan dalam menjalankan simulasi mekanika kuantum atau mekanika molekul (QM/MM), dimana bagian dari sistem dapat ditafsirkan oleh mekanika kuantum (Vinícius dkk., 2012).

Rangkaian amber terdiri dari:

1. **Leap**, digunakan untuk mempersiapkan sistem program simulasi;
2. **Antechamber**, mengotomatiskan proses parameterisasi;
3. **Sander**, program simulasi pusat dan memiliki fasilitas untuk minimisasi energi dan dinamika molekul dengan berbagai pilihan;
4. **Praj**, digunakan untuk melakukan analisis hasil simulasi.

II.11.2. Topologi

Topologi merupakan salah satu tahapan yang ada pada dinamika molekuler, pada tahapan ini dilakukan pembentukan tempat dari ligan, makromolekul, dan kompleks antara ligan dengan makromolekul untuk nanti nya disimulasikan. Pada tahapan topologi ini, kompleks ligan dengan makromolekul dilakukan penetrasi sistem dengan penambahan ion seperti ion natrium (Na^+), lalu seluruh sistem dalam bentuk geometri dilarutkan

dengan air dalam bentuk geometri tempat kompleks itu dapat bereaksi (Amalia & Ruswanto, 2019)

II.11.3. RMSD

Root Mean Square Deviation atau akar kuadrat rata-rata deviasi merupakan ukuran yang sering digunakan dalam geometri 3 Dimensi molekul untuk membandingkan pergeseran atau perubahan konformasi molekul. RMSD digunakan untuk menilai hasil prediksi struktur protein dengan hasil kristalografi nya. Nilai dan gambaran RMSD, digambarkan dalam sebuah grafik yang diplot dengan waktu (Mardiana & Ruswanto, 2019).

II.11.4. RMSF

RMSF atau *Root Mean Square Fluctuative* adalah akar kuadrat rata – rata fluktuasi yang merupakan ukuran deviasi dari posisi partikel dan beberapa posisi referensi nya. Nilai RMSF menggambarkan pergeseran konformasi setiap residu asam amino yang memberikan fleksibilitas protein. RMSF ditentukan dari waktu saat energi potensial memiliki fluktuasi minimal yakni dimulai dari 1 ns hingga akhir simulasi (Mardiana & Ruswanto, 2019).

II.11.5. MMGBSA

Perhitungan energi MMGBSA digunakan untuk memperkirakan afinitas dan energi bebas ikatan dari ligan dan reseptor yang dihitung dari sisi aktif pada proses simulasi docking. Analisis metode MMGBSA menghasilkan energi bebas (ΔG) ikatan sistem ligan dengan reseptor pada simulasi dinamika molekul berlangsung. Semakin kecil nilai energi bebas (ΔG), maka semakin besar kemampuan suatu senyawa untuk berikatan dengan reseptor (Chahal dkk., 2020). Untuk menghitung energi bebas ikatan perhitungan MM/GBSA dilakukan melalui Persamaan berikut.

$$\begin{aligned}\Delta G_{bind} &= G_{complex} - G_{protein} - G_{ligand} \\ &= \Delta E_{MM} + \Delta G_{GB} + \Delta G_{SA} - T\Delta S \\ &= \Delta E_{vdW} + \Delta E_{ele} + \Delta G_{GB} + \Delta G_{SA} - T\Delta S\end{aligned}$$

Dimana E_{MM} menunjukkan energi interaksi fase gas antara ligan dan protein. Ini terdiri dari dua bagian, yaitu energi van der Waals (ΔE_{vdW}) dan energi elektrostatik (E_{ele}). GGB dan GSA adalah komponen polar dan non-polar dari energi bebas desolvasi; $T\Delta S$ adalah kontribusi entropi pada suhu T (Pang dkk., 2021).