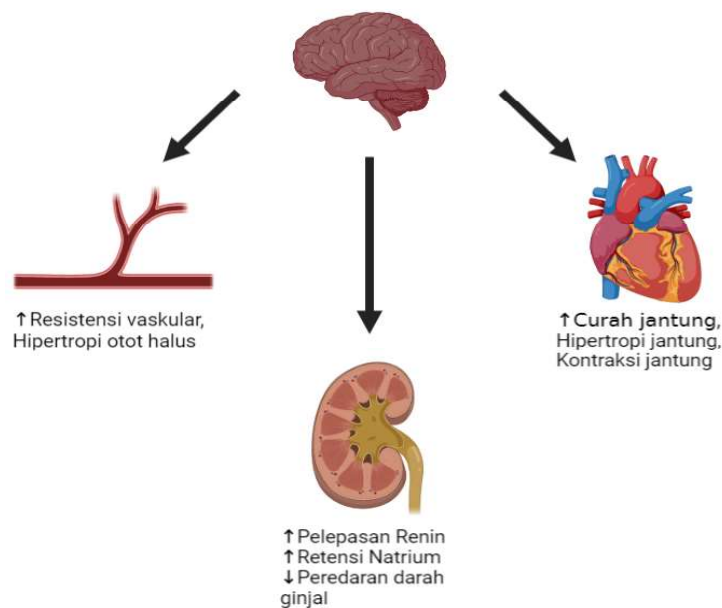


## BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

### II.1 Hipertensi

Hipertensi adalah kondisi tekanan darah sistolik lebih dari 140 mmHg atau tekanan darah diastolik lebih dari 90 mmHg setelah pemeriksaan berulang (Unger dkk., 2020). Pada Tahun 2018, prevalensi hipertensi di Indonesia mencapai lebih dari 658.000 orang (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2018). Kondisi hipertensi disebabkan oleh faktor genetik, asupan makanan, konsumsi alkohol, obesitas, dan aktivitas fisik (Whelton dkk., 2018).

Hipertensi dapat terjadi akibat abnormalitas regulasi sistem saraf pusat dan sistem saraf otonom (Gambar 2.1) (MacLaughlin & Saseen, 2020; Thomas & Dasgupta, 2015). Banyak reseptor di permukaan presinaps dari terminal simpatik yang menghambat atau meningkatkan pelepasan norepinefrin. Reseptor  $\alpha$  dan  $\beta$  presinaptik berperan dalam umpan balik negatif dan positif ke vesikel yang mengandung norepinefrin. Stimulasi reseptor  $\alpha$  prasinaptik memberikan penghambatan negatif pada pelepasan norepinefrin. Stimulasi reseptor  $\beta$  prasinaptik memfasilitasi pelepasan norepinefrin.



Gambar 2.1 Efek aktivasi simpatik dalam pengembangan dan pengendalian hipertensi

(Thomas & Dasgupta, 2014).

Jaringan saraf simpatik di permukaan sel efektor mempersarafi reseptor  $\alpha$  dan  $\beta$ . Stimulasi reseptor  $\alpha$  pada arteriol dan venula menyebabkan vasokonstriksi. Stimulasi reseptor  $\beta_1$  di jantung meningkatkan detak jantung dan kontraksi jantung. Stimulasi reseptor  $\beta_2$  menyebabkan vasodilatasi arteri dan vena.

Sistem refleks baroreseptor atau barorefleks merupakan mekanisme penting dalam pengaturan tekanan darah arteri. Barorefleks mengatur fluktuasi tekanan darah arteri saat ada perubahan postur, emosi, olahraga, dan kondisi lain (Benarroch, 2008). Perubahan tekanan darah mengaktivasi baroreseptor kemudian mentransmisi impuls ke otak melalui saraf kranial ke sembilan. Dalam sistem refleks ini, penurunan tekanan darah arteri menstimulasi baroreseptor dan menyebabkan vasokonstriksi, peningkatan detak jantung, dan peningkatan kontraksi jantung.

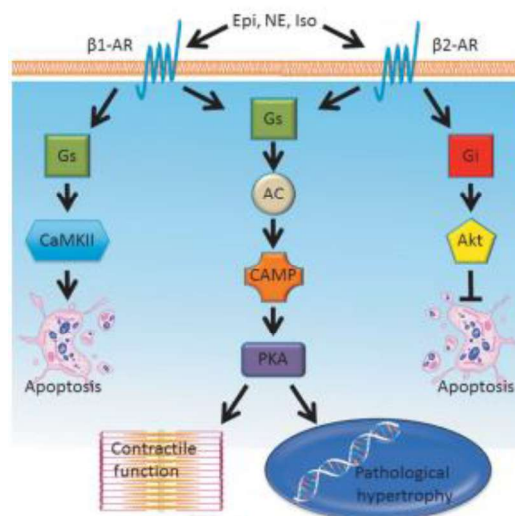
Jaringan saraf otonom, reseptor adrenergik, baroreseptor, dan sistem saraf pusat saling berhubungan dalam mengatur tekanan darah dan menjaga homeostasis. Sehingga bila salah satu atau beberapa kondisi memiliki kelainan dapat menyebabkan hipertensi (MacLaughlin & Saseen, 2020).

### II.1.1 Terapi Farmakologi

*Angiotensin-converting-enzyme inhibitors* (ACEI), *Angiotensin II Receptor Blockers* (ARB), *Calcium Channel Blockers* (CCB), atau *Thiazide* adalah antihipertensi pilihan lini pertama untuk sebagian besar pasien. Terapi  $\beta$ -bloker digunakan untuk menangani indikasi tertentu atau dikombinasikan dengan satu atau lebih obat lini pertama (MacLaughlin & Saseen, 2020).

### II.2 Reseptor $\beta_1$ Adrenergik ( $R\beta_1A$ )

$R\beta_1A$  merupakan subkelompok reseptor dalam golongan *G protein-coupled receptor* (GPCR). Terdapat 75%-80%  $R\beta_1A$  di jantung yang memediasi efek senyawa katekolamin (epinefrin, norepinefrin, dan isoproterenol) (Ali dkk., 2020; Xu dkk., 2021). Hasil dari mediasi senyawa katekolamin pada  $R\beta_1A$  adalah peningkatan detak jantung, kontraksi-relaksasi jantung, dan tekanan darah (Wang dkk., 2021).



Gambar 2.2 Pensinyalan reseptor beta adrenergik (Berthiaume et al., 2016).

Mekanisme peningkatan detak jantung berawal dari stimulasi  $R\beta 1A$  oleh senyawa katekolamin. Kemudian, reseptor ini bergabung dengan protein Gs. Setelah itu, protein Gs merangsang aktivitas protein kinase A (PKA) dengan melibatkan *adenylyl cyclase* (AC) dan juga *cyclic adenosine monophosphate* (cAMP). Target PKA di nukleus dan miofilamen merangsang hipertrofi patologis dan fungsi kontraktile jantung (Gambar 2.2) (Berthiaume dkk., 2016; Myburgh, 2014).

### II.3 Pegagan (*Centella asiatica*)

Pegagan memiliki berbagai sebutan lain seperti Luei Gong Gen, *Asian Pennywort* dan Brahmi (Restuati & Setya Diningrat, 2018). Tanaman ini tersebar dari India, Sri Lanka, China, Indonesia, Malaysia, Australia, Afrika Selatan dan Madagaskar. Tanaman ini memiliki tangkai yang ramping, stolon yang menjalar, daun yang berbentuk ginjal dengan panjang 2-6 cm dan lebar 1,5-5 cm (Singh dkk., 2010).

Hierarki taksonomi *Centella asiatica* sebagai berikut.

Kingdom: Plantae

Divisio : Tracheophyta

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Apiales

Famili : Apiaceae

Genus : *Centella*

Spesies : *Centella asiatica*



Gambar 2.3 Tumbuhan *Centella asiatica* (Biswas et al., 2021).

Berbagai golongan senyawa kimia yang terkandung dalam pegagan dapat dijadikan sebagai obat, seperti alkaloid, flavonoid, triterpenoid, dan fitosterol (Bharadvaja, 2017). Zat aktif yang paling berperan dalam aktivitas farmakologis adalah golongan triterpen. Pegagan memiliki berbagai aktivitas farmakologis. Berbagai penelitian menunjukkan Pegagan memiliki efek pada penyakit-penyakit kardiovaskular seperti hipertensi, konstiksi aorta, iskemia miokardial, dan aterosklerosis (Sun dkk., 2020).

## II.4 Optimasi Geometri

Optimasi geometri adalah sebuah metode untuk memprediksi susunan 3D suatu atom dalam molekul dengan cara meminimumkan energi. Nilai energi yang rendah menggambarkan konformasi paling stabil. Metode mekanika molekuler dan mekanika kuantum digunakan untuk optimasi geometri (Roy dkk., 2015). Perbedaan kedua metode tersebut adalah pada tingkat pemodelan. Metode mekanika molekul dapat memodelkan hingga tingkat molekul, sedangkan mekanika kuantum dapat memodelkan hingga tingkat atomik.

Perhitungan energi dengan mekanika molekul menggunakan persamaan-persamaan fisika klasik. Persamaan-persamaan fisika klasik digunakan untuk menghitung energi peregangan ikatan ( $E_{\text{peregangan}}$ ), energi pembengkokkan sudut ( $E_{\text{pembengkokkan}}$ ), energi torsi ( $E_{\text{torsi}}$ ), energi van der Waals ( $E_{\text{vdW}}$ ), dan energi Coloumbik ( $E_{\text{Coloumbik}}$ ). Jumlah dari energi-energi tersebut digunakan untuk menghasilkan energi total. Nilai energi total dapat dihasilkan dari persamaan II.1. Contoh dari perhitungan mekanik molekul termasuk MM2, MM3, MMF, Amber, Dreiding, dan UFF.

$$E_{\text{total}} = \sum E_{\text{peregangan}} + \sum E_{\text{pembengkokkan}} + \sum E_{\text{torsi}} + \sum E_{\text{vdW}} + \sum E_{\text{Coloumbik}} \quad (\text{II.1})$$

Perhitungan mekanika kuantum berawal dari berkembangnya teori mekanika kuantum di tahun 1926. Pada tahun tersebut Erwin Schrödinger mempelajari persamaan matematika dari pergerakan elektron dalam hal energinya. Pergerakan elektron digambarkan memiliki sifat seperti gelombang dan juga seperti partikel (Schrödinger, 1926). Sehingga persamaan yang dikembangkan oleh Erwin Schrödinger disebut juga *wave equation*. Persamaan Schrödinger dapat dilihat di persamaan II.2. Dimana  $H$  adalah operator Hamiltonian,  $\psi$  adalah fungsi gelombang, dan  $E\psi$  adalah energi potensial dan kinetik total dari semua partikel pada suatu molekul.

$$H\psi = E\psi \quad (\text{II.2})$$

Meskipun Persamaan Schrödinger dapat digunakan untuk menghitung energi suatu molekul, persamaan ini sangat sulit untuk dipecahkan. Pendekatan berbeda dapat digunakan untuk

mengatasi kesulitan dalam menjalankan perhitungan mekanika kuantum. Pendekatan lain yang dapat digunakan seperti *ab initio*, *density functional theory* (DFT), dan analisis semiempiris (Roy dkk., 2015).

#### II.4.1 Density Functional Theory (DFT)

DFT telah digunakan untuk optimasi struktur molekul mempelajari sifat-sifat molekul (Rahman dkk., 2019; Tandon dkk., 2019). Metode ini menggunakan fungsi dari kerapatan elektron untuk menentukan energi terendah dari suatu molekul (Hohenberg & Kohn, 1964). Metode DFT memiliki akurasi yang lebih baik dalam optimasi geometri dibandingkan dengan metode *ab initio* lainnya seperti metode Hartree-Fock (HF). Namun metode ini memiliki kekurangan yaitu memerlukan waktu yang lebih lama dalam optimasi geometri (Alex, 2006).

### II.5 Penambatan Molekul

Penambatan molekul adalah teknik yang digunakan untuk memprediksi mode pengikatan yang paling sesuai antara ligan dengan makromolekul. Metode ini dapat digunakan untuk *target profiling*, prediksi efek samping obat, identifikasi polifarmakologi, peninjauan ulang obat, rasionalisasi ikatan ligan-makromolekul, dan *virtual screening* (Pinzi & Rastelli, 2019).

#### II.5.1 Validasi Penambatan Molekul

Validasi penambatan molekul bertujuan untuk menentukan apakah aplikasi penambatan molekul cocok untuk prediksi pose ligan dengan makromolekul. Validasi penambatan molekul dilakukan dengan cara menambatkan kembali ligan alami yang telah dipisahkan dari makromolekul. Parameter yang digunakan untuk validasi adalah nilai *Root mean square deviation* (RMSD). Nilai RMSD dihasilkan dari perbandingan koordinat semua atom ligan yang ditambatkan ulang dengan ligan alami. RMSD merupakan rata-rata simpangan antar atom. Validasi dinyatakan valid jika nilai RMSD dibawah 2,0Å (Prieto-Martínez dkk., 2018). Nilai RMSD dihasilkan dari persamaan II.3, dimana N adalah jumlah atom suatu ligan dan  $d_i$  adalah jarak antara pasangan ke-sekian dari suatu atom.

$$\text{RMSD} = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N d_i^2} \quad (\text{II.3})$$

#### II.5.2 Tahapan Penambatan Molekul

Terdapat tiga bagian utama dalam tahapan penambatan molekul; 1) preparasi ligan dan makromolekul; 2) penentuan jenis docking: kaku atau fleksibel; 3) pengaturan strategi pencarian konformasi ligan. Preparasi ligan dan protein dilakukan untuk mencari protein target yang beresolusi tinggi, optimasi ligan, dan penentuan situs pengikatan ligan- target. Kemudian, pemilihan jenis docking dilakukan untuk menentukan jenis penambatan yang dilakukan berupa

penambatan fleksibel atau kaku. Semakin fleksibel proses penambatan maka semakin banyak konformasi ligan yang terbentuk. Proses terakhir adalah pengaturan strategi pencarian untuk konformasi ligan. Proses ini melibatkan pencarian konformasi dan pemilihan solusi yang optimal per fungsi penilaian. Fungsi penilaian digunakan untuk mendapatkan pose yang sesuai dengan mengevaluasi interaksi intermolekul, desolvasi, elektrostatik, dan efek entropik (Prieto-Martínez dkk., 2018).

### II.5.3 Parameter Penambatan Molekul

Parameter yang dapat digunakan dalam analisis hasil docking terdiri dari energi bebas ikatan dan konstanta inhibisi (Cosconati dkk., 2010). Nilai energi bebas ikatan menunjukkan stabilitas kompleks ligan-protein. Semakin kecil nilai energi bebas ikatan menandakan kompleks semakin stabil. Energi bebas ikatan dipengaruhi komponen seperti energi solvasi ( $\Delta G_{\text{solv}}$ ), energi pembentukan kompleks ( $\Delta G_{\text{conf}}$ ), energi interaksi ( $\Delta G_{\text{int}}$ ), dan energi pergerakan ( $\Delta G_{\text{gerakan}}$ ) (rotasi, translasi, vibrasi). Dari komponen tersebut maka dihasilkan persamaan II.4.

$$\Delta G_{\text{ikatan}} = \Delta G_{\text{solv}} + \Delta G_{\text{conf}} + \Delta G_{\text{int}} + \Delta G_{\text{gerakan}} \quad (\text{II.4})$$

Konstanta inhibisi mengindikasikan afinitas antara kompleks ligan dengan protein. Nilai ini juga menunjukkan seberapa poten suatu inhibitor. Semakin kecil nilai konstanta inhibisi maka semakin besar afinitas ligan-protein. Konstanta inhibisi dihasilkan dari nilai persamaan II.5. Dimana  $\Delta G$  merupakan energi bebas ikatan,  $R$  merupakan konstanta gas universal, dan  $T$  adalah temperatur.

$$K_i = \exp (\Delta G/RT) \quad (\text{II.5})$$

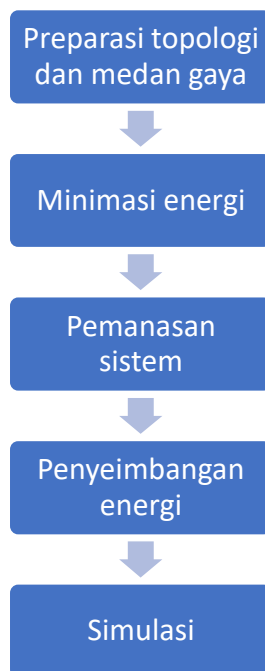
## II.6 Simulasi Dinamika Molekul

Dinamika molekul adalah teknik simulasi untuk mengetahui pergerakan dan perangkaian struktur atom dalam sistem biologi di level mikroskopis selama periode waktu tertentu. Dalam pengembangan dan penemuan obat, simulasi dinamika molekul dapat digunakan untuk optimasi senyawa pemandu, penapisan virtual, dan perancangan obat alosterik (Hollingsworth & Dror, 2018).

### II.6.1 Tahapan Simulasi Dinamika Molekul

Tahapan simulasi dinamika molekul secara garis besar ditunjukkan di Gambar 2.4. Persiapan topologi merupakan proses penentuan struktur dan konektivitas atom (panjang ikatan, sudut ikatan, dihedral) dalam sistem serta penentuan beberapa parameter medan gaya (Grigera, 2002). Medan gaya terdiri dari rumus yang digunakan untuk menghitung energi potensial dan gaya dari koordinat partikel serta kumpulan parameter (Kukol, 2014). Tahap selanjutnya dalam

persiapan dinamika molekul adalah minimasi energi. Tahapan minimasi energi digunakan untuk menyesuaikan struktur dengan medan gaya, khususnya digunakan untuk distribusi molekul pelarut dan untuk merelaksasi kemungkinan benturan sterik antar atom. Kemudian dilakukan pemanasan sistem secara linier dan penyeimbangan energi. Penyeimbangan energi digunakan untuk menyeimbangkan energi kinetik dan energi potensial. Proses penyeimbangan energi dilakukan dengan cara mengubah energi kinetik menjadi energi potensial. Ketika energi kinetik dan energi potensial telah seimbang, simulasi dinamika molekul bisa dilakukan (Urniaz dkk., 2014).



Gambar 2.4 Skema alur kerja dinamika molekul.

### II.6.2 Parameter Simulasi Dinamika Molekul

*Root mean square deviation* (RMSD), *Root mean square fluctuation* (RMSF), *molecular mechanics generalized Born surface area* (MMGBSA), dan ikatan hidrogen intermolekul digunakan untuk mengevaluasi hasil dari simulasi dinamika molekul (Genheden & Ryde, 2015; Martínez, 2015). RMSD dan RMSF digunakan untuk mengukur perbedaan antara struktur protein awal dengan posisi akhirnya. Stabilitas dan kekokohan protein dapat ditentukan oleh deviasi yang dihasilkan selama simulasi. Semakin kecil nilai deviasinya, semakin stabil struktur proteinnya (Aier dkk., 2016). RMSD dalam dinamika molekul digunakan untuk mengamati stabilitas kompleks ligan-target selama waktu tertentu (Martínez, 2015). Sedangkan RMSF digunakan untuk mengamati residu yang menyimpang dari struktur. Data yang menyimpang menandakan residu mengalami peningkatan fleksibilitas (Sharma dkk., 2021).

MMGBSA digunakan untuk mengestimasi energi bebas antara kompleks ligan-makromolekul (Genheden & Ryde, 2015). Semakin kecil nilai energi bebas yang dihasilkan dari estimasi MMGBSA menunjukkan ikatan yang semakin baik (Zhang dkk., 2017). Secara matematis, energi ikatan bebas ( $\Delta G_{\text{total}}$ ) dapat dihitung menggunakan persamaan II.6 dan persamaan II.7. Komponen energi yang berperan dalam energi ikatan bebas dapat dirinci dalam fase gas ( $\Delta G_{\text{gas}}$ ) dan energi solvasi ( $\Delta G_{\text{solv}}$ ). Energi dalam fase gas dapat dihitung dengan rumus II.8 dan energi solvasi dapat dihitung dengan rumus II.9. Komponen  $\Delta G_{\text{gas}}$  terdiri energi van der Waals ( $\Delta E_{\text{vdW}}$ ) dan energi elektrostatik ( $\Delta E_{\text{ELE}}$ ). Sedangkan  $\Delta G_{\text{solv}}$  terdiri dari energi bebas solvasi polar ( $\Delta E_{\text{GB}}$ ) dan energi bebas solvasi nonpolar ( $\Delta E_{\text{SURF}}$ ) (Sargolzaei, 2021).

$$\Delta G_{\text{total}} = \Delta G_{\text{kompleks}} - (\Delta G_{\text{target}} + \Delta G_{\text{ligan}}) \quad (\text{II.6})$$

$$\Delta G_{\text{total}} = \Delta G_{\text{gas}} + \Delta G_{\text{solv}} \quad (\text{II.7})$$

$$\Delta G_{\text{gas}} = \Delta G_{\text{ele}} + \Delta G_{\text{vdW}} \quad (\text{II.8})$$

$$\Delta G_{\text{solv}} = \Delta G_{\text{GB}} + \Delta G_{\text{SURF}} \quad (\text{II.9})$$

Ikatan hidrogen merupakan kontributor utama dalam stabilitas ikatan antara ligan dengan target. Analisis ikatan hidrogen intermolekul (Williams & Ladbury, 2005). Analisis ikatan hidrogen intermolekul dilakukan untuk mengevaluasi okupansi. Okupansi ikatan hidrogen diharapkan memiliki persentase lebih dari 90%. Nilai yang tinggi ini menunjukkan interaksi antara ligan dengan target membentuk interaksi yang stabil (Mahalapbutr dkk., 2019).