

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1.COVID – 19 dan Komorbid

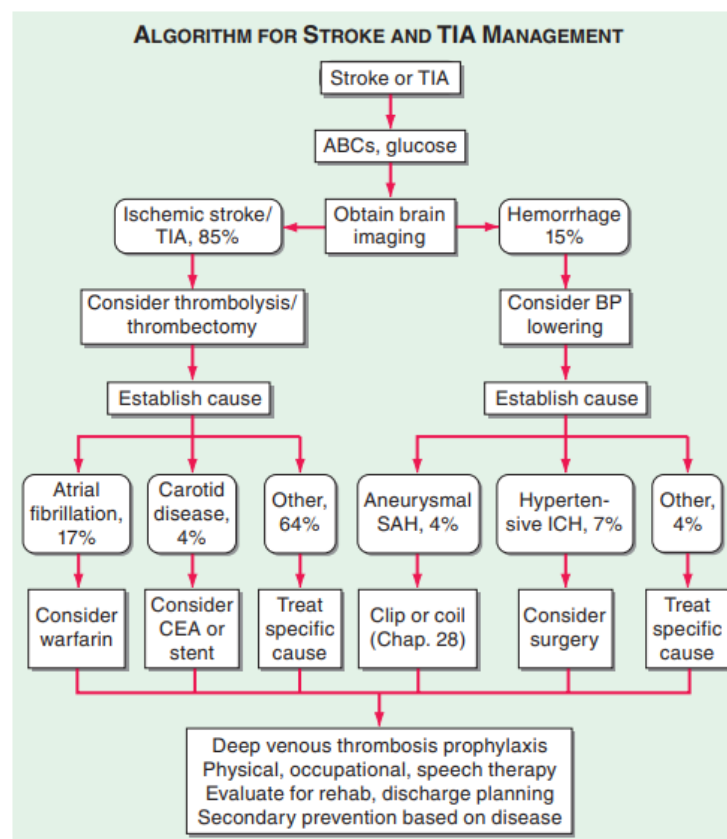
Coronavirus Disease of 2019 atau COVID – 19 merupakan nama yang ditetapkan oleh WHO terkait wabah yang disebabkan oleh virus *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2* atau SARS – COV 2 yang ditetapkan sebagai kejadian pandemik. Status pandemik ini yang terjadi mulai dari akhir tahun 2019. Virus ini ditemukan untuk pertama kali di Kota Wuhan, Provinsi Hubei Cina pada bulan Desember 2019, berdasarkan hasil analisis genomik membuktikan bahwa virus COVID – 19 ini berkaitan erat dengan virus SARS yang ada pada kelelawar. Berdasarkan hal tersebut maka kelelawar merupakan reservoir paling utama yang paling memungkinkan (Shereen dkk., 2020; WHO, 2021). COVID – 19 ini dapat menular secara langsung dari manusia ke manusia, dampak kejadian dari virus ini diklasifikasikan sebagai pandemi dikarenakan penyebaran yang cepat dan luas hingga seluruh dunia. Persentase kematian di Indonesia yang diakibatkan oleh virus ini sekitar 3% atau 144 ribu jiwa per Desember 2021, dari total kasus 4,2 juta kasus terkonfirmasi COVID – 19. Angka kematian COVID – 19 tersebut cukup besar dibandingkan dengan negara lain dengan total angka kematian tersebut menempatkan negara Indonesia di peringkat ke – 8 kematian terbanyak di dunia (WHO, 2021).

Tingkat kematian dari COVID – 19 ini dapat disebabkan oleh dua jenis faktor risiko yaitu faktor yang tidak dapat diubah *unchanged risk factors* seperti usia, jenis kelamin, ras, suku, genetik dan juga riwayat penyakit karena genetik. Dan faktor yang dapat risiko yang dapat diubah atau *changeable risk factors* yaitu perilaku tidak sehat sehingga dapat menyebabkan adanya penyakit komorbid seperti hipertensi, diabetes, penyakit paru dan lain – lain (Hidayani, 2020). Beberapa penyakit yang sering menjadi penyakit penyerta atau komorbid pada pasien COVID – 19 salah satunya penyakit degeneratif yang akan semakin buruk seiring bertambah usia dan semakin lama kebiasaan buruk terhadap kesehatan berlanjut. Pada beberapa penelitian faktor usia, jenis kelamin, ada atau tidaknya infeksi nosokomial dari pasien, dan penyakit penyerta seperti hipertensi, komplikasi stroke, diabetes melitus, penyakit yang berkaitan dengan kardiovaskuler dan PPOK sangat berkaitan erat dengan mortalitas atau tingkat kematian pasien COVID – 19 (Drew & Adisasmita, 2021; Hidayani, 2020). Faktor stroke sebagai penyakit penyerta yang paling sering terjadi pada pasien dengan usia lanjut, dan memiliki angka tingkat kematian yang tinggi pada pasien yang memiliki faktor komorbid stroke pada COVID – 19. Kombinasi tingkat keparahan infeksi COVID – 19 pada pasien stroke dapat sangat

menentukan keselamatan dari pasien, hal ini banyak diakibatkan oleh efek yang ditimbulkan dari COVID – 19 salah satunya terhadap hiperkoagulasi (Fridman dkk., 2020).

2.2.Stroke

Stroke merupakan salah satu penyebab kematian tertinggi di seluruh dunia. Stroke banyak terjadi pada usia dewasa hingga lanjut, hal ini bergantung pada produktivitas, gaya hidup, dan juga kualitas dari fungsi organ. Menurut data dari American Health Association (AHA) menyebutkan dengan prevalensi 795.000 pasien stroke baru setiap tahunnya. Setiap 40 detik terdapat satu pasien baru stroke, dan satu pasien meninggal akibat stroke setiap empat menit. Di Indonesia sendiri berdasarkan PUSDATIN atau Pusat Data Dan Informasi Indonesia menyebutkan, pada tahun 2018 dari diagnosis dokter pada penduduk yang berusia lebih dari 15 tahun terdapat total 2.120.362 penderita stroke di seluruh Indonesia (Mutiarasari, 2019; WHO, 2019).



Gambar 2.1. Algoritma Penyebab dan Penyembuhan Stroke (Peacock, 2006).

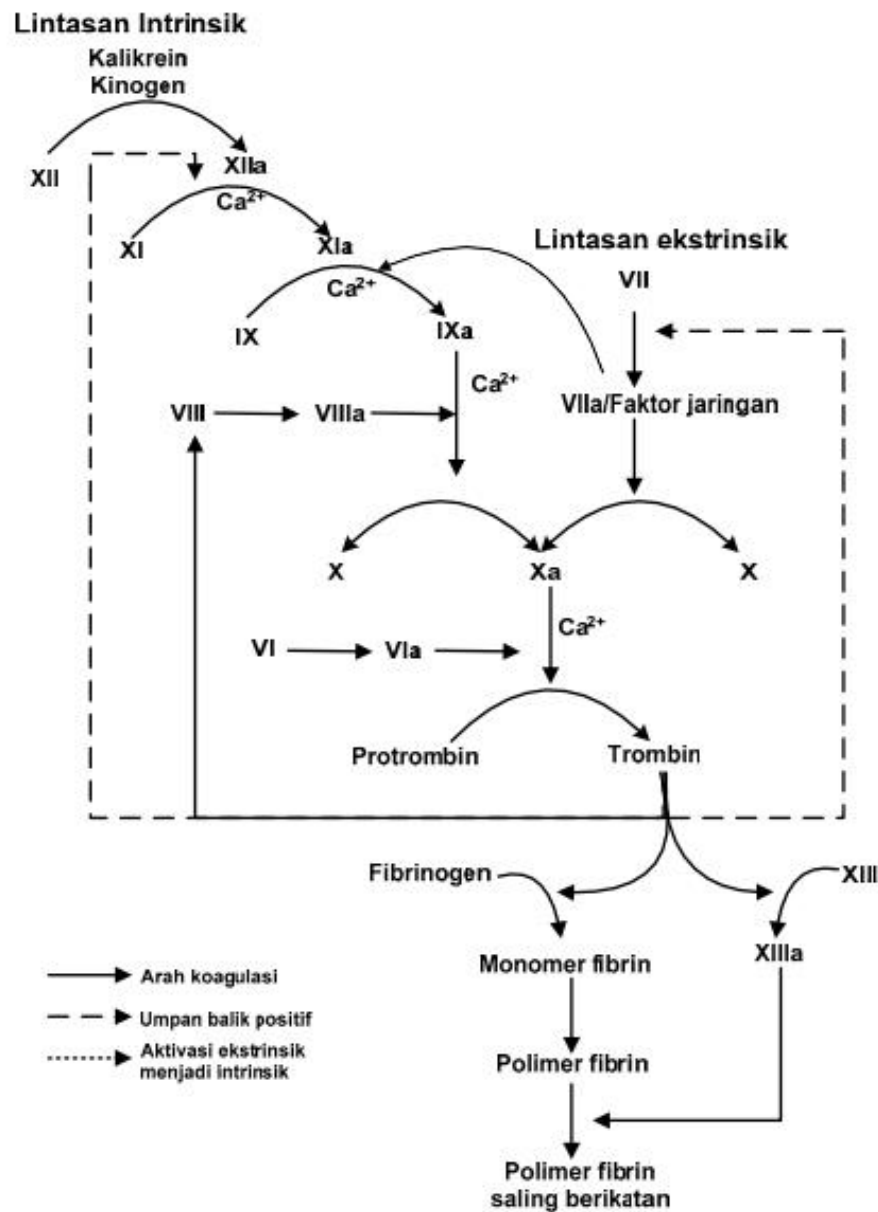
Stroke merupakan salah satu penyebab dari penyakit kardiovaskuler yang merupakan gangguan yang terjadi pada otak secara mendadak, stroke terjadi tanpa adanya tanda klinis baik fokal maupun global. Stroke dibagi menjadi dua berdasarkan penyebab yang

terjadi yaitu stroke iskemik dan stroke hemoragik. Stroke iskemik merupakan stroke yang diakibatkan oleh adanya sumbatan pada pembuluh darah otak yang dapat menghambat aliran darah ke daerah otak. Stroke hemoragik adalah stroke yang diakibatkan oleh pecahnya pembuluh darah otak. Kedua jenis stroke ini terjadi pada pembuluh darah arteri dan vena serebral, dari kedua jenis stroke ini stroke iskemik merupakan jenis stroke yang paling sering terjadi. Sekitar 74% dari 30.599 pasien stroke merupakan stroke iskemik dan, 26% nya stroke hemoragik. Dan pada kasus pasien COVID – 19 komorbid stroke kemungkinan mortalitas atau kematian pasien meningkat sekitar 4 kali lebih besar (Harrison dkk., 2021; Hsieh & Chiou, 2014).

Terapi untuk penderita stroke dapat dilakukan terapi *Intravenous recombinant tissue plasminogen activator* (rtPA), penggunaan obat antiplatelet dan antikoagulan untuk mencegah kembalinya stroke atau stroke yang berulang pada pasien stroke iskemik. Penggunaan warfarin dilakukan sebagai terapi antikoagulan atau pembentukan penyumbatan pada pembuluh darah otak yang disebabkan oleh pembekuan atau koagulasi darah. Penggunaan antikoagulan ini digunakan sebagian besar sebagai pencegahan stroke jangka panjang pada pasien stroke fibrilasi atrium dan stroke kardioemboli (Mutiarasari, 2019; Nannoni dkk., 2021).

2.3.Pembekuan Darah

Koagulasi atau pembekuan darah merupakan salah satu penyebab terjadinya kondisi patologi stroke. Pembekuan darah yang berlebihan atau hiperkoagulasi dapat menyebabkan penyumbatan pada saluran sawar otak atau pembuluh darah otak. Dalam proses pembekuan darah terdapat faktor – faktor pembekuan darah.



Gambar II.2. Mekanisme Pembekuan Darah (Rohim, 2018)

Mekanisme pembekuan darah terjadi dengan melibatkan banyak faktor pembekuan darah seperti Tabel 2.2. Faktor III atau tromboplastin akan berinteraksi dengan faktor VIIa untuk mengaktifkan faktor Stuart-Power atau faktor X. Faktor X yang teraktivasi akan mengubah protrombin menjadi trombin dibantu dengan faktor lainnya seperti faktor Va, faktor IV, dan fosfolipid. Trombin yang terbentuk akan membentuk monomer fibrin atau faktor Ia dengan mengubah fibrinogen. Monomer fibrin yang tidak stabil akan dipengaruhi oleh faktor XIII agar stabil dan resisten terhadap enzim proteolitik. Pada jalur intrinsik faktor pembekuan darah terjadi lebih cepat, hal ini terjadi apabila sel endotel pembuluh darah mengalami kerusakan. Faktor XII membentuk kompleks dengan

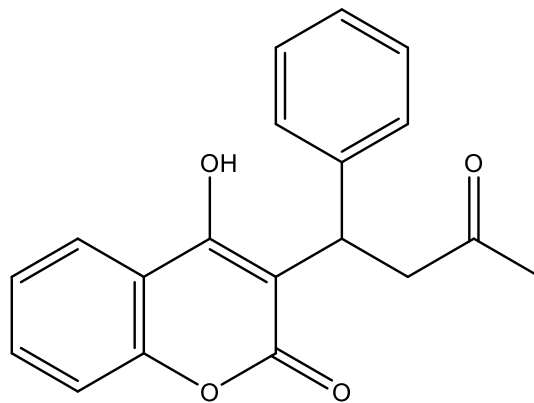
prekalikrein, dan *high molecular weight kininogen*. Faktor XII yang telah teraktivasi akan memicu faktor XI untuk mengaktivasi faktor IX yaitu faktor Christmas yang berfungsi untuk berikatan dengan faktor pembekuan darah. Faktor X akan teraktivasi oleh faktor IX, VII, ion kalsium dan fosfolipid sehingga terjadi pembentukan trombin dan protrombin (Rohim, 2018).

Tabel II.1. Faktor Pembekuan Darah (Leite, Martins, & Castilho, 2016; Tan & Lee, 2021)

No	Faktor Pembekuan	Nama Faktor Pembekuan	Keterangan
1	I	Fibrinogen	Prekursor fibrin (protein terpolimerisasi)
2	II	Protrombin	Prekursor enzim proteolitik thrombin
3	III	Tromboplastin	Aktivator lipoprotein jaringan pada thrombin
4	IV	Kalsium	Aktivasi thrombin dan pembentukan fibrin
5	V	Akselerator plasma globulin	Mempercepat konversi protrombin menjadi thrombin
6	VII	Akselerator konversi protrombin serum	Mempercepat konversi protrombin
7	VIII	Globulin antihemofilik (AHG)	Plasma yang berikatan dengan faktor III dan faktor IX; aktivasi protrombin
8	IX	Faktor Christmas	Berikatan dengan factor pembekuan darah
9	X	Faktor Stuart-Power	Faktor plasma dan serum, akselerator konversi protrombin
10	XI	Pendahulu Tromboplastin Plasma (PTA)	Diaktivasi oleh faktor XII (Hageman), akselerator pembentukan thrombin
11	XII	Faktor Hageman	Faktor plasma; mengaktivasi PTA
12	XIII	Faktor Penstabil Fibrin	Menghasilkan bekuan fibrin yang lebih kuat
13	-	Faktor Fletcher (Prakalikrein)	Faktor pengaktivasi kontak
14	-	Faktor Fitzgerald	Faktor pengaktivasi kontak

2.4. Warfarin

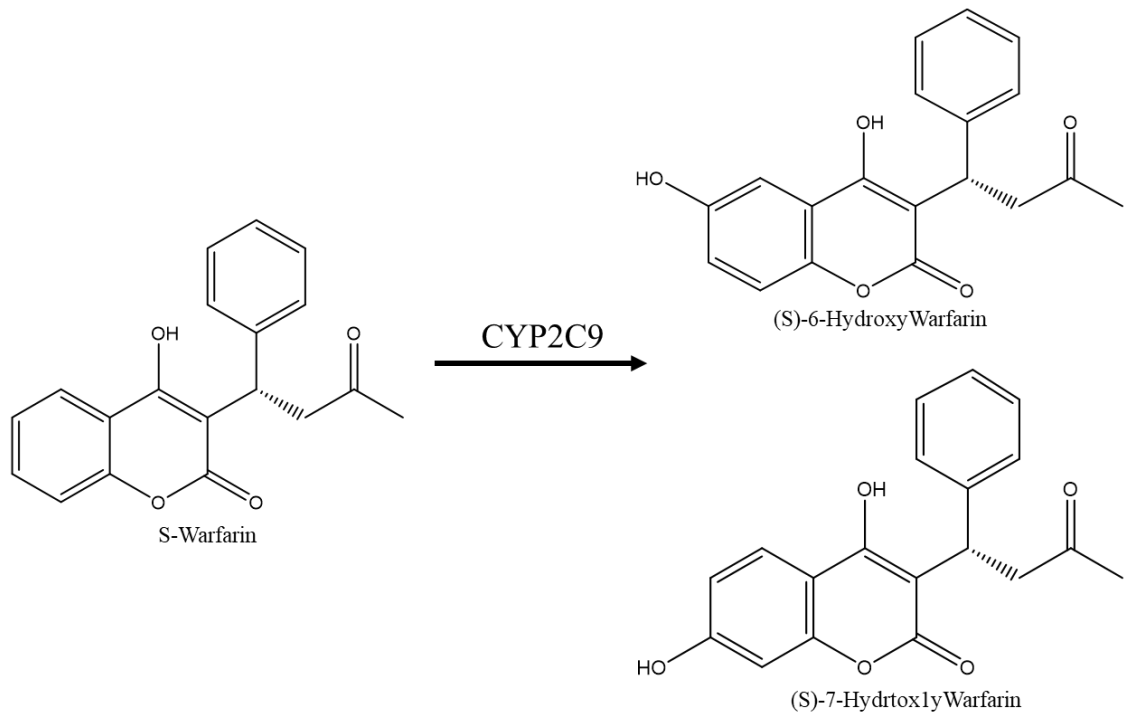
Warfarin merupakan obat antikoagulan oral yang paling umum digunakan untuk mengobati atau mencegah penyakit yang berkaitan dengan kardiovaskuler yang disebabkan oleh tromboembolisme yang berperan dalam pencegahan terjadinya penyumbatan pembuluh darah seperti stroke dan gejala penyebab serangan jantung. Warfarin bekerja dengan menjadi antagonis aktivasi dari Vitamin K atau sebagai Vitamin K Antagonist (VKA) dengan menghambat enzim Vitamin K Epoxide Reduktase Kompleks 1 (VKORC1) yang berfungsi mengoksidasi dan mereduksi Vitamin K sesuai dengan kebutuhan faktor koagulan darah, dengan hal tersebut warfarin dapat mengganggu faktor – faktor koagulasi darah yang dipengaruhi oleh vitamin K seperti faktor koagulan II, VII, IX, X, dan anti koagulasi C dan S. (Leite dkk., 2016; Tan & Lee, 2021)



Gambar II.3. Struktur Warfarin (Ufer, 2005).

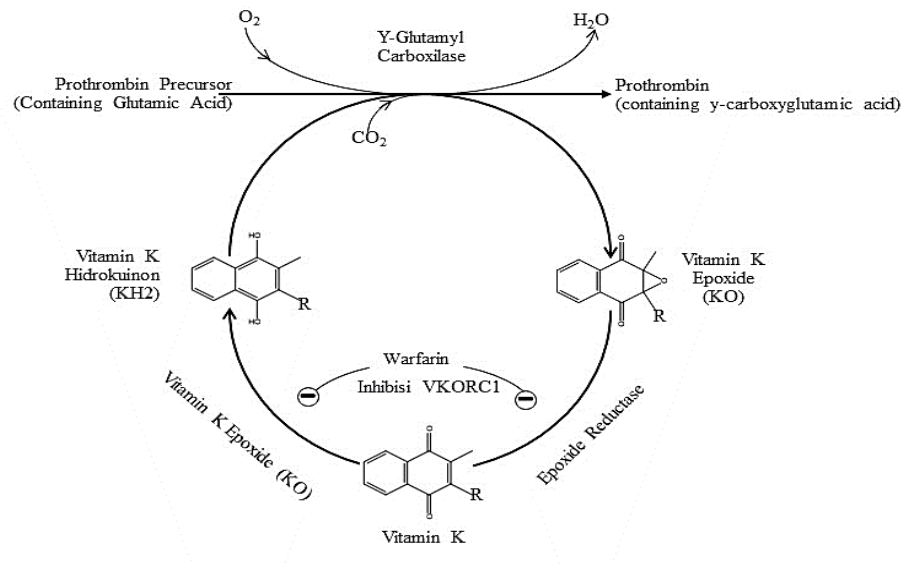
Warfarin merupakan obat yang memiliki indeks terapi yang sempit yang artinya apabila terjadi perubahan yang berkaitan dengan kadar obat dalam darah maka efek yang ditimbulkannya akan cukup signifikan terhadap terapi nya. Dalam menemukan terapi yang efisien dan optimal untuk warfarin sangat banyak faktor yang dapat memengaruhi mulai dari demografi pasien seperti usia, berat badan, jenis kelamin, luas permukaan tubuh, dan dari faktor farmakologi juga warfarin dapat berinteraksi dengan 2.021 molekul obat dan 1.440 sudah tervalidasi adanya interaksi (Gong dkk., 2011; Wishart dkk., 2018). Warfarin diserap dengan sempurna pada saluran pencernaan atau *Gastrointestinal tract*, maka konsentrasi puncak dari warfarin tablet yaitu selama 4 jam. Efek anti koagulasi warfarin dapat terjadi 24 hingga 72 jam setelah dikonsumsi. Dengan waktu puncak untuk efek terapeutik dari warfarin dapat terlihat dalam 5 sampai 7 hari dari terapi pertama. Namun perubahan INR atau International Normalized Ratio yang merupakan waktu yang

dibutuhkan oleh tubuh untuk pembekuan darah, dari warfarin sudah terjadi pada 36 sampai 72 jam setelah penggunaan terapi warfarin (Moyer dkk., 2009; Wigle dkk., 2019). Warfarin pada dasarnya dimetabolisme oleh dua enzim utama yaitu CYP450 2C9 dan CYP450 3A4, CYP450 2C9 adalah enzim yang menjadi katalisator metabolit *S*-warfarin atau warfarin dalam kondisi aktif menjadi metabolit yang lebih kecil lagi yaitu 7-OH-warfarin yang siap untuk di eksresikan, dan CYP450 3A4 adalah enzim yang memetabolisme *R*-warfarin menjadi 10 – OH – warfarin yang nanti nya akan dieliminasi melalui sistem ekskresi, 80% dari dosis total tereksresikan di urin dan 20% di feses.(Ufer, 2005) Dari kedua enzim tersebut CYP2C9 merupakan enzim utama yang dapat memetabolisme secara keseluruhan zat aktif dari warfarin yang berperan penting terhadap siklus vitamin K yaitu metabolit *S*-warfarin. Metabolit warfarin *R* memiliki waktu paruh 37 – 89 jam dan *S*-Warfarin 21- 43 jam (Wishart dkk., 2018).



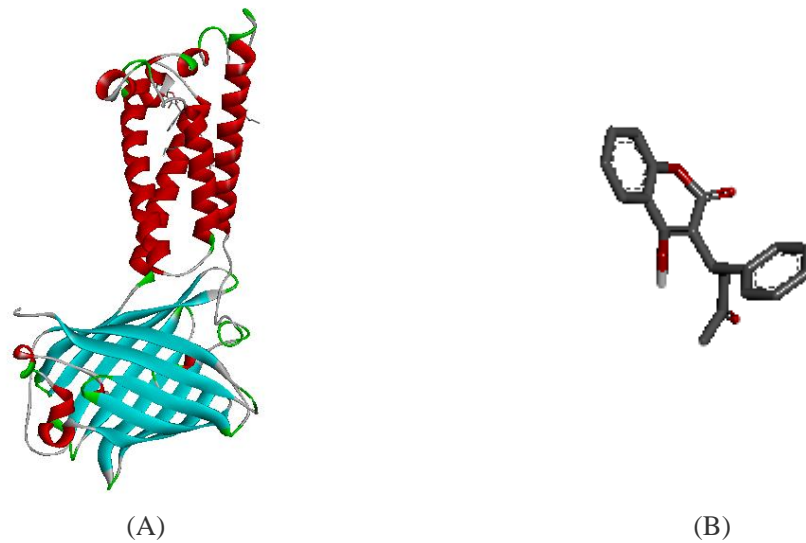
Gambar II.4. Metabolisme CYP2C9 terhadap enansiomer *S*-Warfarin (Akamine & Uno, 2012).

2.5.Mekanisme Kerja Warfarin



Gambar II.5. Siklus Vitamin K dan Intervensi Warfarin (Nutescu dkk., 2016).

Turunan dari vitamin K (KH₂ atau hydroquinone vitamin K) merupakan salah satu faktor penting dalam pemenuhan koagulasi atau pembekuan darah, vitamin K diperlukan oleh enzim pengaktivasi yaitu enzim Gamma – glutamyl Karboksilase empat dari dua belas faktor pembekuan darah yaitu faktor pembekuan darah II, VII, dan X dan juga diperlukan untuk sintesis dari protein anti koagulasi darah C, S dan Z. Faktor pembekuan darah ini disusun dari banyak senyawa prekursor dan nantinya diaktivasi oleh Gamma – Glutamyl Karboksilase yang merupakan residu asam glutamat pada terminal NH₂, Gamma – Glutamyl Karboksilase ini memerlukan adanya vitamin KH₂ yang merupakan hasil reduksi dari vitamin K yang akan teroksidasi menjadi vitamin KO yang merupakan bentuk in – aktif dari vitamin K. Enzim *Vitamin K Epoxide Reductase Complex 1* (VKORC1) bekerja pada siklus vitamin K untuk terus menghasilkan vitamin KH₂ untuk sintesis faktor pembekuan darah. VKORC1 terbagi menjadi Vitamin K epoxide reductase (VKOR) dan vitamin K1 reduktase, VKOR dapat mengubah vitamin KO menjadi vitamin K, nantinya vitamin K ini akan diubah oleh vitamin K1 reduktase menjadi KH₂ yang merupakan senyawa aktif dari vitamin K. Dengan penggunaan warfarin kerja enzim VKORC1 terhambat sehingga pembentukan vitamin KH₂ yang diperlukan untuk pembekuan darah berkurang (Donaldson & Harrington, 2017; Nutescu dkk., 2016).



Gambar II.6 Enzim VKORC1 (6WV3)
(A) Enzim VKORC1, Kode PDB 6WV3 dan (B) Ligan Alami SWF.

Pada Gambar 2.6. merupakan enzim VKORC1 yang menjadi target kerja dari warfarin. Enzim ini diperoleh dari Protein Data Bank dengan kode PDB 6WV3 ini merupakan enzim yang akan digunakan dalam penelitian ini, untuk menguji aktivitas yang ditimbulkan dari ligan atau senyawa yang akan diujikan. Dalam enzim dengan kode 6WV3 ini memiliki ligan alami yang merupakan salah satu enansiomer dari warfarin yaitu *S*-Warfarin dengan kode SWF. Enzim ini memiliki resolusi 2.20 Å dengan metode Difraksi sinar X-Ray. Enzim ini tersusun dari 154 asam amino, dan memiliki dua molekul lain selain SWF yaitu OLC dan CRO yang berperan sebagai peptida penghubung (Priestnall dkk., 2020).

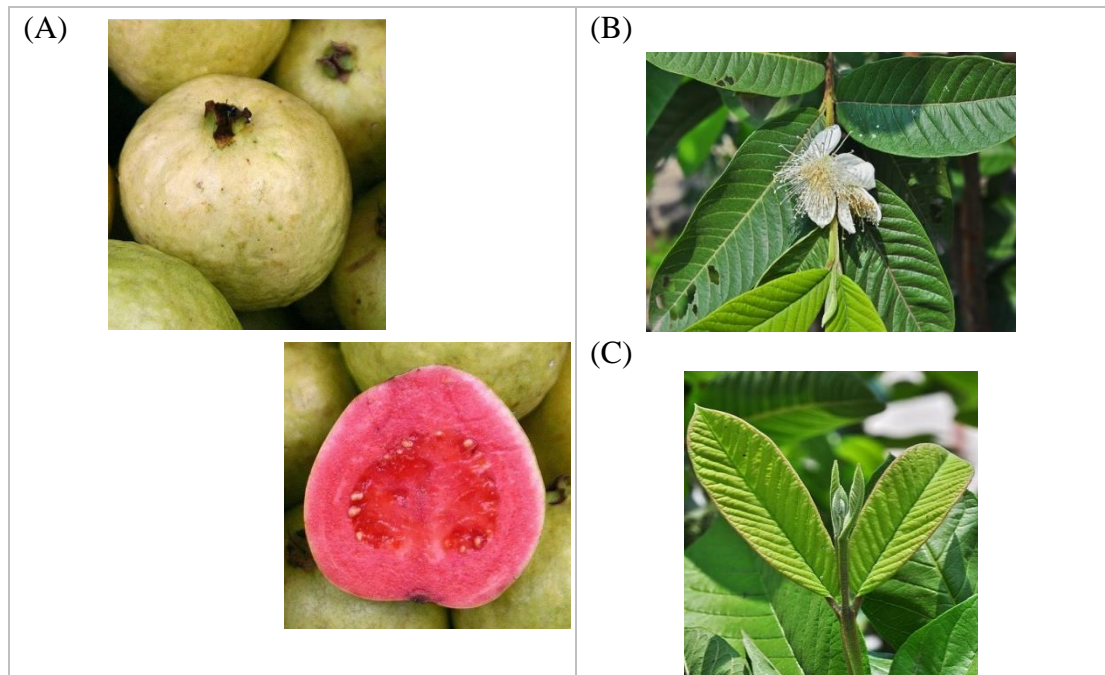
2.6.Deskripsi Tumbuhan *Psidium Guajava L.*

Psidium Guajava L. atau dikenal dengan sebut jambu biji merupakan tanaman yang berasal dari Amerika Serikat Tengah, lalu menyebar ke kawasan Asia Tenggara hingga ke Indonesia melalui Thailand. Jambu biji merupakan salah satu buah yang sudah terkenal di kalangan masyarakat, tanaman ini sering ditemui di seluruh daerah Indonesia. Tanaman jambu biji merupakan salah satu tumbuhan yang berasal dari famili Myrtaceae, Jambu biji merupakan tanaman perdu atau semak, pohon dari jambu biji dapat tumbuh hingga sembilan meter. Batang dari jambu muda berwarna hijau atau merah muda berbentuk segiempat, dengan serambut berwarna keabu abuan, sedangkan batang tua dari jambu biji berbentuk bulat dan keras, kulit batang jambu berwarna cokelat kemerahan dengan tekstur licin, tipis dan mudah terlepas jika sudah mengering (Fadhilah, Susanti,

& Gultom, 2018). Daun pada tanaman jambu biji ini merupakan salah satu daun dengan struktur daun tunggal dan beraroma khas apabila diremas, tulang dari daun ini berbentuk menyirip. Bentuk dari daun jambu biji cukup beragam yaitu bentuk daun lonjong, jorong, dan bundar telur terbalik, namun bentuk paling banyak ditemui yaitu bentuk daun lonjong, perbedaan bentuk daun pada tanaman jambu biji ini dapat dipengaruhi oleh faktor internal seperti genetik, dan faktor eksternal seperti faktor lingkungan (Bulugahapitiya dkk., 2021; Cahyono, 2010; Fadhilah dkk., 2018)

2.6.1. Klasifikasi Tumbuhan

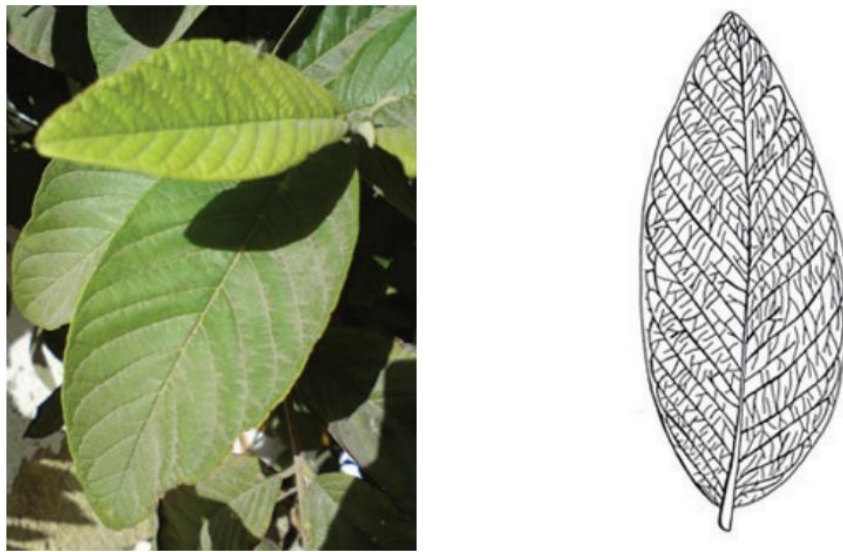
Kingdom : *Plantae*
Domain : *Eukaryota*
Kingdom : *Plantae*
Phylum : *Spermatophyta*
Subphylum : *Angiospermae*
Class : *Dicotyledonae*
Order : *Myrtales*
Family : *Myrtaceae*
Genus : *Psidium*
Species : *Psidium guajava* L.



Gambar II.7. Visualisasi Bagian Tanaman *Psidium Guajava* L; (A) Bagian Buah; (B) Bunga Bunga; (C) Bagian Daun (Candra dkk., 2014).

2.6.2. Kandungan Senyawa Kimia

Kandungan kimia tumbuhan jambu biji memiliki efek farmakologi seperti alkaloid, steroid, saponin, fenol, kuersetin, triterpenoid, dan tanin. Pada daun kering dari *Psidium Guajava* L. terdapat senyawa steroid, saponin, fenol, dan tanin (Ngbolua, 2018; Simbolon dkk., 2021). Pada daunnya sendiri senyawa yang paling banyak ditemukan yaitu turunan kuersetin, senyawa ini dapat ditemukan dalam berbagai fraksi pelarut seperti pada pelarut etil asetat, *n*-butanol, ekstrak etanol, akuades, aseton, asam asetat, dan metanol (Alnaqeeb dkk., 2019; Bulugahapitiya dkk., 2021).



Gambar II.8. Visualisasi Daun *Psidium guajava* (Metwally dkk., 2011).

Senyawa kuersetin ini merupakan salah satu marker dari tanaman *psidium guajava*. Terdapat berbagai jenis senyawa golongan kuersetin yang ada pada tanaman ini. Pada daun nya sendiri seperti pada Tabel 2.2 setidaknya ada sembilan jenis senyawa kuersetin (Metwally dkk., 2011).

Tabel II.2. Senyawa Kuersetin Pada Daun Jambu Biji

Kode Senyawa	Nama Senyawa	Nama IUPAC
Q1	<i>Quercetin</i>	2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxychromen-4-one
Q2	<i>Avicularin</i>	3-[(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> ,4 <i>R</i> ,5 <i>S</i>)-3,4-dihydroxy-5-(hydroxymethyl)oxolan-2-yl]oxy-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxychromen-4-one
Q3	<i>Guaijaverin/</i> <i>Quercetin-3-o-alpha-d-arabinofuranoside</i>	3-[(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-3,4-dihydroxy-5-(hydroxymethyl)oxolan-2-yl]oxy-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxychromen-4-one
Q4	<i>Isoquercetin/</i> <i>Quercetin-3-glucoside</i>	4-[5,7-dihydroxy-4-oxo-3-[(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>R</i>)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxychromen-2-yl]-2-hydroxyphenolate
Q5	<i>Hyperoside</i>	2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-3-[(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> ,6 <i>R</i>)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxychromen-4-one
Q6	<i>Quercitrin</i>	2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-3-[(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> ,4 <i>R</i> ,5 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxychromen-4-one
Q7	<i>Quercetin 3-O-beta-D-arabinofuranoside</i>	3-[(2 <i>S</i> ,3 <i>S</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-3,4-dihydroxy-5-(hydroxymethyl)oxolan-2-yl]oxy-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxychromen-4-one
Q8	<i>Quercetin-3-O-gentiobioside</i>	2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-3-[(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>R</i>)-3,4,5-trihydroxy-6-[(2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>R</i>)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxymethyl]oxan-2-yl]oxychromen-4-one
Q9	<i>Quercetin 4'-glucuronide</i>	(2 <i>S</i> ,3 <i>S</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-3,4,5-trihydroxy-6-[2-hydroxy-4-(3,5,7-trihydroxy-4-oxochromen-2-yl)phenoxy]oxane-2-carboxylic acid

Selain golongan senyawa kuersetin, senyawa dari golongan lain seperti alkaloid, fenolik, dan flavonoid yang diperoleh dari ekstrak etanol daun jambu biji dapat memberikan efek antikoagulasi (Arenajo dkk., 2018).

Tabel II.3. Senyawa Golongan Alkaloid, Flavonoid, dan Fenolik pada daun Jambu Biji (Fathi dkk., 2019).

Kode Senyawa	Nama Senyawa	Nama IUPAC
A1	<i>Kaempfertin</i>	3,5,7-trihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chromen-4-one
A2	<i>Isoquinoline</i>	isoquinoline
A3	<i>Corilagin</i>	[(1 <i>S</i> ,19 <i>R</i> ,21 <i>S</i> ,22 <i>R</i> ,23 <i>R</i>)-6,7,8,11,12,13,22,23-octahydroxy-3,16-dioxo-2,17,20-trioxatetracyclo[17.3.1.0 ^{4,9} .0 ^{10,15}]tricos-4,6,8,10,12,14-hexaen-21-yl] 3,4,5-trihydroxybenzoate
F1	<i>Cathechin</i>	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i>)-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,4-dihydro-2 <i>H</i> -chromene-3,5,7-triol
F2	<i>Kaempferol</i>	3,5,7-trihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chromen-4-one
F3	<i>Rutin</i>	2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-3-[(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>R</i>)-3,4,5-trihydroxy-6-[(2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,4 <i>R</i> ,5 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxymethyl]oxan-2-yl]oxychromen-4-one
F4	<i>Heperetin</i>	(2 <i>S</i>)-5,7-dihydroxy-2-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)-2,3-dihydrochromen-4-one
F5	<i>Apigenin</i>	5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chromen-4-one
P1	Asam Gallat	3,4,5-trihydroxybenzoic acid
P2	<i>Caffeic acid</i>	(<i>E</i>)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)prop-2-enoic acid
P3	<i>Coumaric Acid</i>	(<i>E</i>)-3-(4-hydroxyphenyl)prop-2-enoic acid
P4	<i>Ferulic Acid</i>	(<i>E</i>)-3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)prop-2-enoic acid
P5	<i>Cinnamic acid</i>	(<i>E</i>)-3-phenylprop-2-enoic acid
P6	<i>Resorcinol</i>	benzene-1,3-diol
P7	<i>Chlorogenic acid</i>	(1 <i>S</i> ,3 <i>R</i> ,4 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)-3-[(<i>E</i>)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)prop-2-enoyl]oxy-1,4,5-trihydroxycyclohexane-1-carboxylic acid
P8	<i>Rosmarinic Acid</i>	(2 <i>R</i>)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-[(<i>E</i>)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)prop-2-enoyl]oxypropanoic acid
P9	<i>Syringic Acid</i>	4-hydroxy-3,5-dimethoxybenzoic acid

2.6.3. Aktivitas Farmakologi

Psidium Guajava L ini sudah digunakan untuk herbal secara empirik sejak dahulu kala, penyembuhan bermacam penyakit berdasarkan kepercayaan nenek moyang daerah atau negaranya masing, salah satu efek utamanya sering digunakan untuk anti diare (Díaz-de-Cerio dkk., 2017).

Di era yang sudah modern seperti sekarang ini banyak peneliti – peneliti yang menguji atau membuktikan efek farmakologi yang dihasilkan dari tumbuhan jambu biji. Tumbuhan ini digunakan untuk pengobatan Reumatik, Diare, Diabetes Melitus, dan Batuk di negara India, Cina, Pakistan, dan Banglades, di daerah asia tenggara sendiri pemanfaatan daun dari jambu ini banyak digunakan untuk gargle atau obat pencuci mulut. Di daerah Meksiko, Brazil dan Filipina, tumbuhan ini banyak digunakan untuk pengobatan luka, di Indonesia sendiri banyak mengkaji terkait efek anti inflamasi, dan diuretik (Díaz-de-Cerio dkk., 2017).

Dari beberapa penelitian menunjukkan untuk efek antioksidan dapat ditemukan dengan ekstraksi dengan beberapa jenis pelarut seperti menggunakan pelarut etanol, akuades, eter benzena, etil asetat, dan metanol. Efek antikoagulan dan pembersih gigi dapat diperoleh dengan proses ekstraksi menggunakan akuades. Efek anti diare dapat diperoleh melalui proses ekstraksi etanol dan akuades. Dan aktivitas anti diabetes dapat diperoleh dari ekstrak metanol, akuades, etanol, heksan, eter, kloroform, *butanol*, dan etil asetat (Bulugahapitiya dkk., 2021).

2.6.4. Interaksi Daun Jambu Biji dan Efek Antikoagulasi

Dibalik banyaknya manfaat dan kegunaan dari daun jambu biji, ekstrak atau herbal dari kedua komponen tanaman tersebut dapat berpengaruh terhadap pembekuan darah. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Althea dkk, ekstrak etanol dari komponen tanaman tersebut dapat memberikan efek antikoagulasi yang sama dan terlihat signifikan dibandingkan dengan aspirin. Yaitu adanya efek inhibisi terhadap pembentukan pembekuan darah yang dan penggumpalan darah untuk pencegahan penyakit seperti stroke dan lain lain. Namun untuk mekanisme dari penghambatan tersebut belum diketahui secara pasti. Maka dari itu pendekatan secara komputasi dengan menggunakan metode penambatan molekul dan dinamika molekul dapat dilakukan untuk mengetahui mekanisme atau target kerja dari senyawa yang ada pada daun jambu biji tersebut (Arenajo dkk., 2018).

2.7. Penambatan Molekul

Docking atau penambatan molekul merupakan suatu metode komputasi yang mensimulasikan bagaimana bentuk atau pose dari ikatan terbaik antara ligan dan reseptor. *Docking* dapat dilakukan dengan syarat struktur antara ligan maupun protein diketahui, untuk memperoleh struktur dari protein dan ligan dapat dilakukan pencarian struktur yang diperlukan di beberapa database yang ada seperti Protein Data Bank (PDB), PubChem, dan lain – lain. Penambatan molekuler atau *Molecular Docking* biasanya digunakan untuk memprediksi arah atau bentuk ikatan dan afinitas dari ligan terhadap protein target, pada simulasi docking ligan bergerak seperti robot menjelajahi protein, dan mencari pose yang paling optimal pada protein aktif *site* setelah beberapa konformasi. Konformasi ini terdiri dari perubahan orientasi, translasi, dan rotasi dari struktur ligan tersebut atau *torsional rotation* (Zhang dkk., 2019).

Aplikasi yang sering digunakan untuk proses *docking* ini yaitu AutoDock, GOLD, dan FlexX Hasil dari simulasi *docking* ini berupa log atau catatan yang dapat disimulasikan menggunakan software *Discovery Studio Visualizer* mengenai bentuk terbaik dari ikatan antara ligan dan reseptor pada sisi dan pose terbaik yang dihasilkan dari proses docking tadi (Rarey dkk., 2008; Tripathi & Misra, 2017)

2.7.1. AutoDock

Autodock merupakan program penambatan terotomatis, program ini digunakan untuk memprediksi interaksi yang terjadi dari penambatan molekul kecil pada reseptor. Autodock terdiri dari dua cara kerja utama yaitu dengan melakukan penambatan dari ligan dari suatu senyawa dengan grid set yang telah di kalkulasi oleh AutoGrid untuk penempatan dari ligan tersebut pada suatu protein.

Autodock mengkombinasikan medan gaya energi bebas empiris dengan Lamarckian genetic Algorithm, yang dapat menghasilkan prediksi yang cepat dari ikatan dengan beragam konformasi atau bentuk namun juga dibarengi dengan prediksi dari energi bebasnya. Pada AutoDock, konsep algoritma genetik diaplikasikan untuk menganalogikan konformasi, orientasi, dan translasi dari ligan terhadap protein. Kondisi ligan ini disebut sebagai genotipe dan koordinat atom merupakan fenotipe (Zhang dkk., 2019).

Hasil dari penambatan molekul menggunakan Autodock diperoleh konformasi dari interaksi ligan dan protein dengan menghitung jumlah energi yang dihasilkan dari berbagai macam interaksi yang tidak terikat seperti interaksi van der Waals, dan

elektrostatika, selain itu juga energi dari ikatan hidrogen, ionik efek hidrofobik, dan entropi yang ada pada ikatan tersebut.

Selain dari interaksi ikatan, dengan menggunakan AutoDock diperoleh Energi bebas gibbs (ΔG) dengan satuan kkal/mol. ΔG ini menyatakan kekuatan interaksi yang terjadi antara ligan dengan protein targetnya. Semakin rendah nilai ΔG maka semakin baik afinitas yang terjadi antara ligan dan reseptor pada protein target kerjanya (Romano T. Kroemer, 2007).

$$\Delta G = -RT \ln KA \quad (2.1)$$

$$KA = Ki - 1 = \frac{[EI]}{[E][I]} \quad (2.2)$$

Dan terakhir diperoleh nilai konstanta inhibisi (K_i) yang menyatakan afinitas dari ligan dengan reseptor pada protein. Semakin kecil nilai K_i maka semakin baik efek inhibisi yang dihasilkan ligan tersebut terhadap suatu protein (Romano T. Kroemer, 2007).

2.7.2. *Grid Box*

Grid box merupakan tempat atau lokasi ligan untuk berinteraksi dengan reseptor target seperti protein atau enzim target, pada proses docking *Grid box* merupakan salah satu parameter yang diperlukan. *Grid box* terdiri dari *center* dan *size grid box* yang dapat ditentukan dengan melihat koordinat sisi aktif dari suatu protein target, penentuan grid box ini dapat dilakukan salah satunya dengan menggunakan aplikasi *AutoDock Tools* (Wardani, 2012).

2.7.3. *Search Algorithm*

Search algorithms atau algoritma pencarian adalah salah satu metode sistematis untuk memprediksi konformasi ikatan dari ligan dan protein, pada docking sendiri *search algorithm* dikombinasikan dengan scoring function untuk memprediksi afinitas ikatan dari interaksi antara ligan dan protein. Penggunaan dari *search algorithm* dapat dan harus menghasilkan konfigurasi – konfigurasi, pose dan orientasi pengikatan target yang ditentukan secara eksperimental yang optimal (Naga Madhavalatha & Rama Mohan Babu, 2019). *Search algorithm* ini cukup beragam dan banyak jenis nya bergantung pada aplikasi docking, salah satunya pada aplikasi Autodock digunakan algoritma dari *Lamarckian Genetic Algorithm* (LGA). LGA sendiri merupakan gabungan dari *Genetic Algorithms* dengan *Local Search adaptive method*, gabungan dari kedua ini dapat

meningkatkan kinerja dari *annealing* dan *Genetic algorithm* dalam mencapai kondisi optimum untuk interaksi ligan dan protein (Morris dkk., 1998).

LGA sendiri merupakan *search algorithm* terbaik dibandingkan tiga metode pencarian algoritma lainnya yang ada pada autodock, seperti *simulated annealing*, dan *genetic algorithm*. Hal ini didasarkan dari efisiensi, reliabel dan tingkat keberhasilan yang tinggi dari LGA sebagai *search algorithm* (Morris dkk., 1998).

2.7.4. Validasi Penambatan Molekul

Validasi Penambatan molekul merupakan salah satu tahapan sebelum melakukan simulasi penambatan molekul, validasi penambatan molekul dilakukan untuk menguji kesesuaian metode penambatan molekul yang akan digunakan. Validasi penambatan molekul ini dilakukan dengan melakukan kembali penambatan molekul senyawa ligan alami pada protein asalnya. Pada proses validasi ini molekul air yang ada pada protein maupun ligan dihilangkan agar tidak berinteraksi dengan protein maupun ligan. Selain itu juga dilakukan penambahan hidrogen pada ligan dan protein (Kerzmann dkk., 2006; Leelananda & Lindert, 2016). Parameter dari validasi penambatan molekul ini dapat dikatakan sesuai atau dapat digunakan apabila hasil dari validasi penambatan molekul berupa nilai RMSD atau *Root Mean Square Deviation* mendekati atau lebih kecil dari $\leq 2.0 \text{ \AA}$ (Sargsyan dkk., 2017).

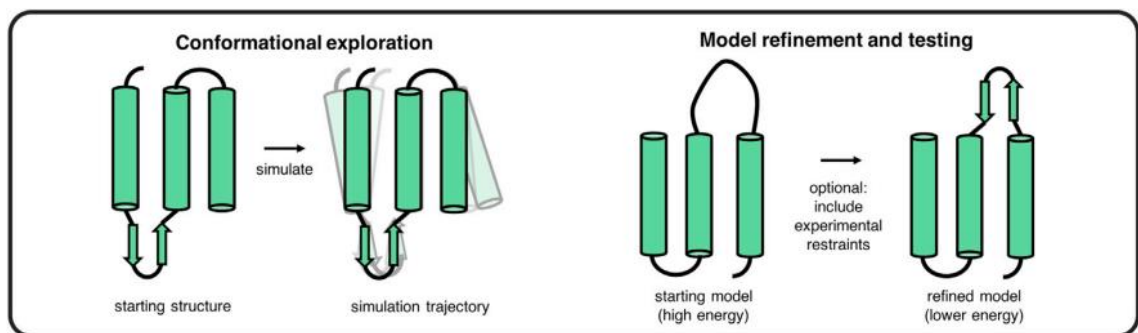
2.7.5. Analisis Interaksi

Analisis interaksi dilakukan setelah proses simulasi penambatan molekul dilakukan, analisis interaksi ini dilakukan untuk melihat hasil yang diperoleh dari penambatan antara ligan yang diujikan. Parameter – parameter yang dianalisis pada tahapan ini yaitu residu asam amino, ikatan hidrogen, energi bebas ikatan, dan konstanta inhibisi. Pada tahapan ini juga dilakukan visualisasi interaksi antara residu asam amino dengan ligan. Hal tersebut diperlukan untuk dilakukan analisa terkait *Binding Site*, konformasi yang terbentuk, dan bentuk ikatan yang terjadi antara ligan dan protein. Proses analisis ini juga dapat dilakukan dengan berbagai algoritma – algoritma yang tersedia. Masing masing dari algoritma ini memiliki karakteristik dan fungsinya yang berbeda – beda. Contohnya algoritma *Multiple Copy Simultaneous Search* (MCSS) yang berfokus pada peningkatan binding target dari protein dengan membuat copy dari functional grup secara besar (Eisen dkk., 1994; Miranker & Karplus, 1991). Selain itu ada algoritma LUDI yang berfokus pada ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik (Böhm, 1992). Selain dua algoritma tadi,

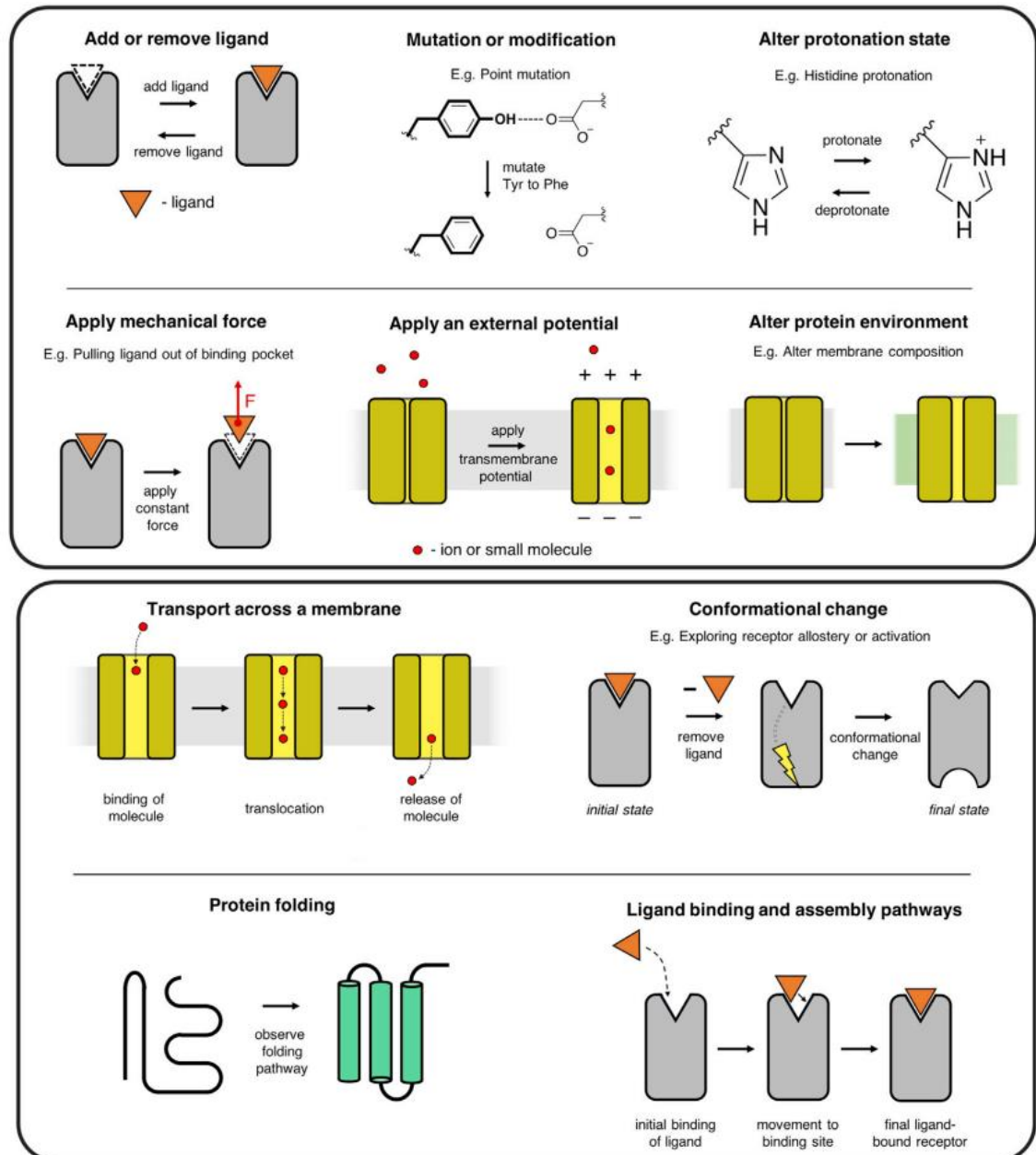
terdapat algoritma lain yang dapat digunakan seperti *Genetic Algorithms*, *Matching Algorithms*, *Monte Carlo*, dan lain – lain (Meng dkk., 2012). Proses analisis interaksi ini dapat dilakukan menggunakan perangkat lunak *Discovery Studio* dengan menggunakan hasil simulasi penambatan molekul terbaik (Sari dkk., 2020).

2.8. Simulasi Dinamika Molekuler

Simulasi dinamika molekul merupakan suatu metode yang dapat digunakan untuk memahami bagaimana protein atau biomolekul yang lain dapat bekerja. Dinamika molekul bukanlah suatu hal yang baru, metode ini mulai digunakan pada tahun 1950an, dan simulasi dari dinamika molekul sendiri pertama kali dilakukan pada tahun 1970. Meskipun sudah lama ditemukan penggunaan metode ini mulai sering digunakan dan dimanfaatkan baru baru ini. Dinamika Molekuler merupakan suatu metode yang dapat digunakan untuk menganalisis kekuatan interaksi antara molekul – molekul atom dengan jangka waktu tertentu dengan parameter fisika seperti hukum newton dan hukum mekanika klasik (Astuti & Mutiara, 2011). Pemanfaatan metode simulasi Dinamika Molekuler dapat digunakan untuk menganalisis proses biomolekuler seperti pengikatan ligand atau *ligand binding*, *protein folding*, atau transpor membran. (Hollingsworth & Dror, 2018).

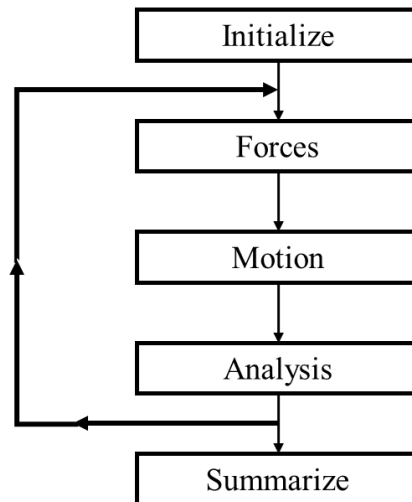


Gambar II.9. Ilustrasi Analisis Konformasi Stabilitas dan Fleksibilitas (Hollingsworth & Dror, 2018).



Gambar II.10. Proses Dinamika Molekuler (Hollingsworth & Dror, 2018).

Dengan menggunakan metode ini juga dapat diperoleh informasi mengenai pola, kekuatan, serta aktivitas dari protein. Kekuatan dari suatu molekul perlu diketahui untuk mengetahui pergerakan dari molekul tersebut. Metode ini sering dikombinasi dengan berbagai berbagai komponen analisis *biological structural* seperti *X – ray crystallography*, *Nuclear magnetic resonance* atau *NMR*, *cryo – electron microscopy*, *electron paramagnetic resonance*, dan *Forster resonance energy transfer* (Hollingsworth & Dror, 2018; Hospital dkk., 2015). Tahapan dari proses Dinamika Molekuler dapat ilustrasikan seperti pada Gambar 2.12.



Gambar II.11. Tahapan Dinamika Molekuler (Astuti & Mutiara, 2011).

Dalam pelaksanaanya simulasi Dinamika Molekuler dapat dilaksanakan dengan menggunakan berbagai aplikasi atau perangkat lunak seperti AMBER, GROMACS, NAMD, CHARMM, Desmond, dan OpenMM (Hollingsworth & Dror, 2018).

2.8.1. Topologi

Topologi merupakan kata yang berasal dari bahasa Yunani yang terdiri dari dua kata yaitu, *Topo* yaitu tempat dan *logos* adalah ilmu, dalam kimia medisinal sendiri indeks topologi sering digunakan karena dengan indeks topologi dapat dilakukan pengukuran cabang molekul, bentuk, ukuran, siklisitas, simetri, sentrisitas, dan kompleksitas (Hu dkk., 2003). Topologi sendiri dalam dunia kimia medisinal merupakan salah satu tahapan yang ada pada dinamika molekuler, pada tahapan ini dilakukan pembentukan lingkungan dari ligan, makromolekul, dan kompleks antara ligan – makromolekul untuk nantinya disimulasikan. Pada pembuatan topologi ini, kompleks ligan – makromolekul dilakukan penetralan sistem dengan penambahan ion seperti ion natrium, lalu seluruh sistem dalam bentuk geometri dilarutkan dengan air dalam bentuk geometri tempat kompleks itu dapat bereaksi.

2.8.2. Produksi

Pada tahapan produksi dari simulasi dinamika molekuler terdapat proses utama dari dinamika molekuler yaitu menghitung besaran gaya yang ditimbulkan, memprediksi pergerakan dari atom. Menganalisis statistik dari data yang dihasilkan untuk setiap konfigurasi atom, tiga hal tersebut terjadi berulang terus menerus dalam proses dinamika molekuler.

Amber merupakan salah satu aplikasi yang dapat digunakan untuk melakukan dinamika molekuler. Aplikasi *amber* ini mulai dikembangkan dari tahun 1970an oleh salah satu penemu dan pengembangnya yaitu Professor Peter A. Kollman di *University of California*. *Amber* sendiri merujuk pada dua hal yaitu mekanika molekuler yang berkaitan dengan *force field* pada simulasi biomolekul, dan yang kedua merujuk pada satu kesatuan dari berbagai program yang berkaitan dengan simulasi dinamika molekuler. Namun dari bermacam – macam program yang ada pada *amber* sendiri dalam teknis penggunaan atau pengerjaannya digunakan secara bersama sama dengan berkesinambungan. Dalam pelaksanaan dinamika molekuler aplikasi *amber* ini terbagi menjadi dua yaitu AmberTools dan Amber. AmberTools merupakan serangkaian program yang digunakan untuk simulasi dan analisis, dan dengan di kombinasi menggunakan *amber* simulasi dapat dilakukan simulasi yang lebih luas (Case dkk., 2021).

2.8.3. RMSD

RMSD merupakan singkatan dari *Root Mean Square Deviation* yang dapat diartikan sebagai deviasi rata – rata akar kuadrat dari posisi atom. RMSD ini merupakan ukuran jarak antara protein dan rata – rata atom. RMSD sering digunakan untuk menganalisis pada tahapan dinamika molekuler untuk menetapkan periode ekuilibrasi dan kualitas simulasi biomolekuler. RMSD juga digunakan untuk menilai kecocokan hasil prediksi struktur protein dengan hasil kristalografi nya. Semakin kecil nilai RMSD maka semakin baik karena posisi ligan yang diperkirakan semakin mendekati konformasi semula (Rahmadi, Andika, & Nashihah, 2021; Sargsyan, Grauffel, & Lim, 2017).

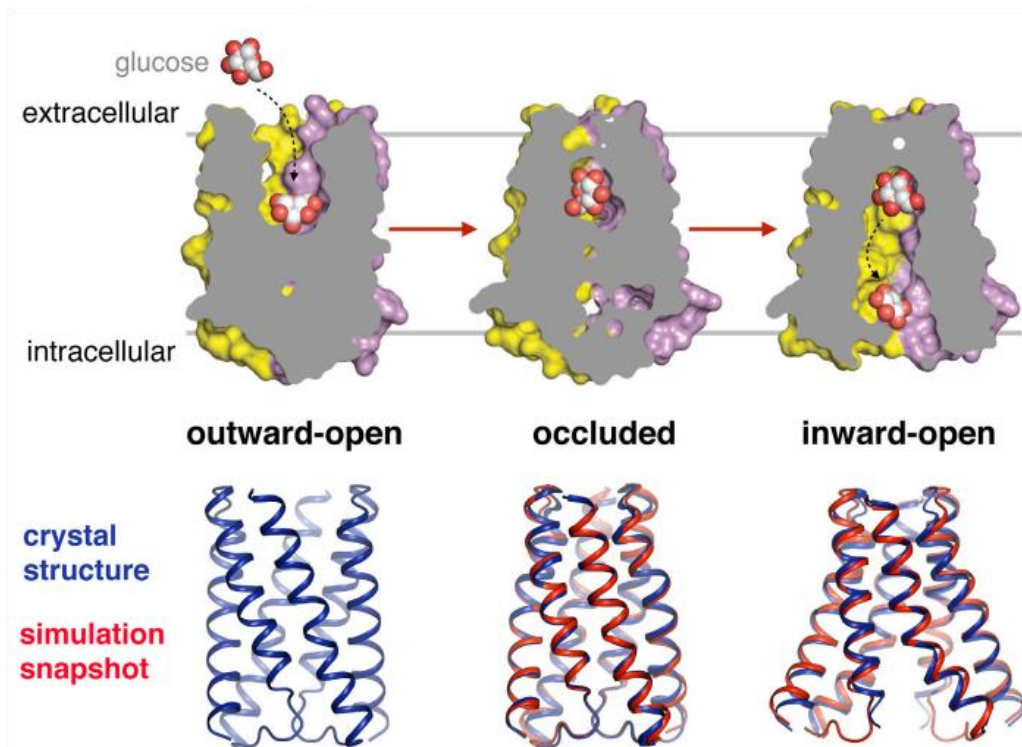
2.8.4. RMSF

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 ini diperoleh saat energi potensial dengan fluktuasi terkecil, yaitu ketika simulasi biomolekuler dimulai hingga simulasi berakhir. RMSF merupakan perhitungan dari residu penyusun protein. Nilai dari RMSF digunakan untuk dilihat sejauh mana fluktuasi dari pergerakan residu selama simulasi biomolekuler. Ikatan kuat yang terbentuk antara residu asam amino dengan ligan akan memiliki fleksibilitas dan fluktuasi yang rendah. Dengan begitu dapat dilihat mobilitas dan fleksibilitas dari protein dan dinamik korelasi dari residu (Chu dkk., 2013; Meduru dkk., 2016).

2.8.5. Analisis Interaksi dan Energi

Analisis interaksi merupakan hasil akhir atau tujuan yang dapat diperoleh dari tahapan simulasi Dinamika molekuler. Analisis Interaksi dan Energi juga merupakan salah satu parameter dari proses dinamika molekuler. Pada tahapan ini dilakukan pengkajian data yang dihasilkan selain dari nilai RMSD dan RMSF seperti interaksi ikatan hidrogen, dan energi potensial yang dihasilkan dari simulasi dinamika molekuler. Evaluasi energi potensial perlu dilakukan untuk menentukan waktu yang tepat untuk menganalisis RMSF. Energi potensial ini juga merupakan salah satu penentu kapan langkah produksi dapat dilakukan (Anggita Putri, 2011).

Analisis interaksi atau ikatan hidrogen, data ini diperoleh dari berkas parameter topologi pada perangkat lunak VMD. Dari data tersebut dilakukan analisa terkait kekuatan ikatan hidrogen yang dihasilkan dari simulasi dinamika molekuler. Dari hasil analisis Interaksi Hidrogen dan Energi Potensial ini nantinya akan diperoleh kestabilan suatu ikatan dari senyawa ligan dengan protein yang diujikan (Anggita Putri, 2011; Setiajid, 2012). Dari data tersebut juga dapat divisualisasikan yang terjadi, seperti pada Gambar 2.14.



Gambar II.12. Translokasi Substrat Pada Simulasi Dinamika Molekuler (Hollingsworth & Dror, 2018).

2.8.6. MM/GBSA

Sedangkan MMGBSA merupakan metode pendekatan untuk memperoleh perhitungan penyebaran atau kontribusi dari elektrostatis terhadap energi bebas. MMGBSA memiliki sensitivitas yang tinggi terhadap konstanta dielektrik terlarut, dan juga terkait karakteristik ikatan. Metode ini digunakan untuk menghitung atau memperkirakan afinitas dari ikatan antara reseptor atau makromolekul dan ligan. Hasil dari perkiraan metode ini sangat bergantung pada detail metodenya, seperti *charges*, konstanta dielektrik, entropi dan lain lain. Metode ini biasanya digunakan untuk memperkirakan energi bebas dari kompleks reseptor dan ligan yang dihasilkan dari simulasi dinamika molekular (Genheden & Ryde, 2015). Perhitungan matematika dari ikatan energi bebas dapat dijabarkan seperti perhitungan (2.3) dan (2.4). Perhitungan komponen perhitungan energi gas fase yang dapat memengaruhi ikatan energi bebas dapat dijabarkan pula dalam perhitungan (2.5) dan energi atau konstanta dielektrik terlarut pada perhitungan (2.6) (Tang dkk., 2017).

$$\Delta G_{bind} = \Delta G_{complex} = (\Delta G_{receptor} + \Delta G_{ligand}) \quad (2.3)$$

$$\Delta G_{bind} = \Delta G_{Gas} + \Delta G_{SCF} + \Delta G_{solv} \quad (2.4)$$

$$\Delta G_{Gas} = \Delta E_{bonded} + \Delta E_{vdW} + \Delta E_{ele} \quad (2.5)$$

$$\Delta G_{Solv} = \Delta G_{ele\ solv} + \Delta G_{nonpolar\ solv} \quad (2.6)$$

Komponen energi pada fase gas yaitu terdiri dari ΔE_{bonded} yaitu energi berikat, ΔE_{vdW} energi van der Waals, dan ΔE_{ele} energi elektrostatis. Untuk perhitungan GBSA ΔG_{Solv} terdiri dari $\Delta G_{ele\ solv}$ dan $\Delta G_{nonpolar\ solv}$ (Tang dkk., 2017).