

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit kardiovaskular merupakan penyakit tidak menular yang dapat menyerang jantung atau pembuluh darah yang tidak berfungsi secara normal. Lebih dari 3-4 kematian pada tahun 2030 diprediksi disebabkan oleh penyakit *non-communicable*, dengan 23,4 juta kematian disebabkan oleh penyakit kardiovaskular (CVD) (Sahoo *et al.*, 2022). Menurut *World Health Organization* (WHO), penyakit kardiovaskular merupakan penyebab utama kematian dengan estimasi 17,9 juta per tahun (World Health Organization, 2023). Faktor utama penyakit kardiovaskular adalah aterosklerosis. Aterosklerosis merupakan penyakit inflamasi pada arteri yang berkaitan dengan deposisi lipid dan perubahan metabolisme (Khan *et al.*, 2020). Penyakit ini disebabkan oleh penumpukan kolesterol yang disebabkan karena retensi lipoprotein, termasuk *Low Density Lipoprotein* (LDL) pada lapisan arteri intima (Kong *et al.*, 2022). Tahap awal aterosklerosis disebabkan oleh cedera endothelial, metabolisme lipid yang tidak normal, dan proses aterogenik disertai perubahan inflamasi yang dimediasi oleh sel endotel (ECs) yang nantinya akan melepas reseptor pro-inflamasi (Zhu *et al.*, 2018).

Pembentukan plak aterosklerosis terdiri dari empat tahap, yaitu kerusakan endotel, migrasi kolesterol *Low Density Lipoprotein* (LDL) ke dalam tunika intima, respon inflamatorik, dan pembentukan *fibrous cap* (Pramatama *et al.*, 2014). Fase awal terjadinya aterosklerosis adalah akumulasi dan modifikasi lipid, salah satunya adalah LDL yang teroksidasi membentuk oxLDL dan nantinya dapat mengakibatkan aktivasi inflamasi endotel. Fase selanjutnya akan terjadi penarikan monosit ke dalam tunika intima. Monosit akan menempel pada sel endotel, kemudian berpenetrasi lebih dalam ke bawah lapisan intima. Monosit ini akan berubah menjadi makrofag dan memfagosit LDL yang terdioksidasi (oxLDL) melalui *scavenger receptor*. Hasil fagositosis ini akan menghasilkan sel busa yang nantinya akan menjadi *fatty streaks*. Aktivasi ini akan menghasilkan sitokin dan

faktor-faktor pertumbuhan yang akan merangsang proliferasi dan migrasi sel-sel otot polos di tunika media ke dalam tunika intima yang dapat mengakibatkan pembesaran plak dan terbentuknya *fibrous cap*. (Ramadhian & Rahmatia, 2017).

Aterosklerosis dapat menyebabkan stroke bila terjadi pada arteri karotis dan dapat menyebabkan *Ischemic Heart Disease* (IHD) bila terjadi pada arteri koronaria. Terdapat beberapa faktor resiko yang dapat menyebabkan terjadinya aterosklerosis, diantaranya adalah faktor resiko mayor dan faktor resiko minor. Faktor resiko mayor yang dapat menyebabkan aterosklerosis adalah hiperkolesterolemia, hipertensi, dan diabetes mellitus. Faktor resiko minor diantaranya olahraga yang kurang, stress emosioal, penggunaan kontrasepsi oral, dan berat badan di atas normal (obesitas) (Ramadhian & Rahmatia, 2017).

Mengingat bahwa aterosklerosis merupakan penyebab utama kematian di dunia, perlu dilakukan pencegahan dan pengobatan segera untuk mengurangi resiko perkembangan manifestasi klinisnya. Salah satu faktor resiko penyebab utama aterosklerosis adalah dyslipidemia, namun tidak terdapat terapi yang spesifik baik secara farmakologi maupun secara non-farmakologi yang berhasil mencegah aterosklerosis (Sahoo et al., 2022). Statin dan aspirin merupakan terapi yang masih digunakan untuk aterosklerosis. Efektivitas dengan kedua pengobatan ini hanya menunjukkan pengurangan plak yang sedikit (Rachmawati et al., 2022). Berdasarkan hal ini, diperlukan adanya inovasi terapi yang lebih efektif dan memiliki efek samping yang rendah, sehingga diperlukan pengembangan obat baru dalam penatalaksanaan aterosklerosis.

Bunga gemitir (*Tagetes erecta* Linn) merupakan salah satu tanaman yang memiliki potensi sebagai antiaterosklerosis. Bunga gemitir atau *marigold flower* memiliki berbagai macam aktivitas farmakologi, diantaranya adalah sebagai antibakteri, antioksidan, hepatoprotektif, antiinflamasi, antidiabetik, dan antihiperlipidemia (Shetty et al., 2015). Bunga gemitir dibudidayakan secara luas untuk digunakan sebagai obat tradisional, tanaman hias, dan pewarna alami. Bunga gemitir di daerah Bali dimanfaatkan sebagai sarana upacara, yaitu canang. Aktivitas farmakologi bunga gemitir berkaitan dengan kandungan beberapa metabolit

sekunder yang terkandung di dalamnya, seperti terpen, minyak atsiri, flavonoid, kaarotenoid, dan polifenol (Singh et al., 2020).

Penelitian yang dilakukan Saani et al. (2018) mengenai aktivitas antioksidan ekstrak bunga gemitir yang diuji dengan menggunakan metode DPPH, melihat bahwa bunga gemitir yang diuji dengan menggunakan tiga pelarut, diantaranya metanol, heksan, dan etil asetat menghasilkan aktivitas antioksidan tertinggi pada ekstrak etil asetat dengan kandungan konsentrasi fenolik tertinggi, yaitu 48,2 mg/g GAE. Fraksi kloroform, metanol, hidroalkohol dan eter bunga gemitir menunjukkan aktivitas analgesik dan antiinflamasi. Semua fraksi dilaporkan signifikan dalam pengujian dengan metode mencit yang diinduksi asam asetat, metode *hot plate*, dan metode edema yang diinduksi karagenan pada tikus (Shetty et al., 2015). Berdasarkan penelitian yang dilakukan Kresnapati et al. (2021), ekstrak etanol bunga gemitir dengan dosis 200mg/kg dan 400mg/kg yang diinduksikan kepada *Rattus norvegicus* dapat mengurangi nilai total kolesterol, *Low Density Lipoprotein* (LDL), *malondialdehyde* (MDA), dan Apolipoprotein B (Apo B) secara signifikan ($p < 0,05$). Selain itu, studi toksisitas bunga gemitir yang diuji oleh Manisha et al. (2013) melihat bahwa ekstrak air dan alcohol bunga gemitir aman digunakan dengan dosis 100mg/kg dan 400mg/kg dengan metode *elevated plus maze* dan *light-dark models*. Beberapa data penelitian tersebut mendukung potensi bunga gemitir untuk dikembangkan menjadi antiaterosklerosis.

Tahap awal dalam penemuan obat baru yang saat ini banyak dikaji adalah studi interaksi secara *in silico* yang diawali dengan penambatan molekul (Damayanti et al., 2021). Studi penambatan molekul (*molecular docking*) merupakan salah satu metode yang dapat dilakukan untuk penemuan obat baru. *Molecular docking* adalah suatu proses komputasi mencari ligan yang sesuai dengan situs pengikatan protein. Metode ini digunakan dengan tujuan untuk meniru peristiwa interaksi suatu molekul ligan dengan protein yang menjadi targetnya pada uji *in vitro* melalui simulasi model menggunakan komputer. Penambatan molekul sering digunakan untuk memprediksi afinitas dan aktivitas ikatan yang terjadi antara molekul ligan dan targetnya (Prasetiawati et al., 2021). Keuntungan dari

metode ini adalah lebih ekonomis, efisiensi waktu, dan pengerjaannya lebih mudah (Damayanti et al., 2021).

Metode *in silico* merupakan metode yang baik digunakan dalam tahap awal pengembangan obat baru untuk penatalaksanaan aterosklerosis dengan menggunakan senyawa dari tanaman bunga gemitir (*Tagetes erecta* Linn) dengan target reseptor spesifik berdasarkan jalur persinyalan plak aterosklerosis. Penelitian menggunakan senyawa tumbuhan bunga gemitir (*Tagetes erecta* Linn) untuk antiaterosklerosis belum pernah dilakukan sebelumnya, sehingga penelitian ini dapat dijadikan awalan untuk mengetahui lebih dalam terkait dengan senyawa bunga gemitir (*Tagetes erecta* Linn) yang berpotensi sebagai antiaterosklerosis.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan, rumusan masalah yang dapat diangkat pada penelitian ini diantaranya:

1. Apa saja reseptor antiaterosklerosis yang berpotensi menjadi target molekuler dari kandungan senyawa bunga gemitir (*Tagetes erecta* Linn)?
2. Senyawa apa yang berpotensi memiliki interaksi terbaik terhadap reseptor antiaterosklerosis yang terkandung di dalam bunga gemitir (*Tagetes erecta* Linn)?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari dilaksanakannya penelitian ini adalah untuk menjawab rumusan masalah, diantaranya:

1. Untuk memprediksi reseptor yang dapat menjadi target molekuler dari senyawa bunga gemitir (*Tagetes erecta* Linn) yang berpotensi sebagai antiaterosklerosis.
2. Untuk memprediksi kandungan senyawa bunga gemitir (*Tagetes erecta* Linn) yang memiliki interaksi terbaik terhadap reseptor yang dapat menjadi target antiaterosklerosis.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Secara teoritis, penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai referensi atau literasi untuk menambah ilmu pengetahuan di bidang farmasi, khususnya farmakologi, bahan alam dan kimia mengenai aktivitas senyawa bunga gemitir (*Tagetes erecta* Linn) untuk manajemen terapi aterosklerosis.

1.4.2 Manfaat Praktis

Secara praktis, penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai kontribusi dalam penemuan potensi obat baru yang bersumber dari bahan alam. Informasi dari penelitian ini juga dapat dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai alternative dalam mengatasi aterosklerosis.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bunga Gemitir (*Tagetes erecta* Linn)

2.1.1 Klasifikasi

Kingdom : Plantae
Order : Asterales
Family : Asteraceae
Subfamily : Asteroideae
Class : Magnoliopsida
Division : Magnoliophyta
Genus : *Tagetes*
Species : *erecta*
(Singh et al., 2020)

2.1.2 Morfologi



Sumber : (Shetty et al., 2015) (Singh et al., 2020)

Gambar 2.1 Bunga Gemitir (*Tagetes erecta* L.)

Tagetes erecta L. merupakan tanaman yang paling terkenal diantara family Asteraceae. Tanaman ini dibudidayakan di dunia sebagai tanaman hias yang memiliki kandungan karotenoid yang tinggi. Tanaman ini memiliki banyak sinonim dan dapat ditemukan dengan nama yang berbeda, diantaranya American Marigold, African Marigold, atau Mexican Marigold (Ningsih et al., 2020). Daerah Bali mengenal *Tagetes erecta* L. dengan nama Gemitir yang biasanya bagian bunga dari tanaman ini banyak digunakan sebagai sarana upacara keagamaan, seperti pembuatan persembahan berupa canang (Ningsih et al., 2020).

Tanaman gemitir merupakan tanaman tahunan yang tumbuh cepat dengan tinggi 10-36 inci. Daun dari tanaman ini berbentuk menoreh dan sangat tajam. Tanaman ini memiliki bunga seperti pompon dengan lebar hingga 5 inci dengan periode berbunga yang lebih pendek, yaitu dari pertengahan musim panas hingga musim dingin. Bunga dari tanaman ini berwarna kuning cerah, kuning kecoklatan, dan oranye (Print et al., 2015).

2.1.3 Senyawa Fitokimia Bunga Gemitir

Hasil skrining fitokimia ekstrak bunga gemitir menunjukkan bahwa bunga gemitir mengandung fitokonstituen berupa tannin, senyawa fenolik, flavonoid, sterol, triterpenoid, saponin, karotenoid, dan alkaloid. Asam lemak yang terdapat pada bunga gemitir, diantaranya asam linoleat, asam palmitat, dan asam oleinat. Flavonoid yang terkandung dalam bunga gemitir adalah 6-hidroksikaempferol-7-O-b-dalloside, kuersetagetin dan patulitrin. Senyawa fenolik yang terdapat pada bunga Gemitir adalah asam syringic, etil galat dan metil-3,5- dihidroksi-metoksi benzoate (Santi, 2021). Karotenoid yang terkandung dalam bunga gemitir terdiri atas lutein, tokoferol, β -karoten, γ -tokoferol dan δ -tokoferol, zeaxantin, antraxantin, dan alfa-kriptoxantin (Singh et al., 2020).

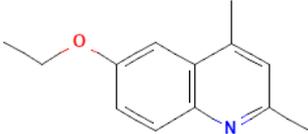
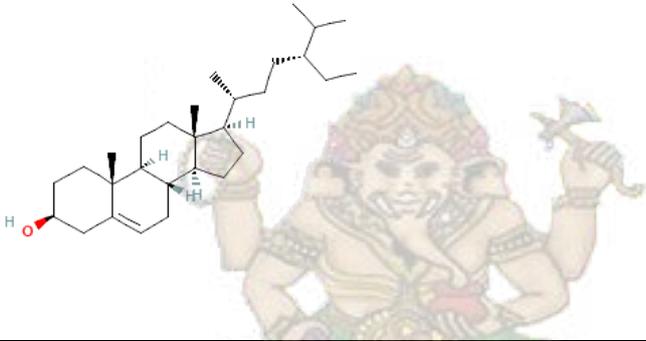
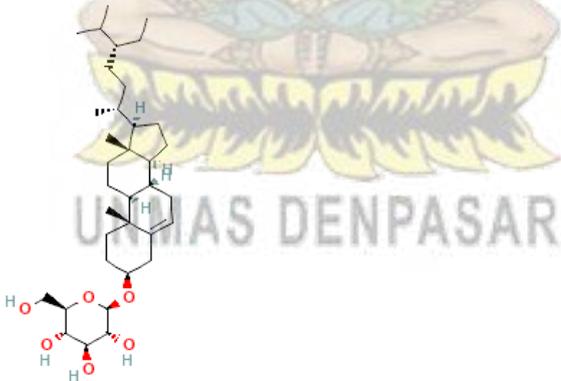
Terdapat 22 komponen fitokimia ekstrak etanol senyawa bunga gemitir yang diuji dengan menggunakan silica gel kolom kromatografi, diantaranya adalah β -sitosterol, daucosterol, 7β -hydroxysitosterol, erythrodiol-3palmitate, lupeol, erythrodiol, 1-[5-(1-propyn-1-yl)[2, 2-bithiophen]-5-yl]-ethanone, α -terthienyl, quercetagetin, quercetagetin-7-methylether, quercetagetin-7-O-glucoside, kaempferol, syringic acid, gallic acid, 3- α -galactosyl disyringic acid, 3- β galactosyl disyringic acid, 6-ethoxy-2, 4dimethylquinoline, oplodiol, (3S, 6R, 7E)-hydroxy4,7-megastigmadien-9-one, palmitin, ethylene glycollinoleate, and n-hexadecane. Kandungan senyawa lutein, quercetagetin, dan syringic acid merupakan senyawa terbanyak yang ada di bunga gemitir (Singh et al., 2020).

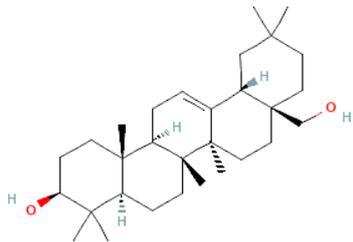
2.1.4 Aktivitas Antiaterosklerosis Senyawa Bunga Gemitir

Aktivitas antiaterosklerosis senyawa bunga gemitir didasarkan pada potensi antihiperlipidemia, antiinflamasi, dan antioksidan yang dimiliki oleh senyawa yang terdapat di dalamnya. Berikut merupakan struktur dua dimensi dari senyawa fitokimia yang memiliki potensi antiaterosklerosis:

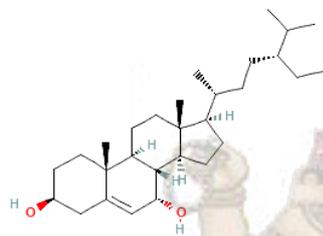
Tabel 2.1 Senyawa Bunga Gemitir (*Tagetes erecta* L.) dengan Potensi sebagai Antiaterosklerosis



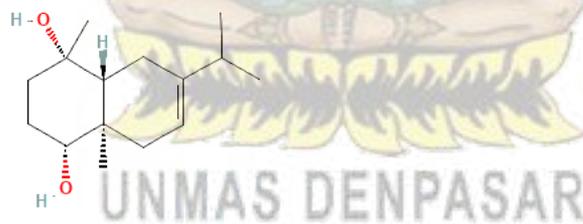
Struktur senyawa	Nama Senyawa
 <chem>CCOC1=CC=C2C(=C1)N(C)=CC2C</chem>	6-ethoxy-2,4-dimethylquinoline
 <chem>CC(C)[C@H](O)CC[C@]12CC[C@@H]3[C@H]([C@@H]1CC[C@@H]2O)CCC4=C3</chem>	β -sitosterol
 <chem>CC(C)[C@H](O)CC[C@]12CC[C@@H]3[C@H]([C@@H]1CC[C@@H]2O)CCC4=C3[C@@H](O)C[C@H](O)[C@@H](O)[C@H]4O</chem>	Daucosterol
Lanjutan	
Struktur senyawa	Nama Senyawa



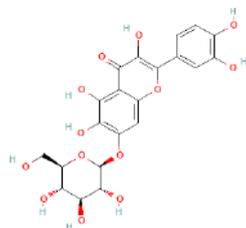
Erythrodiol



7β-hydroxysterol



Oplodiol



Quercetagitrin

2.2 Aterosklerosis

2.2.1 Pengertian Aterosklerosis

Aterosklerosis adalah proses pembentukan plak dari berbagai sel, lipid dan debris sel pada arteri intima yang dapat disebabkan oleh berbagai faktor. Aterosklerosis dianggap sebagai penyakit akibat akumulasi kolesterol yang disebabkan oleh retensi lipoprotein termasuk *Low Density Lipoprotein* (LDL) di arteri intima (Kong et al., 2022). Lesi utama pada aterosklerosis ditandai dengan deposisi lipid pada arteri disertai dengan proliferasi sel otot polos dan matriks fibrosa yang secara bertahap akan berkembang menjadi plak aterosklerosis. Aterosklerosis biasanya dianggap sebagai *Chronic Inflammatory Disease* karena inflamasi memainkan peran penting dalam semua tahapan ini. Aterosklerosis merupakan faktor utama dari penyakit cardiovascular (CVD) yang merupakan penyebab utama kematian di seluruh dunia (Zhu et al., 2018).

2.2.2 Patogenesis Aterosklerosis

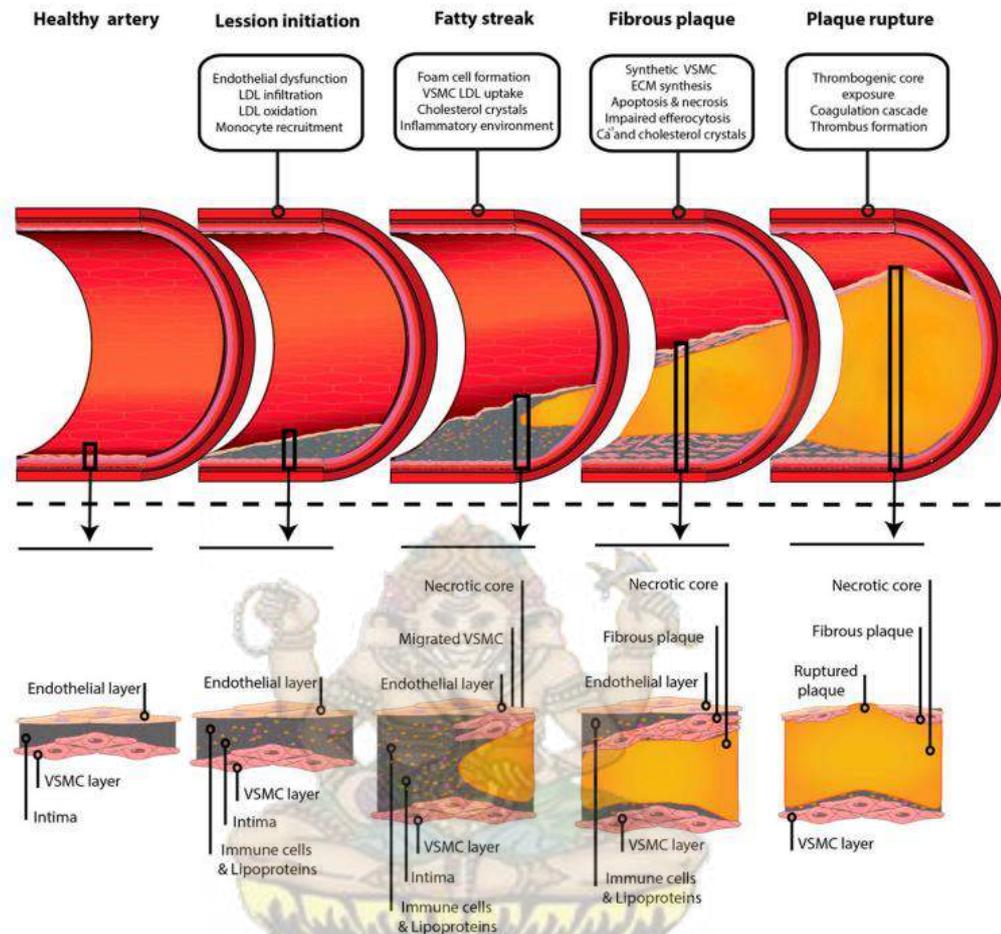
Aterosklerosis dimulai setelah disfungsi endotel terjadi disertai dengan retensi LDL dan modifikasinya di intima. Modifikasi LDL, bersama dengan faktor aterogenik tambahan, mendorong aktivasi *Endothelial Cell* (EC), yang mengarah ke perekrutan monosit di intima. LDL yang dimodifikasi ditangkap oleh monosit yang berdiferensiasi dan *Vascular Smooth Muscle Cells* (VSMC) yang mempromosikan pembentukan *foam cell*. Selain itu beberapa jalur pensinyalan inflamasi diaktifkan, sehingga memungkinkan pembentukan *fatty streak* yang merupakan tanda pertama aterosklerosis dengan karakteristik akumulasi substansi lipid baik di dalam sel (makrofag dan VSMC) dan media ekstraseluler (Jebari-Benslaiman et al., 2022).

Saat berada di sub endotelial, partikel LDL yang terperangkap akan teroksidasi. Oksidasi terjadi akibat tidak adanya antioksidan pelindung plasma seperti tokoferol, askorbat, asam urat, apolipoproteins, atau albumin serum. LDL teroksidasi adalah komponen inflamasi utama yang mendorong perkembangan plak aterosklerosis karena mengandung lipid teroksidasi dan produk turunan dari degradasinya yang berkontribusi pada fisiopatologi penyakit. LDL dapat dioksidasi

oleh radikal bebas yang terdapat pada ekstraseluler, seperti superoxide (O_2), dan hydroxyl radikal (OH). LDL juga dapat langsung dioksidasi dengan aktivitas enzimatis oleh fosfolipase dan liposigenase. Berdasarkan tingkat oksidasi LDL, LDL diklasifikasikan menjadi *minimally modified LDL* (mmLDL) dan *extensively oxidized LDL* (oxLDL). Mm-LDL berbeda secara kimia dengan *unmodified* LDL, tetapi masih dapat dikenali oleh LDLR (LDL receptor related protein), sedangkan oxLDL sudah tidak dapat dikenali oleh LDLR (Jebari-Benslaiman et al., 2022).

Endotelial sel yang teraktivasi menginduksi rekrutmen monosit selektif ke dalam sel intima. Saat berada di sel intima, monosit berdiferensiasi menjadi makrofag yang dapat dipolarisasikan menjadi fenotip M1 (pro-inflamasi) dan M2 (anti-inflamasi). Makrofag M1 melepaskan sitokin inflamasi, chemokines, dan menghasilkan NO dan *reactive oxygen species* (ROS). Lipoprotein di intima cenderung mengalami modifikasi karena inflamasi, hal ini memungkinkan internalisasi melalui CD36, SRA-I, dan LOX-1 (Jebari-Benslaiman et al., 2022). Penyerapan oxLDL oleh makrofag dapat dianggap sebagai mekanisme perlindungan untuk menghilangkan elemen sitotoksik dari intima, namun peningkatan migrasi monosit ke intima dan diferensiasi menyebabkan peningkatan sel busa yang menginduksi lesi pada aterosklerosis (Jebari-Benslaiman et al., 2022).

Saat terjadi perkembangan plak fibrosa, plak atheroma mengalami transisi dari *fatty streaks* menjadi *intimal growing*, suatu tahap yang ditandai dengan adanya area bebas sel dan banyak mengandung lipid, yang dapat disebut *necrotic core*. *Necrotic core* akan berusaha menstabilkan plak, dimana hal ini menyebabkan *necrotic core* ditutupi oleh serat, sehingga terbentuklah *fibrous cap* yang menandakan ciri khas aterosklerosis lanjut. *Fibrous cap* berperan sebagai penopang structural untuk menghindari paparan protrombotik pada *necrotic core* yang dapat memicu thrombosis (Jebari-Benslaiman et al., 2022).



Sumber : (Jebari-Benslaiman et al., 2022)

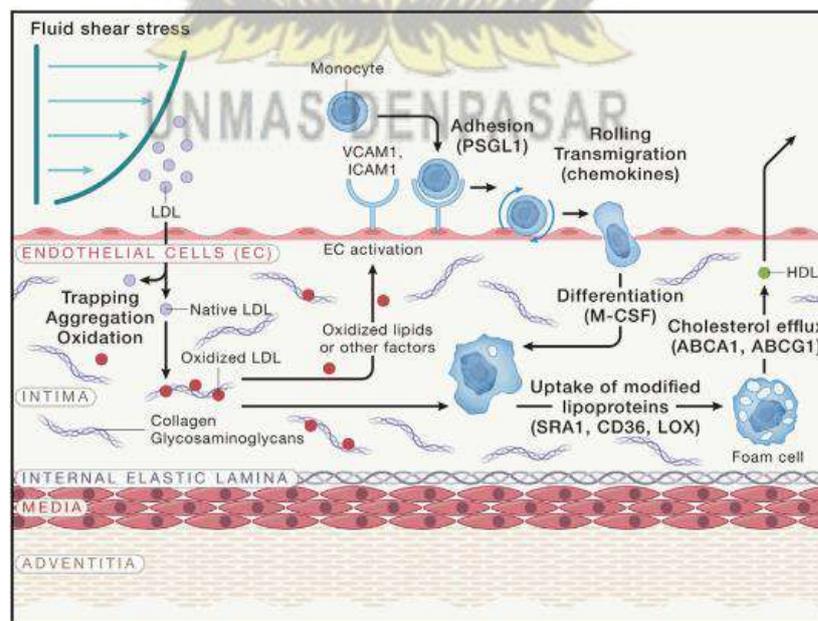
Gambar 2.2 Perkembangan Plak Atheroma

Saat plak pecah, ruang subendotelial akan dipenuhi oleh darah yang akan memicu proses koagulasi untuk menutupi luka. Trombosit akan menempel pada kolagen subendotel dan akan teraktivasi, kemudian lebih banyak trombosit akan direkrut dan dikumpulkan pada area tersebut untuk menutupi luka. Elemen protombotik lipid juga dilepaskan pada waktu yang bersamaan dan berkontak dengan faktor VII plasma, kemudian mengaktifkan kaskade koagulasi yang menyebabkan produksi thrombin, suatu zat untuk pembentukan fibrin. Fibrin merupakan protein tidak larut yang membentuk jaringan benang fibrin dan bersama trombosit untuk menutupi lesi dengan membentuk struktur yang rapi. Struktur ini dikenal sebagai thrombus, meskipun tujuan dari proses ini adalah untuk penyembuhan luka, pemicuan kaskade biokimia mendorong perluasan intima ke sisi luminal. Trombosit yang teraktivasi akan melepaskan TGF-

β yang akan meningkatkan produksi kolagen interstisial dan menyebabkan penebalan *fibrous cap* (Jebari-Benslaiman et al., 2022).

2.2.3 Peran Lipid dalam Perkembangan Aterosklerosis

Penyakit kardiovaskular sebagian besar terjadi karena komplikasi yang diakibatkan oleh aterosklerosis. Faktor risiko yang dapat mempengaruhi aterosklerosis diantaranya adalah usia, genetik, dyslipidemia, merokok, diabetes dan inflamasi. Dislipidemia merupakan penyakit yang disebabkan oleh peningkatan kadar kolesterol total, *Low Density Lipoprotein* (LDL), trigliserida dan penurunan kadar *High Density Lipoprotein* (HDL). Peningkatan kadar LDL merupakan faktor risiko mayor penyakit kardiovaskular. Heterogenitas partikel LDL dalam hal ukuran, densitas, dan komposisi berperan dalam proses aterogenesis. LDL yang berukuran kecil dan padat (*small dense LDL/sdLDL*) memiliki sifat yang lebih aterogenik jika dibandingkan dengan LDL yang berukuran besar dan ringan (*large buoyant LDL*). Hal ini dikarenakan sdLDL lebih mudah untuk masuk ke dinding arteri dan teroksidasi. Afinitas sdLDL terhadap reseptor LDL (LDLR) cukup rendah, sehingga memiliki waktu paruh yang lebih lama di sirkulasi dan memiliki kemungkinan yang tinggi untuk terakumulasi (Liana, 2014).



Sumber : (Bjorkegren & Lusic, 2022)

Gambar 2.3 Perkembangan Lesi Fatty Streaks

Vessel wall terdiri dari lapisan tunggal sel endotel yang membatasi *luminal blood flow*, dibawah lapisan ini terdapat lapisan aseluler yang besar terdiri dari glikosaminoglikan dan kolagen yang disebut juga dengan intima. Lapisan selanjutnya adalah lapisan sel otot polos yang disebut media, dan lapisan terakhir merupakan lapisan yang berserat disebut juga dengan adventitia. Aterosklerosis sebagian besar diawali oleh akumulasi lipoprotein plasma tertentu, termasuk *Low Density Lipoprotein* (LDL) dan sisa lipoprotein yang banyak mengandung trigliserida di lapisan intima, yang melibatkan pembentukan lipid yang teroksidasi. Monosit kemudian berikatan dengan sel endotel, kemudian memasuki intima dan selanjutnya berdiferensiasi menjadi makrofag, Selanjutnya, makrofag akan menangkap lipoprotein yang terakumulasi, sehingga dapat meningkatkan ester kolesterol atau sel busa yang membengkak (Bjorkegren & Lusis, 2022).

2.2.4 Peran Inflamasi dalam Aterosklerosis

Inflamasi telah terbukti berperan penting dalam tahap inisiasi dan progresi dari plak aterosklerosis. Penyebab utama aterosklerosis pada tahap awal adalah disfungsi endotelial, metabolisme lipid yang abnormal, dan kerusakan hemodinamika. Aktivasi sel endotel akan mengekspresi *monocyte chemoattractant protein-1*, *interleukin (IL)-8*, *Intercellular Adhesion Molecule-1* (ICAM-1), *Vascular Adhesion Molecule-1* (VCAM-1), *E-selectin*, *P-selectin*, dan faktor inflamator lainnya, kemudian menarik limfosit dan monosit yang berikatan dengan endotel dan berfiltrasi ke dinding arteri, sehingga peradangan mulai terjadi (Zhu et al., 2018).

Low Density Lipoprotein (LDL) dengan jumlah banyak dimodifikasi menjadi LDL teroksidasi (oxLDL), dan terakumulasi di *vascular internal wall* yang berkontribusi terhadap perkembangan plak aterosklerosis. Sejumlah besar makrofag dan sitokin inflamasi lainnya menginfiltrasi dinding pembuluh darah, mensekresi *Matrix Metalloproteinase* (MMPs), dan mendegradasi serat kolagen dalam matriks ekstraseluler pada aterosklerosis tahap akhir. Hal ini mengakibatkan pecahnya plak aterosklerosis, pendarahan, dan trombosis. Infiltrasi sel mast juga berkontribusi terhadap lingkungan pro-inflamasi dan mempengaruhi lesi aterosklerosis. Berbagai macam pesan proinflamasi dikeluarkan oleh respon imun

dan *Vascular Endothelial Cells* (VECs), mengaktivasi sitokin, kemokin, senyawa bioaktif lipid, dan molekul adesi yang mempertahankan dan meningkatkan peradangan lokal dari perkembangan lesi aterosklerosis (Zhu et al., 2018).

2.2.5 Penatalaksanaan Aterosklerosis

Pencegahan dan pengobatan yang cepat diperlukan karena aterosklerosis merupakan penyebab utama kematian diseluruh dunia. Salah satu dari penyebab kritis aterosklerosis adalah dyslipidemia. Sejumlah terapi untuk mengurangi factor resiko lipid untuk aterosklerosis dapat digunakan sebagai terapi, namun terdapat factor lain yang memicu terjadinya aterosklerosis, seperti inflamasi. Oleh karena itu, pada bagian ini terdapat rangkuman penatalaksanaan aterosklerosis dengan pengurangan resiko lipid dan inflamasi (Kong et al., 2022).

Tabel 2.2 Terapi untuk Mengurangi Faktor Resiko Lipid pada Aterosklerosis

Agen	Target	Mekanisme
Alirocumab, evolocumab	PCSK9	Monoclonal antibody untuk PCSK9
Lerodalcibep	PCSK9	Anti-PCSK9 <i>small binding protein</i>
Evinacumab	ANGPLT3	Monoclonal antibody untuk ANGPLT3
Mipomersen	ApoB	Antisense oligonucleotide menargetkan apolipoprotein B100
Pemafibrate	PPAR α	Selektif PPAR α modulator
Statins	HMG-CoA	Menghambat HMG-CoA reduktase

Sumber : (Kong et al., 2022) (DiPiro et al., 2020)

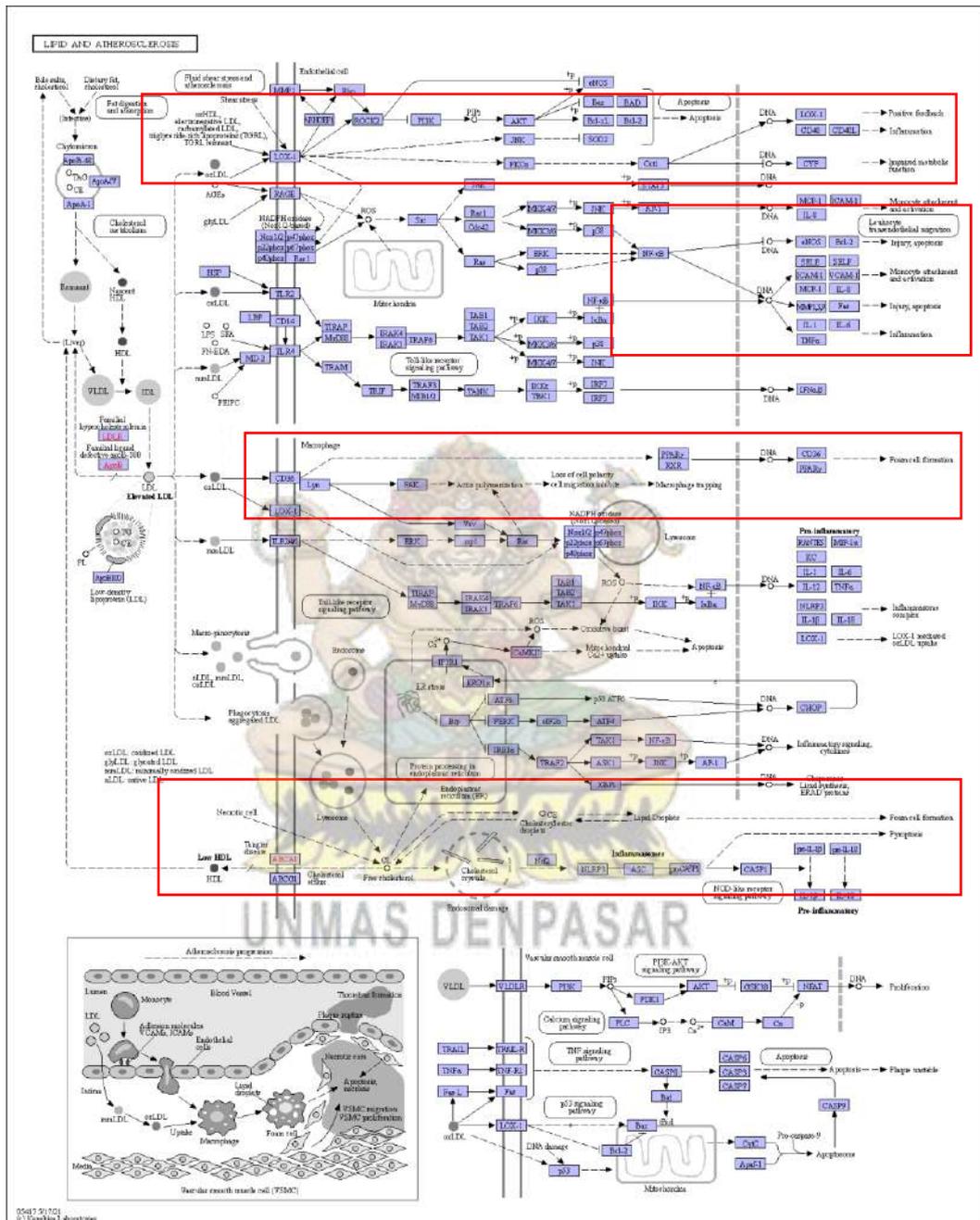
Tabel 1.3 Tinjauan Studi Klinis yang Menargetkan Jalur Inflamasi pada Aterosklerosis

Agen	Target	Mekanisme	
Canakinumab	IL-1 β	Monoclonal antibody	menargetkan IL-1 β
Anakinra	IL-1R	IL-1R <i>blocker</i>	
Ziltivekimab	IL-6	Monoclonal antibody	menargetkan IL-6
Dapansutrole	NLRP3	Penghambat NLRP3	inflamasi
Losmapimod	p38 MAPK	Penghambat selektif p38 MAPK	

Sumber : (Kong et al., 2022)



2.3 Target Molekuler Penyakit Aterosklerosis



Sumber : (KEGG, 2023)

Gambar 2.4 Lipid dan Aterosklerosis Pathway

2.3.1 HMG-CoA Reductase Inhibitors

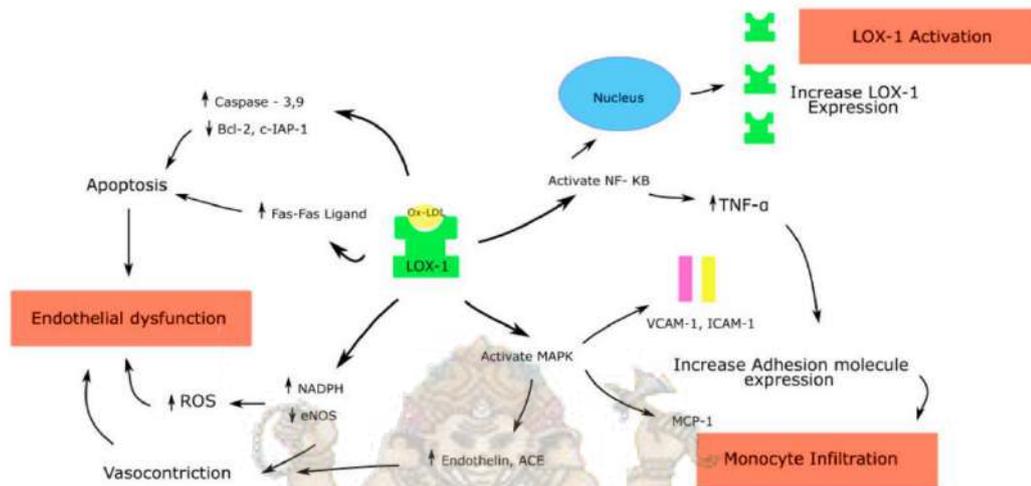
Statin utamanya digunakan untuk mengurangi sintesis kolesterol, namun studi klinis memperlihatkan bahwa statin dapat secara efektif mengurangi tingkat biomarker inflamasi seperti CRP, terlepas dari penurunan kadar kolesterol. Efek antiinflamasi dari statin mungkin disebabkan oleh efek penurunan lipid, namun terdapat bukti kuat bahwa statin memiliki efek antiinflamasi langsung pada sel-sel yang terlibat dalam perkembangan dan pecahnya plak aterosklerosis. Pada endothelial cell, statin dapat mengurangi ekspresi VCAM-1 dan ICAM-1 dan menghambat penangkapan monosit. Studi in vivo menunjukkan bahwa statin dapat mengurangi pertumbuhan makrofag dan aktivitas MMP yang dapat menstabilkan plak aterosklerosis (Zhu et al., 2018).

Molekular target statin adalah 3-Hydroxymethyl-3-glutaryl-CoA (HMG-CoA) reductase, yang bertanggung jawab sebagai langkah awal dan merupakan penghambat sintesis kolesterol. *Inhibitor* HMG-CoA reduktase merupakan *inhibitor* biosintesis kolesterol dengan menghambat konversi HMG-CoA menjadi l-mevalonat di hati yang nantinya akan menurunkan level serum kolesterol. HMG-CoA inhibitor menunjukkan efek pleiotropik dalam aktivitas antiinflamasi dan antiproliferatif (Zhu et al., 2018).

2.3.2 Lectin Like Oxidized LDL Receptor 1 (LOX-1)

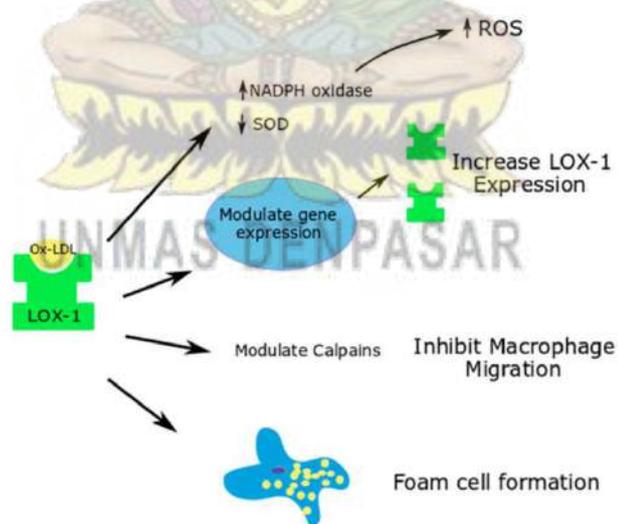
Lectin like oxidized LDL receptor 1 (LOX-1) merupakan salah satu *scavenger receptor* OxLDL pada sel endotel, yang secara aktif berkontribusi terhadap semua tahap dari aterogenesis. LOX-1 memediasi *uptake* OxLDL ke dalam tunika intima sehingga terjadi disfungsi sel endotel yang menyebabkan rangkaian peristiwa dalam fase awal aterogenesis. Interaksi antara ox-LDL dan LOX-1 menghasilkan peningkatan produksi molekul adhesi seperti VCAM-1 dan sitokin seperti MCP-1, yang menyebabkan perlekatan monosit ke sel endotel. Pengikatan Ox-LDL-LOX-1 mengarah pada fosforilasi Mitogen Activated Protein Kinase (MAPK) dan menginduksi apoptosis. Induksi LOX-1 juga mengurangi fosforilasi protein kinase B (PKB), yang terlibat dalam aktivasi eNOS melalui fosforilasinya. Ikatan ox-LDL dengan LOX-1 menyebabkan internalisasi kompleks

reseptor ligan ke dalam sel. Berdasarkan jenis sel tempat interaksi ini terjadi, pensinyalan mengarah ke berbagai efek, seperti yang dijelaskan di bawah ini (Kattoor et al., 2019):



Sumber : (Kattoor et al., 2019)

Gambar 2.5 Efek Interaksi oxLDL dan LOX-1 di Endotelial Sel



Sumber : (Kattoor et al., 2019)

Gambar 2.6 Efek Interaksi oxLDL dan LOX-1 di Makrofag

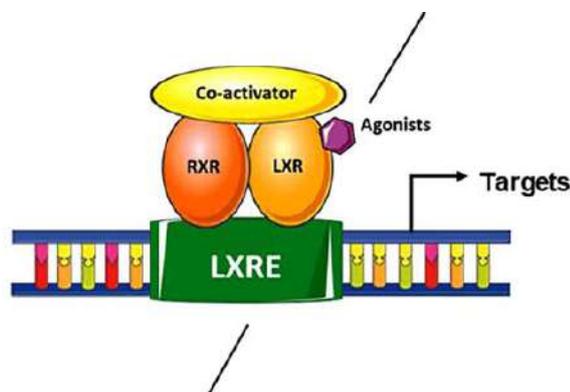
Melalui reseptor LOX-1, ox-LDL menyebabkan disfungsi endotel melalui berbagai jalur, seperti yang dijelaskan pada gambar 2.6, Jalur ox-LDL dan LOX-1 mengaktifkan *mitogen-activated protein kinase* (MAPK) yang menyebabkan peningkatan ekspresi MCP-1 dan adhesi monosit. *Human coronary endothelial cells* (HCAECs), ketika diinkubasi dengan adanya oligonukleotida antisense pada

urutan pengkodean 5' dari gen LOX-1, menekan protein basal LOX-1 dan LOX-1 mRNA. Hal ini secara signifikan juga dapat menurunkan upregulasi MCP-1 dan adhesi monosit yang dimediasi ox-LDL (Kattoor et al., 2019).

2.3.3 Peroxisome Proliferator Activated Reseptor γ (PPAR γ) dan Liver X

Receptor α (LXR α)

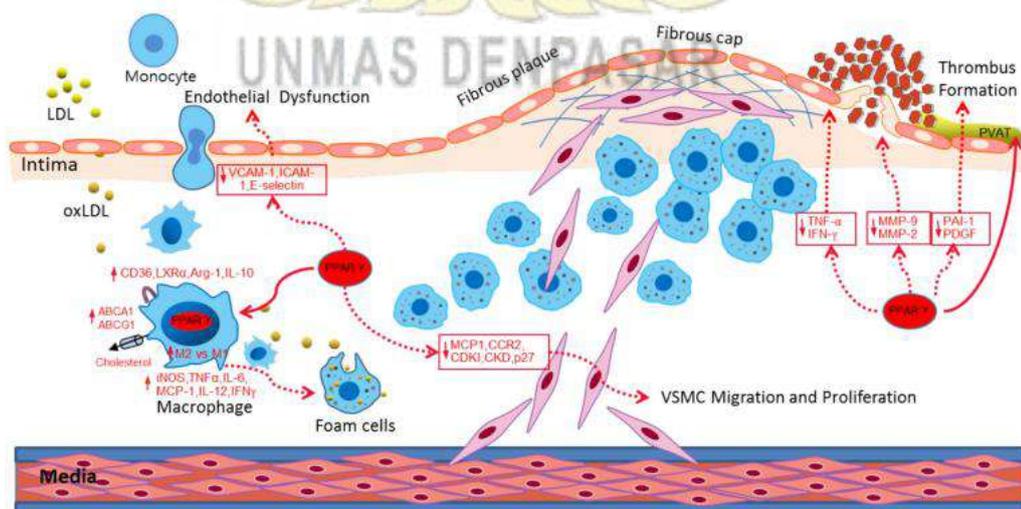
LXR merupakan faktor transkripsi yang termasuk dalam keluarga besar *Nuclear Receptor* (NRs), yang berfungsi sebagai pengatur utama kolesterol dan homeostatis lipid intraseluler. LXR memiliki dua isoform, diantaranya adalah LXR α (NR1H3) dan LXR β (NR1H2). Kedua isoform ini memiliki pola ekspresi yang berbeda, LXR α lebih banyak diekspresikan di hati, usus, jaringan adiposa, makrofag dan sel-sel mielomonositik, sedangkan LXR β diekspresikan dengan lokasi yang lebih luas (Bilotta et al., 2020). LXR agonis dapat dibagi menjadi dua tipe, yaitu agonis alami dan sintesis kimia. Oxysterol merupakan salah satu LXR agonis alami yang bersumber dari reaksi enzim, stress oksidatif, dan makanan, sedangkan agonis sintesis kimia yang sering digunakan adalah T0901317 dan GW3965 (Guo et al., 2018). Saat LXR teraktivasi, LXR akan melakukan heterodimerisasi dengan *Retinoid X Receptor* (RXR) dan berikatan dengan promotor gen target *LXR-responsive elements* (LXREs). LXR merupakan sensor utama kolesterol yang mengatasi kelebihan sterol dengan meningkatkan regulasi transporter *ATP Binding Cassete* (ABC), seperti transporter ABC A1 (ABCA1) dan transporter G1 (ABCG1) yang nantinya mengarah pada pembentukan *High Density Lipoprotein* (HDL) dari makrofag (Franceschelli et al., 2023).



Sumber : (Bilotta et al., 2020)

Gambar 2.7 Aktivasi Liver x Receptor

Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma (PPAR γ) merupakan *nuclear receptor* yang diaktifkan oleh ligan dan memiliki faktor penting dalam jalur seluler seperti, diferensiasi adiposit, inflamasi, dan sinyal insulin. PPAR γ diekspresikan oleh makrofag dan memiliki peran dalam homeostatis kolesterol. PPAR γ mengaktifkan gen kaskade dalam makrofag yang terlibat dalam kolesterol *efflux* (Ma et al., 2015). PPAR γ dapat meningkatkan kolesterol *efflux* dengan menginduksi transkripsi gen LXR α . PPAR γ yang teraktivasi dapat menginduksi ekspresi ABCA1, ABCG1, dan SR-B1 yang berhubungan dengan peningkatan kolesterol *efflux* dari makrofag melalui kaskade transkripsional yang dimediasi oleh LXR α . PPAR γ juga dapat menghambat ekspresi reseptor pro-inflamamasi, seperti TNF- α , IL-6, IL-18, dan menginduksi diferensiasi makrofag menjadi antiinflamasi fenotip M2. Peran aktivasi PPAR γ lainnya adalah untuk mengatur ekspresi adhesi sel molekuler, seperti induksi sintase nitrat oksidas, *Intracellular Cell Adhesion Molecule-1* (ICAM-1), *Vascular Cell Adhesion Molecule-1* (VCAM-1), menghambat aktivasi sel endotel, dan melemahkan protein kemoatraktan-1 (MCP-1), matriks metalloproteinase-9 (MMP9), dan metallopeptidase *inhibitor-1* (TIMP-1) yang dapat menginduksi migrasi monosit melintasi sel endotel (Fruchart et al., 2019).

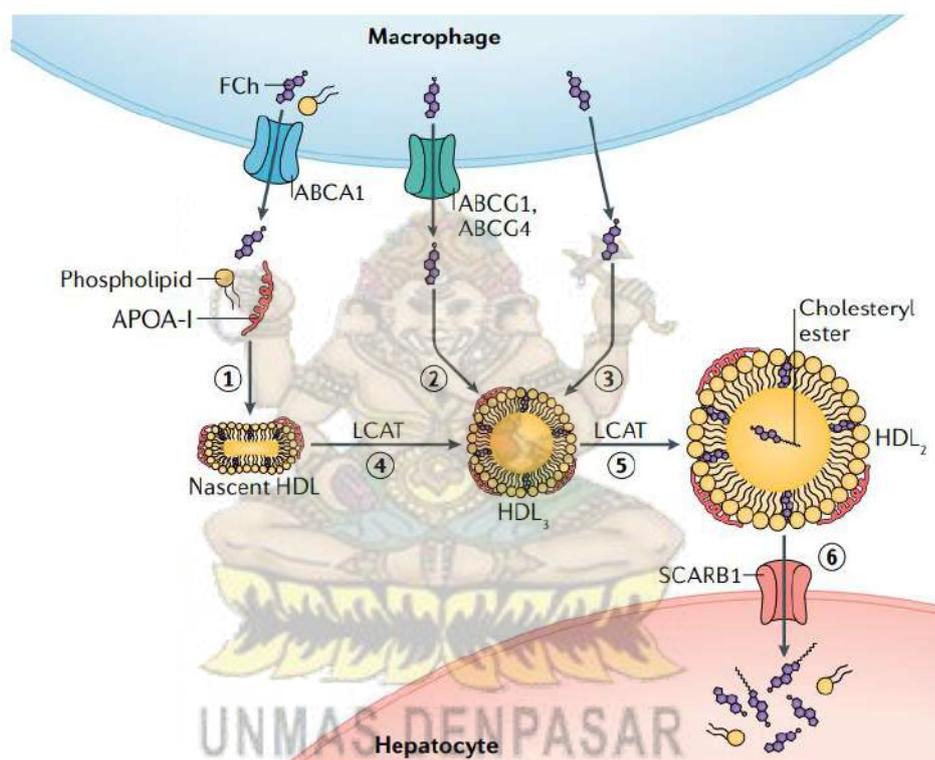


Sumber : (Fruchart et al., 2019)

Gambar 2.8 Respon terhadap Aktivasi PPAR γ

Keseimbangan antara hidrolisis intraseluler dan esterifikasi kolesterol memainkan peran penting dalam mengatur homeostatis kolesterol dan pencegahan

pembentukan sel busa (*foam cell*). Kolesterol dapat dikeluarkan dari makrofag dengan menggunakan *reverse transport* yang dimediasi oleh transporter ATP Binding Cassete (ABC), seperti transporter ABC A1 (ABCA1) dan transporter G1 (ABCG1) (Franceschelli et al., 2023). Aktivasi PPAR γ dan LXR α memiliki peran penting dalam *Reverse Cholesterol Transport* (RCT) yang dapat menyebabkan pengurangan pembentukan sel busa (Franceschelli et al., 2023).



Sumber: (Pownall, 2021)

Gambar 2.9 Jalur *Reverse Cholesterol Transport* (RCT)

Tahapan *reverse cholesterol transport* diawali dengan adanya interaksi antara Apolipoprotein A1 (ApoA1) dengan ABCA1 yang dapat membebaskan *free cholesterol* (FC) dan fosfolipid dari makrofag, dan nantinya akan terbentuk *nascent HDL* (pre- β -HDL). FC juga dapat dikeluarkan dari makrofag melalui ABCG1 dan ABCG4 dan akan membentuk HDL₃. *Nascent HDL* kemudian dimodifikasi oleh *Lecithin Cholesterol Acyltransferase* (LCAT), lipid transfer protein, dan enzim lipolitik menjadi HDL₃. *Mature HDL*₃ dimodifikasi kembali menjadi HDL₂ yang diperkaya dengan ester kolesterol akibat adanya aktivasi dari LCAT untuk mencegah kembalinya FC ke dalam makrofag. *Hepatic Scavenger Receptor Class*

BI (SCARB1) kemudian secara selektif mengekstrak lipid termasuk FC, kolesterol ester, dan fosfolipid dari HDL untuk proses eksresi di hati.

Penelitian secara *in vitro* dan *in vivo* yang terdapat pada Apostoli & Nicol, (2012) menunjukkan beberapa efek akibat teraktivasinya reseptor PPAR γ terhadap transporter ABC. Aktivasi PPAR γ merangsang terjadinya kolesterol efflux yang dimediasi apoA1 dari makrofag manusia atau tikus dan sel busa melalui kaskade sinyal yang berpuncak dalam induksi ABCA1. Aktivasi ini dimediasi melalui induksi Liver X Receptor (LXR α) yang memicu transkripsi ABCA1 melalui interaksi dengan respon spesifik elemen dalam ABCA1. Aktivasi ligan ini juga meningkatkan LXR α , mRNA ABCA1, dan meningkatkan lipid efflux yang dimediasi apoA1 dan sintesis HDL di makrofag THP1. Pengobatan foam cell turunan makrofag pada pada tikus RAW264.7 dengan asam linoleat terkonjugasi (CLA) isomer (c9t11-CLA dan t10c12-CLA) atau hidroksilasi turunan asam linoleat (13-HODE) yang keduanya dikenal sebagai ligan PPAR α dan PPAR γ menunjukkan adanya penurunan akumulasi kolesterol, meningkatkan kolesterol efflux dan menginduksi ekspresi ABCA1 dan gen lain yang terlibat dalam homeostatis kolesterol.

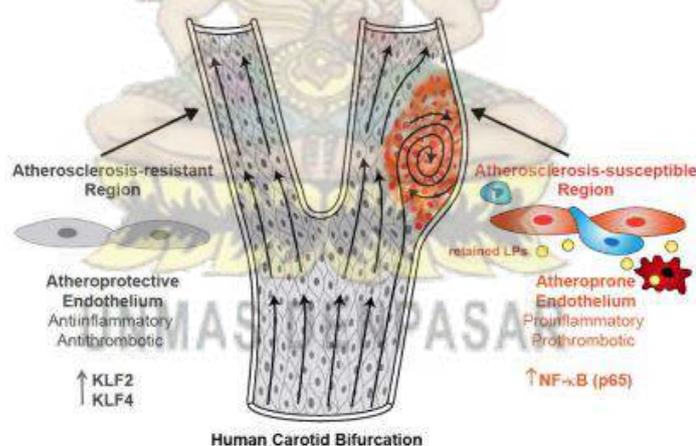
Aktivator PPAR γ lainnya seperti telmisartan dapat menginduksi ekspresi ABCA1 dan ABCG1 pada makrofag murine dan pada aorta tikus yang kekurangan apoE, dimana hal ini dapat menekan proliferasi makrofag dan progresi aterosklerosis. Pengurangan aktivasi PPAR γ dalam makrofag dilaporkan dapat menyebabkan penurunan ekspresi LXR α , ABCG1, dan apoE pada tikus yang disertai dengan penurunan kolesterol efflux dari makrofag menjadi HDL. Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor (GM-CSF) yang berkurang pada tikus juga menunjukkan penurunan ekspresi PPAR γ dan ABCG1 pada makrofag alveolar paru-paru (Apostoli & Nicol, 2012).

2.3.4 Nuclear Factor Kappa B Signaling (NFKB)

NF-KB transkripsi memiliki faktor dalam inflamasi dan *innate immunity*. Aktivasi NF-KB memainkan peran sentral dalam peradangan dan dapat diinduksi oleh pengkodean gen, sitokin, proinflamasi, molekul adhesi, kemokin, faktor

pertumbuhan, dan monosit yang terikat pada endothelium. NF-KB merupakan pengatur utama peradangan dan kematian sel dalam pathogenesis aterosklerosis. Penghambatan NF-KB pada makrofag menyebabkan penurunan pembentukan sel busa, anti-apoptosis, dan antiinflamasi. Aktivasi sinyal NF-KB mendorong adanya pertumbuhan plak dan ketidakstabilan plak (Zhu et al., 2018).

Peran penting jalur pensinyalan NF-KB pada aterogenesis awal ditunjukkan oleh sebuah penelitian yang menunjukkan aktivasinya di daerah aorta tikus yang rentan terhadap lesi aterosklerosis. Aliran *atheroprone* mengaktifkan jalur NF-KB dalam sel endotel yang menyebabkan ekspresi reseptor proaterogenik di permukaan sel, termasuk VCAM-1 dan *Toll Like Receptor* (TLR). Selain itu, endothelium ateroprone menghasilkan beberapa sitokin proinflamasi dan kemokin, protein matriks ekstraseluler faktor pertumbuhan, dan m-RNA yang mendorong lingkungan proaterogenik lokal (Tabas et al., 2015).



Sumber : (Tabas et al., 2015)

Gambar 2.10 *Vascular Endothelial Cells* dan Perkembangan Awal Lesi Aterosklerosis

Lesi awal aterosklerosis pada *Human Carotid Artery* berkembang di daerah lengkungan utama (*carotid sinus*). Sel endothelial di situs ini menunjukkan adanya fenotip *atheroprone* yang mendorong adanya proinflamator karena terdapat jalur pensinyalan NF-KB. Aktivasi NF-KB mendorong masuknya monosit yang ditularkan melalui darah (sel berwarna biru pada gambar) melalui persimpangan sel endotel (sel oranye pada gambar) ke dalam intima, kemudian monosit berdiferensiasi menjadi makrofag (sel merah pada gambar). Sebaliknya, *uniform*

laminar flow membangkitkan fenotip sel endotel ateroprotektif yang didorong dengan adanya integrator transkripsional KLF2 dan KLF4. Fenotip endotel ateroprotektif ini mempromosikan lingkungan antiinflamasi dan antitrombotik yang dapat memberikan perlindungan relative dari perkembangan lesi aterosklerosis (Tabas et al., 2015).

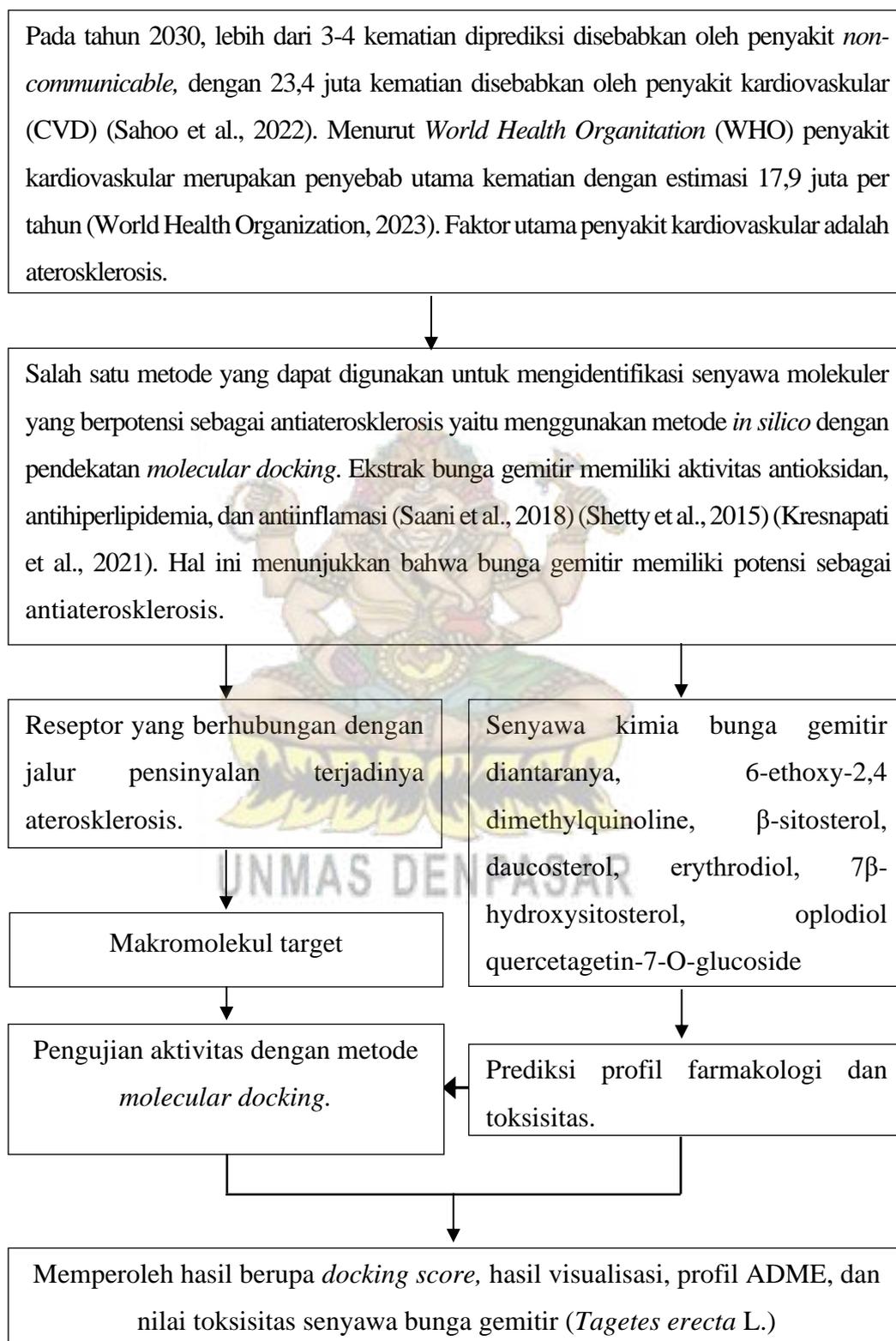
2.4 Metode *In Silico*

Istilah uji *in silico* menunjukkan penggunaan simulasi computer individual dalam pengembangan atau evaluasi peraturan produk obat, alat kesehatan, atau intervensi medis (Viceconti et al., 2016). Penelitian secara *in silico* dapat dikombinasikan dengan *docking* untuk menghasilkan alur kerja yang terintegrasi dengan kinerja prediksi yang lebih baik. Pendekatan yang berbeda juga dapat digabungkan untuk mengintegrasikan *docking*, seperti dinamika molekuler dan estimasi energy bebas dapat dikombinasikan dengan *docking* untuk meningkatkan hasil (Pinzi & Rastelli, 2019).

Molecular docking merupakan metode design yang mensimulasikan interaksi molekul dan memprediksi mode pengikatan dan afinitas diantara reseptor dan ligan. Teknologi ini telah berkembang beberapa tahun terakhir, *molecular docking* telah banyak digunakan dalam bidang penelitian desain obat. Penelitian ini menggunakan database senyawa untuk menyaring potensi farmakoterapi dengan penggunaan yang nyaman bagi peneliti, lebih efisien, dan mengurangi biaya penelitian. *Molecular docking* juga dapat meningkatkan kapasitas prediksi target obat dan mekanisme molekuler terkait desain obat secara signifikan (Fan et al., 2019).

Tujuan utama dari *molecular docking* adalah untuk mencapai *docked conformer* yang dioptimalkan dari kedua molekul yang berinteraksi untuk mencapai pengurangan energy bebas secara keseluruhan. Hasil prediksi dalam molekuler *docking* adalah *binding energy* bebas (Bjorkegren & Lusic, 2022).

2.5 Kerangka Konseptual



Gambar 2.11 Kerangka Konseptual