

**Analisis Senyawa Chlorogenic Acid (CGA) Kopi secara *in silico*
sebagai Kandidat Agen Kompetitif Inhibitor oxLDL Dalam
Berikatan dengan SRA dan P-Selektin**

**“Studi Pendahuluan Eksplorasi Obat Untuk Pencegahan
Aterosklerosis”**

SKRIPSI

Oleh:

MUHAMMAD ALDYAN YUDHA

17910051



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UIN MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG**

2022

**Analisis Senyawa Chlorogenic Acid (CGA) Kopi secara *in silico* sebagai
Kandidat Agen Kompetitif Inhibitor oxLDL Dalam Berikatan dengan
SRA dan P-Selektin**

SKRIPSI

**Diajukan Kepada:
Fakultas kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam Memperoleh Gelar Sarjana
Kedokteran (S.Ked)**

Oleh:

MUHAMMAD ALDYAN YUDHA

17910051

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UIN MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2022**

Analisis Senyawa Chlorogenic Acid (CGA) Kopi secara *in silico* sebagai Kandidat Agen Kompetitif Inhibitor oxLDL Dalam Berikatan dengan SRA dan P-Selektin

SKRIPSI

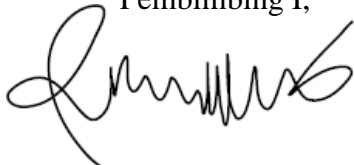
Oleh:

MUHAMMAD ALDYAN YUDHA
NIM. 17910051

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:

Tanggal:

Pembimbing I,



Dr.dr. Ermin Rachmawati,
M.Biomed
NIP. 198209242008012010

Pembimbing II,



dr. Zulfikar Syambani U,
M.Biomed, Ph.D
NIP. 19880818201911201266

Mengetahui,

Ketua Program Studi Pendidikan Dokter



dr. Tias Pramesti Griana, M.Biomed.
NIP. 198105182011012000

Analisis Senyawa Chlorogenic Acid (CGA) Kopi secara *in silico* sebagai Kandidat Agen Kompetitif Inhibitor oxLDL Dalam Berikatan dengan SRA dan P-Selektin

SKRIPSI

Oleh:
MUHAMMAD ALDYAN YUDHA
NIM. 17910051

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan Dinyatakan Diterima
Sebagai Salah Satu Persyaratan untuk Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran (S.Ked):

Tanggal:

Penguji Utama	<u>drg. Anik Listiyana, M.Biomed</u> NIP. 198008052009122001	
Ketua Penguji	<u>Dr.dr. Ermin Rachmawati, M.Biomed</u> NIP. 198209242008012010	
Sekretaris Penguji	<u>dr. Zulvikar Syambani U,</u> <u>M.Biomed, Ph.D</u> NIP. 19880818201911201266	

Mengetahui,
Ketua Program Studi Pendidikan Dokter




dr. Tias Pramesti Griana, M.Biomed.
NIP. 198105182011012000

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Muhammad Aldyan Yudha

NIM : 17910051

Program Studi : Pendidikan Dokter

Fakultas : Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Surabaya, 12 April 2022

Yang membuat pernyataan,



Muhammad Aldyan Yudha
NIM. 17910051

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Puji syukur Alhamdulillah penulis haturkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat, Taufiq, Hidayah, serta Inayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan naskah skripsi yang berjudul: Analisis Senyawa Chlorogenic Acid (CGA) Kopi secara *in silico* sebagai Kandidat Agen Kompetitif Inhibitor oxLDL Dalam Berikatan dengan SRA dan P-Selektin sebagai langkah awal untuk menyelesaikan studi pada Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Selanjutnya pada kesempatan ini penulis menghaturkan ucapan terima kasih seiring do'a dan harapan *jazakumullah ahsanal jaza'* kepada semua pihak yang telah mendukung dan membantu terselesaikannya proposal skripsi ini. Ucapan terima kasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. H. M. Zainuddin, MA, selaku rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Prof. Dr. dr. Yuyun Yueniwati Prabowowati Wadjib, M.Kes, Sp.Rad (K), selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. dr. Tias Pramesti Griana, M.Biomed, selaku ketua Program Studi Pendidikan Dokter FKIK UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Dr. dr. Ermin Rachmawati, M.Biomed selaku dosen pembimbing skripsi I yang telah memberikan ilmu, bimbingan, dan arahan.
5. dr. Zulvikar Syambani U, M.Biomed, Ph.D, selaku dosen pembimbing skripsi II dan dosen pembimbing akademik yang telah memberikan ilmu, bimbingan, dan arahan.

6. drg. Anik Listiyana, M.Biomed selaku penguji utama skripsi yang telah memberikan masukan dan saran yang membangun.
7. Segenap sivitas akademika Program Studi Pendidikan Dokter, terutama seluruh dosen, terima kasih atas segenap ilmu dan bimbingannya.
8. Ayah, Ibu, dan keluarga tercinta yang senantiasa memberikan doa, menyemangati dan memotivasi penulis selama menuntut ilmu di UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
9. Teman-teman seperjuangan CLAUSTRUM 2017 yang selalu menemani dan memberikan energi positif selama hari-hari menuntut ilmu di UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
10. Seluruh pihak yang ikut membantu dalam menyelesaikan proposal skripsi ini baik berupa materiil maupun moril.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan dan penulis berharap semoga skripsi ini bisa memberikan manfaat kepada para pembaca khususnya bagi penulis secara pribadi. *Amin Ya Rabbal Alamin.*

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Surabaya, 12 April 2022

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR SINGKATAN	xii
ABSTRAK	xiv
ABSTRACT	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	6
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.4 Manfaat Penelitian	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Arteri Koroner	8
2.2 Aterosklerosis	10
2.3 Faktor Risiko Aterosklerosis.....	10
2.4 Patogenesis Aterosklerosis.....	11
2.5 Peran P-Selektin dan SRA pada sel busa aterosklerosis.....	15
2.5.1 P-Selektin.....	15
2.6 Sistematika Tumbuhan Kopi (<i>Coffea sp</i>)	18
2.6.2 Komposisi dalam Kopi	18
2.6.3 Bioaktivitas dalam kopi	21
2.7 Hubungan Kopi dan Aterosklerosis	24
2.8 Metode <i>In Silico</i>	26
2.9 Kerangka Teori Penelitian	33
BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS	34
3.1 Kerangka Konsep Penelitian	34
3.2 Hipotesis Penelitian	35
BAB IV METODE PENELITIAN	36
4.1 Desain Penelitian	36

4.2	Variabel Penelitian.....	36
4.2.1	Variabel bebas	36
4.2.2	Variabel terikat	36
4.2.3	Variabel kontrol	36
4.3	Tempat dan Waktu Penelitian	36
4.3.1	Waktu penelitian	36
4.3.2	Tempat penelitian	36
4.4	Alat dan Bahan	37
4.4.1	Alat	37
4.4.2	Bahan.....	37
4.5	Definisi Operasional	38
4.6	Prosedur Penelitian	38
4.6.1	Preparasi Ligan	38
4.6.2	Preparasi protein reseptor.....	38
4.6.3	Penambatan <i>Molecular Docking</i>	39
4.6.4	Visualisasi hasil <i>docking</i>	39
4.6.5	Uji <i>Human Intestinal Absorption</i> (HIA).....	39
4.6.6	Uji Lipinski <i>Rule of five</i> (Ro5).....	39
4.7	Alur Penelitian.....	42
4.7	Analisis Hasil.....	43
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN		44
5.1	Hasil Penelitian	45
5.1.1	Profil fisikokimia dan kelarutan dari senyawa CGA	46
5.1.2	Prediksi Farmakokinetik	47
5.1.3	Prediksi mekanisme kerja CGA	48
5.1.4	Potensi CGA untuk bekerja pada aterosklerosis	49
5.2	Pembahasan	52
5.2.1	Prediksi CGA sebagai kandidat obat menghambat pembentukan sel busa aterosklerosis	52
5.2.2	Uji Prediction of Activity Spectra for Substances (PASS)	54
5.2.3	Hasil Nilai Binding affinity Ligan-Reseptor	54
5.3	Integrasi Islam	55
BAB VI KESIMPULAN.....		58
6.1	Penutup.....	58
6.2	Saran.....	58
LAMPIRAN.....		59
DAFTAR ISI.....		72

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1.....	19
Tabel 5.1.....	45
Tabel 5.2.....	47
Tabel 5.3.....	48
Tabel 5.4.....	50

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.....	7
Gambar 2.2.....	10
Gambar 2.3.....	12
Gambar 2.4.....	14
Gambar 2.5.....	15
Gambar 2.6.....	16
Gambar 2.7.....	21

DAFTAR SINGKATAN

AGEs	: <i>Advanced Glycation End Products</i>
AMPK	: <i>Adenosin Monofosfat Protein Kinase</i>
CQA	: <i>caffeoylquinic acid</i>
FQA	: <i>ferulylquinic acid</i>
GM-CSF	: <i>Hydrogen Bond Donor</i>
HBA	: <i>Hydrogen bond acceptor</i>
HBD	: <i>Hydrogen bond donor</i>
HDL	: <i>High Density Lipoprotein</i>
HIA	: <i>Human Intestinal Absorption</i>
ICAM-1	: <i>Intercellular adhesion molecule-1</i>
IL-8	: <i>Interleukin-8</i>
MAb	: <i>Monoclonal Antibody</i>
MCP-1	: <i>Monocyte Chemotactic Protein-1</i>
M-CSF	: <i>Macrophage Colony Stimulating Factor</i>
NADPH	: <i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate</i>
NO	: <i>Nitric Oxide</i>
oxLDL	: <i>Oxidized Low-Density Lipoprotein</i>
PA	: <i>Probable Activity</i>
PASS	: <i>Prediction of activity spectra for substances</i>
P-CQA	: <i>p-coumaroylterephthaloylquinic acid</i>
PI	: <i>Probable Inactivity</i>
PJK	: <i>Penyakit Jantung Koroner</i>
PJPD	: <i>Penyakit Jantung dan Pembuluh Darah</i>
PMN	: <i>Glutamic Pyruvic Transaminase</i>
PROCAM	: <i>The Prospective Cardiovascular Munster</i>
Ro5	: <i>Lipinski's Rule of Five</i>
ROS	: <i>Reactive oxygen species</i>
SBDD	: <i>Structure Based Drug Design</i>

SKA	: Sindrom Koroner Akut
SKRT	: Survei Kesehatan Rumah Tangga
SR	: <i>Scavenger Receptors</i>
SRA	: <i>Scavenger Receptors type A</i>
SRB	: <i>Scavenger Receptors type B</i>
TNF-a	: <i>Tumor Necrosis Factor</i>
VCAM-1	: <i>Vascular cell adhesion molecule-1</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>

ABSTRAK

ANALISIS SENYAWA CHLOROGENIC ACID (CGA) KOPI SECARA *IN SILICO* SEBAGAI KANDIDAT AGEN KOMPETITIF INHIBITOR oxLDL DALAM BERIKATAN DENGAN SRA DAN P-SELEKTIN

Aterosklerosis merupakan proses patologis kompleks yang mengacu pada pembentukan plak atheroma pada lumen pembuluh darah. Jika terjadi aterosklerosis di pembuluh koroner maka akan terjadi Penyakit Jantung Koroner (PJK) yang merupakan penyakit yang paling mematikan di dunia. Data WHO menyatakan, dari 17,3 juta kematian akibat penyakit jantung, serangan jantung bertanggung jawab untuk 7,3 juta kematian dan stroke bertanggung jawab untuk 6,2 juta kematian. Sedangkan prevalensi penyakit jantung di Indonesia 0,5% yang terdiagnosis dokter dan nilai ini jauh meningkat pada kasus yang tidak terdiagnosis. Penelitian ini adalah studi pendahuluan yang ingin mengeksplorasi pengaruh dari CGA dalam menghambat aterosklerosis yang belum diteliti sebelumnya. Oleh karena itu, dengan penelitian ini diharapkan dapat mengetahui potensi CGA dalam menghambat terjadinya aktivasi endotel, terbentuknya sel busa dan juga diprediksi sebagai ligan kompetitif oxLDL bagi reseptor P-Selectin dan SRA. Desain penelitian ini adalah deskriptif eksploratif, dimana penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bagaimana potensi senyawa aktif kopi yaitu CGA sebagai agen kandidat aterosklerosis secara *in silico*. Hasil Nilai Binding affinity antara ligan dengan reseptor dapat dinilai menggunakan Molecular Docking. Uji Molecular Docking bertujuan untuk memprediksi energi ikatan yang terbentuk diantara dua atau lebih molekul. Berdasarkan hasil uji Molecular Docking pada senyawa CGA didapatkan nilai binding affinity yang bermacam-macam pada setiap modelnya. Ikatan yang terbentuk antara ligan dan reseptor akan semakin stabil sehingga dapat membentuk ikatan yang semakin kuat ditandai dengan nilai binding affinity yang semakin negatif, sehingga semakin kecil nilai ikatan energinya, maka semakin besar daya hambat yang dihasilkan. Berdasarkan penjelasan diatas menunjukkan bahwa ikatan antara CGA dengan P-Selektin dan SRA memiliki nilai binding affinity terendah yaitu pada model 0 dan dapat disimpulkan sebagai model CGA paling tepat dalam berikatan dengan reseptor P-Selektin dan SRA. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa senyawa CGA pada kopi (*coffea sp*) dapat berikatan dengan P-Selektin dan SRA sebagai ligan dan reseptor dalam menghambat aterosklerosis secara *In Silico*. Potensi CGA dapat menjadi ligan kompetitif oxLDL bagi P-selektin dan SRA dengan mengetahui hasil skor bioaktif, profil mekanisme kerja dan nilai afinitas ikatan. Afinitas ikatan rerata senyawa CGA terhadap SRA dan P-Selektin yang didapatkan dari uji docking adalah -5,8 dan -6,3.

Kata Kunci : Asam Klorogenat, Aterosklerosis, P-Selektin, SRA

ABSTRACT

IN SILICO COFFEE CHLOROGENIC ACID (CGA) ANALYSIS AS A CANDIDATE COMPETITIVE AGENT OF oxLDL INHIBITORS IN BONDING TO SRA AND P-SELECTIN.

Atherosclerosis is a complex pathological process that refers to the formation of atheromatous plaques in the lumen of blood vessels. If there is atherosclerosis in the coronary arteries, coronary heart disease (CHD) will occur, the deadliest disease in the world. WHO data states that out of 17.3 million deaths from heart disease, heart attacks are responsible for 7.3 million deaths, and strokes are responsible for 6.2 million deaths. Meanwhile, the prevalence of heart disease in Indonesia is 0.5% diagnosed by a doctor, and this value is much higher in undiagnosed cases. This research is a preliminary study exploring the effect of CGA in inhibiting atherosclerosis which has not been studied previously. Therefore, this research is expected to determine the potential of CGA in inhibiting endothelial activation and foam cell formation and also predict it as a competitive oxLDL ligand for P-Selectin and SRA receptors. The design of this research is descriptive and exploratory. This study aims to determine how the potential of the active compound of coffee, namely CGA as a candidate agent for atherosclerosis *in silico*. Results The value of the binding affinity between the ligand and the receptor can be assessed using Molecular Docking. The molecular Docking Test aims to predict the bond energy formed between two or more molecules. Based on the results of the Molecular Docking test on CGA compounds, various binding affinity values were obtained in each model. The bond formed between the ligand and the receptor will be more stable so that it can form a stronger bond characterized by a more negative binding affinity value, so the smaller the bond energy value, the greater the inhibitory power produced. -Selectin and SRA have the lowest binding affinity value, namely in model 0, and can be concluded as the most appropriate CGA model in binding to P-Selectin and SRA receptors. Based on the results of the study, it can be concluded that the CGA compound in coffee (*Coffea sp*) can bind to P-Selectin and SRA as a ligand and receptor in inhibiting atherosclerosis *in Silico*. Potential CGA can be a competitive oxLDL ligand for P-selectin and SRA by knowing the results of the bioactive score, the profile of the mechanism of action, and the value of the binding affinity. The average binding affinity of CGA compounds to SRA and P-Selectin obtained from the docking test was -5.8 and -6.3.

Keyword : Chlorogenic Acid, Atherosclerosis, P-Selectin, SRA

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Aterosklerosis merupakan proses patologis kompleks yang mengacu pada pembentukan plak ateroma pada lumen pembuluh darah (Libby et al., 2011). Jika terjadi aterosklerosis di pembuluh koroner maka akan terjadi Penyakit Jantung Koroner (PJK) yang merupakan penyakit yang paling mematikan di dunia (Becket al., 2004; Ross, 2004). Data WHO menyatakan dari 17,3 juta kematian akibat penyakit jantung, serangan jantung bertanggung jawab untuk 7,3 juta kematian dan stroke bertanggung jawab untuk 6,2 juta kematian (WHO, 2008). Sedangkan prevalensi penyakit jantung di Indonesia sebanyak 0,5% yang terdiagnosis dokter dan nilai ini jauh meningkat pada kasus yang tidak terdiagnosis (Kemenkes RI, 2014).

Faktor risiko aterosklerosis bersifat multifaktorial yang dapat disebabkan oleh berbagai rangsangan seperti dislipidemia, hipertensi dan inflamasi sistemik. Rangsangan tersebut menyebabkan perubahan paralel dalam permeabilitas endotel dan komposisi matriks ekstraselular endotel sehingga memudahkan masuk dan retensi nya *low density lipoprotein* (LDL) pada dinding arteri (Libby et al., 2011).

Proses inflamasi sistemik yang terjadi dapat mempengaruhi sel endotel, metabolisme lemak, dan koagulasi darah yang dapat meningkatkan resiko terjadinya aterosklerosis (Bartova et al., 2014). Inflamasi sistemik memainkan bagian penting dalam patofisiologi aterosklerosis dan komplikasinya. Inflamasi juga dapat meningkatkan produksi stress oksidatif yaitu *reactive oxygen species*

(ROS). Peningkatan inflamasi secara sistemik juga meningkatkan faktor adhesi pada permukaan endotel, proses ini merupakan langkah awal dari pembentukan lesi aterosklerosis (Spagnoli et al., 2007).

Terjadinya stress oksidatif dan inflamasi secara terus-menerus akan mengakibatkan bioavailabilitas dari *nitric oxide* (NO) pada endotel menurun. Hal tersebut menyebabkan terjadinya disintergrasi endotel yaitu disfungsi sel endotel yang diikuti oleh apoptosis sel sehingga mengakibatkan disintegrasi fungsional dan struktural dari lapisan sel endotel (Fliser et al., 2011).

Disintegrasi endotel dapat meningkatkan permeabilitas vaskuler sehingga memungkinkan penetrasi LDL pada dinding pembuluh darah. Oksidasi LDL (oxLDL) yang disebabkan oleh ROS akan memicu perekrutan sel pro-inflamasi (monosit dan mediator lainnya). Aktivasi monosit menjadi makrofag akan menyebabkan terbentuknya *foam cell* dengan penyerapan oxLDL. Kemudian, inflamasi yang terjadi juga meningkatkan proliferasi *smooth muscle cells* (SMC) dan pelepasan *metalloproteinase* (MMP) yang mendegradasi serat kolagen sehingga terjadi disintegrasi kolagen intima pembuluh darah (Fonseca et al., 2014a). Penumpukan *foam cell* dan proliferasi SMC secara terus-menerus dapat menyebabkan penebalan dinding pembuluh darah dan terbentuknya plak aterosklerosis (Andrew et al., 2009; Vogiatzi et al., 2009; Spagnoli et al., 2007).

Pembentukan sel busa makrofag merupakan ciri utama lesi aterosklerotik stadium awal. Penyerapan oxLDL yang tidak terkontrol, esterifikasi kolesterol berlebihan dan disregulasi pelepasan kolesterol mengakibatkan akumulasi kolesterol ester yang disimpan sebagai lipid sitoplasma dan selanjutnya memicu pembentukan sel busa. P-Selektin dan *Scavenger Receptor A* (SRA) menyumbang

75% hingga 90% reseptor yang menginternalisasi oxLDL oleh makrofag. Setelah internalisasi, lipoprotein dikirim ke endosom / lisosom, di mana kolesterol ester dihidrolisis menjadi kolesterol bebas oleh *lysosomal acid lipase* (LAL). Kolesterol bebas yang dilepaskan diesterifikasi kembali pada retikulum endoplasma (RE) oleh *Acetyl CoA Acetyltransferase-1* (ACAT-1) dan disimpan dalam droplet lipid sitoplasma. Jika ini terus menerus terjadi, kolesterol bebas yang berlebihan akan terakumulasi di makrofag menghasilkan pembentukan sel busa (Yu et al., 2013).

Saat ini dibutuhkan bahan yang dapat mengatasi stress oksidatif dan inflamasi yang merupakan proses patologis aterosklerosis. Salah satu bahan alami yang memiliki potensi antibakteri, antiinflamasi dan antioksidan adalah kopi. Potensi antioksidan pada kopi dihubungkan dengan kandungan *caffeic acid*, *cafestol*, *chlorogenic acid* (CGA), *ferulic acids*, kafein, melanoidim, dan trigonelline (Hall et al., 2015).

Kandungan CGA dan *caffeic acid* pada kopi mempunyai banyak manfaat yaitu sebagai antibakteri, anti inflamasi dan juga antioksidan (Lou et al., 2011). Senyawa CGA memiliki potensi sebagai anti inflamasi karena dapat mengurangi sekresi sitokin proinflamasi Tumor necrosis factor- α (TNF- α), Interleukin 1 beta (IL-1 β), Interleukin-6 (IL-6) dan berpotensi sebagai antioksidan karena mengambat terjadinya reaksi oksidasi dari ROS dengan cara melakukan donor atom hidrogen (Liang & Kitts, 2015). Dalam penelitian lain, Kafein tidak mempengaruhi tingkat lipid serum dan tekanan darah namun sebaliknya kafein secara signifikan mengurangi pembentukan lesi aterosklerosis dengan bertindak sebagai antioksidan (Mercer et al., 2012). Kandungan *ferulic acid*, melanoidim,

dan trigonelline dalam kopi juga memiliki potensi dalam menghambat peroksidasi lipid, sehingga dapat mencegah terjadinya aterosklerosis (Hall et al., 2015; Buscemi et al., 2014). Potensi kopi juga didukung dengan penelitian eksperimental pada tikus model periodontitis yang diberikan konsumsi kopi jenis robusta yang dapat melindungi arteri koroner dari pembentukan aterosklerosis (Susilawati et al., 2015).

Tumbuhan memiliki beragam bentuk dan jenis yang telah Allah ciptakan untuk memenuhi kebutuhan hidup manusia, oleh sebab itu banyak sekali manfaat yang telah kita dapatkan dari tumbuhan yang sudah Allah ciptakan, namun seringkali kita juga belum mengetahui secara jelas bagaimana manfaat yang bisa didapatkan dalam tumbuhan tersebut sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut bagaimana potensi dari masing masing tumbuhan yang sudah Allah ciptakan. Allah SWT berfirman dalam Al Quran Surah Asy-Syu'ara ayat 7 yang berbunyi :

أَلَمْ يَخْلُقْنَا ۙ أَلَمْ يَرْزُقْنَا ۙ أَلَمْ يَكُنْ لَهُ الْيَوْمَ الْمَوْتُ ۚ وَآلَمْ نُخَلِّقْ لَهُ مَا يَشَاءُ ۚ لَئِنْ لَمْ يَرْجِعْ إِلَيْنَا
مِنْ قَبْلِ أَنْ يَنْزِلَ الْهَاقِمُ مِن سَّمَاءٍ مُّسْفِرَةٍ ۙ فَيُلْقِيَ عَلَيْنَا كَتَمًا مِّنْ أَحْمَرٍ ۚ

Artinya ialah : Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik ?

Berdasarkan Terjemahan Tafsir Al-Mishbah oleh M. Quraish Shibab diketahui bahwa Allah telah menciptakan tumbuh-tumbuhan yang baik, namun masih banyak kaum yang tetap mempertahankan kesombongannya dan tidak bersyukur atas ciptaan-Nya, oleh karena ini perlu disyukuri dan direnungi makna dari penciptaan tumbuh-tumbuhan ini sehingga tumbuhan ini bisa berguna bagi makhluk hidup dengan beragam manfaat, Salah satu manfaat dari tumbuhan

tumbuhan ini ialah dapat digunakan sebagai pengobatan berbagai penyakit manusia (Shihab, 2012). Pengobatan secara alami dari tumbuh-tumbuhan juga telah dicontohkan oleh Rasulullah SAW dimana disebut sebagai *Ath Thibbun Nabawi* (Pengobatan cara Nabi). Sehingga tanaman merupakan salah satu anugerah dari Allah SWT yang wajib dipelajari dan dimanfaatkan (Lestari, 2016).

Beberapa pendekatan lain juga dikembangkan untuk menemukan senyawa baru yang efektif dalam menangani Aterosklerosis. Salah satunya dengan metode komputasi, pemilihan metode ini dikarenakan proses pengumpulan data yang cepat dan efisien dengan hasil yang dapat dipertanggungjawabkan. Metode ini sangat berguna dalam penemuan obat baru dengan memanfaatkan media komputasi atau disebut juga *in silico* (Trott & Olson, 2010) . Uji *in silico* sudah menjadi metode yang digunakan untuk memulai temuan senyawa obat baru serta untuk meningkatkan efisiensi dalam pengoptimalan aktivitas senyawa induk. Pada proses ini dilakukan juga suatu pemodelan molekul dengan *Molecular Docking*. Pendekatan *molecular docking* ini dilakukan untuk memprediksi interaksi antara ligand dan protein pada *binding site*. Proses *docking* ini melibatkan dua langkah dasar yaitu memprediksi konformasi ligand serta posisi dan orientasinya di dalam *binding site* dan menilai jumlah afinitas energi yang dihasilkan (Monika *et al.*,2010).

Penelitian ini adalah studi pendahuluan yang ingin mengeksplorasi pengaruh dari CGA dalam menghambat aterosklerosis yang belum diteliti sebelumnya. Oleh karena itu, dengan penelitian ini diharapkan dapat mengetahui potensi CGA dalam menghambat terjadinya aktivasi endotel, terbentuknya sel

busa dan juga diprediksi sebagai ligand kompetitif oxLDL bagi reseptor P-Selectin dan SRA.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana potensi CGA sebagai ligand kompetitif oxLDL bagi P-selektin dan SRA ?
2. Bagaimana profil skor bioaktif dari CGA menggunakan metode *in silico* ?
3. Bagaimanakah profil mekanisme kerja CGA menggunakan metode *in silico* ?
4. Bagaimana nilai afinitas ikatan antara CGA dengan P selektin dan SRA dengan menggunakan metode *in silico* ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Khusus

1. Mengetahui potensi CGA sebagai ligand kompetitif oxLDL bagi P-selektin dan SRA
2. Mengetahui profil skor bioaktif dari CGA menggunakan metode *in silico*
3. Mengetahui profil mekanisme kerja CGA menggunakan metode *in silico*
4. Mengetahui nilai afinitas ikatan antara CGA dengan P selektin dan SRA dengan menggunakan metode *in silico*

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat menjadi rujukan bagi penelitian selanjutnya baik *in vitro* maupun *in vivo* untuk membuktikan manfaat dalam mencegah terjadinya aterosklerosis.

1.4.2 Manfaat Aplikatif

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat menjadi obat dalam mengurangi risiko terbentuknya plak aterosklerosis dengan memanfaatkan Kopi sebagai *daily drink* dengan mempertimbangkan efek samping dan dosisnya.

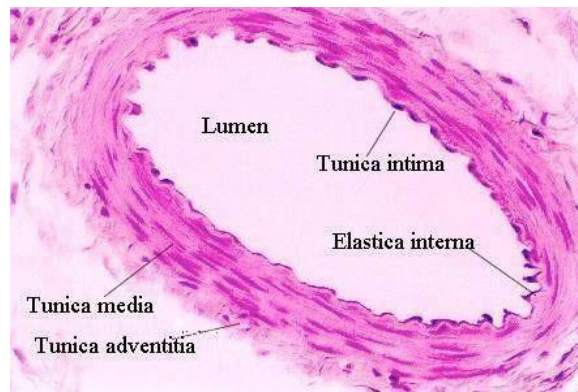
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Arteri Koroner

Arteri koroner adalah arteri berukuran sedang yang merupakan pembuluh darah dalam organ jantung yang berfungsi menyuplai makanan bagi sel-sel jantung. Arteri koroner kanan dan kiri yang mendistribusikan darah ke otot jantung. Apabila aterosklerosis mempengaruhi pembuluh darah ini maka disebut aterosklerosis koroner (Libby et al., 2011). Susunan dasar arteri koroner adalah tunika intima, tunika media, dan tunika adventisia seperti pada gambar 2.1.

Komponen yang membentuk dinding pembuluh darah adalah serat kolagen dan elastin, dan sel-sel otot polos yang dapat diamati secara histologis. Kolagen merupakan bagian penting penyusun dari lapisan intima. Mayoritas dari dinding arteri merupakan protein kolagen tipe I, III, dan IV. Kolagen tipe I dan III mewakili sekitar 90% dari total kolagen pembuluh darah. Secara umum kolagen tipe I dan III merupakan penyusun dalam semua tiga lapisan dinding arteri, dan secara khusus ditemukan dalam intima dari plak aterosklerosis (Zoumi et al., 2004).



Gambar 2.1 Gambaran histologi dari arteri koroner dengan pewarnaan *hematoxylin and eosin-stained* (childs, 2014)

Berikut adalah penjelasan dari susunan-susunan dari pembuluh darah:

1. Tunika intima sebagai lapisan dalam yang terdiri dari selapis sel-sel endotel. Di bawah lamina endotel terdapat jaringan ikat yang sangat tipis, yang disebut lamina subendotel. Pada lamina subendotel dijumpai serabut-serabut elastik yang tampak kurang jelas. Pada batas tunika intima dengan tunika media serabut-serabut elastik kelihatan lebih jelas, bergelombang dengan arah sirkuler yang disebut sebagai membrana elastika internal oleh karena serabut-serabut elastik ini tebal.
2. Tunika media adalah lapisan serabut otot polos yang mempunyai arah sirkuler dengan susunaan serabut-serabut yang rapat dan diantaranya terdapat serabut-serabut elastik. Lapisan ini jauh lebih tebal dibanding dengan tunika intima (dua kali tebal tunika intima).
3. Tunika adventitia menyelubungi tunika media dari sebelah luar, dan merupakan jaringan ikat fibro elastik yang lebih tipis dari tunika media. Sebagai batas tunika media dan tunika adventitia cukup jelas kelihatan lamina elastika eksterna, tetapi tidak setebal dan sejelas lamina elastika interna (Allen, 2008).

2.2 Aterosklerosis

Aterosklerosis berasal dari bahasa Yunani, yaitu *atero* dan *sklerosis*. Kata *atero* atau *atera* berarti suatu bentuk yang menunjukkan degenerasi lemak atau berhubungan dengan ateroma, sedangkan *sklerosis* berarti indurasi dan pengerasan, seperti pengerasan karena peradangan atau pembentukan jaringan ikat yang meningkat (Dorland, 2006).

Aterosklerosis adalah penyakit kronis dinding arteri, dan merupakan penyebab utama kematian dan hilangnya nyawa tiap tahun di seluruh dunia. Penelitian yang dilakukan telah menyebabkan banyak hipotesis yang menarik tentang patofisiologi pembentukan lesi aterosklerosis dan komplikasi seperti penyakit jantung koroner, infark miokard dan stroke. Penelitian juga menunjukkan bahwa proses seperti oksidasi lipoprotein, inflamasi dan sistem imun memiliki keterlibatan penting dalam pembentukan lesi aterosklerosis pada manusia (Libby et al., 2011).

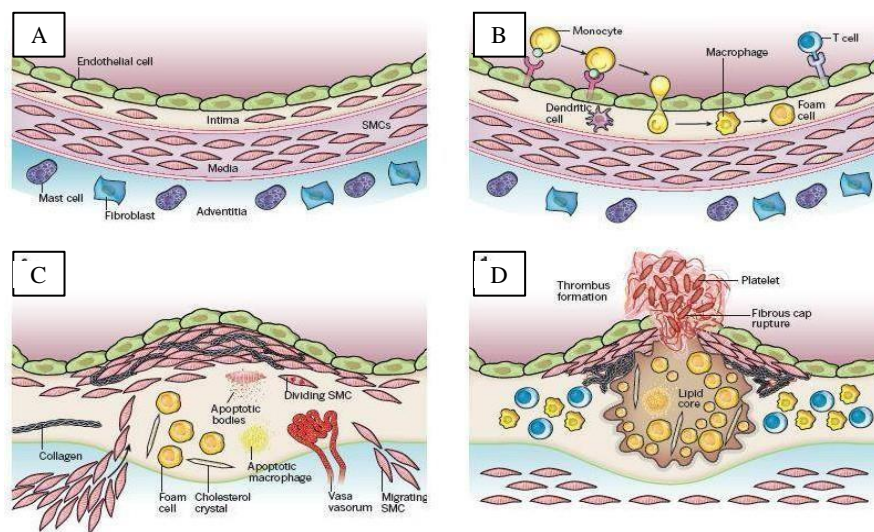
2.3 Faktor Risiko Aterosklerosis

Aterosklerosis adalah penyakit yang kompleks dan dapat terjadi pada pembuluh darah sedang hingga besar yang secara perlahan dapat menyumbat dinding pembuluh darah. Aterosklerosis dapat mempengaruhi berbagai daerah sirkulasi dan menghasilkan manifestasi klinis yang berbeda tergantung pada tempat peredaran darah tertentu yang terjadi aterosklerosis. Faktor risiko aterosklerosis dapat dibedakan menjadi dua yaitu, yang termasuk tidak dapat dimodifikasi seperti usia, jenis kelamin laki-laki, dan genetika sedangkan

dimodifikasi seperti merokok, obesitas, aktivitas fisik, gangguan lipid, hipertensi, diabetes, stres, inflamasi dan bakteri (Miao et al., 2011).

2.4 Patogenesis Aterosklerosis

Aterogenesis mengacu pada perkembangan plak ateromatosa di lapisan dalam arteri seperti pada gambar 2.2 bagian A. Atas dasar percobaan pada hewan dan pengamatan dalam spesimen manusia, terdapat perubahan paradigma bahwa aterosklerosis merupakan suatu rangkaian mekanisme kompleks antara oksidasi lemak, mediator inflamasi dan radikal bebas (Libby et al., 2011). Terdapat pergeseran fokus dalam pemahaman tentang aterosklerosis, dimana aterosklerosis tidak hanya berhubungan dengan faktor risiko klasik seperti merokok, hipertensi dan tingginya kadar kolesterol, tetapi juga berhubungan dengan infeksi bakteri yang persisten. Patogen infeksi yang persisten dapat menyebabkan respon imun dari tubuh hostnya dan merangsang patogenesis dari aterosklerosis (Spagnoli et al., 2007).



Gambar 2.2 Tahapan dalam pembentukan lesi aterosklerosis (Libby *et al.*, 2011)

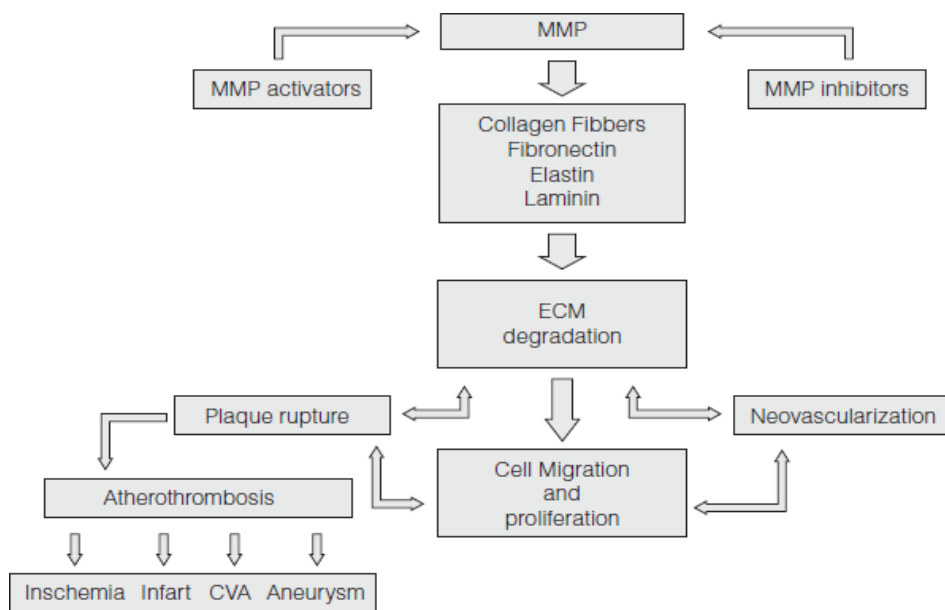
Aterosklerosis diawali dari adanya kerusakan lapisan endotel dinding arteri yang diikuti perubahan permeabilitas sel endotel dan peningkatan ekspresi molekul adhesi sehingga pasien dengan disfungsi endotel memiliki peningkatan risiko kejadian kardiovaskular di masa depan. Sel endotel memproduksi berbagai faktor vasorelaksan, yang paling signifikan yaitu NO (*Nitric Oxide*). *Nitric oxide* dapat yang Merangsang relaksasi sel otot polos pada pembuluh darah dan menghambat proliferasi yang berlebih dari sel otot polos, mencegah adhesi leukosit untuk migrasi ke dinding arteri, dan adhesi platelet pada endotel (Fliser *et al.*, 2011).

Terjadinya stress oksidatif dan inflamasi secara terus-menerus akan mengakibatkan bioavailabilitas dari NO pada endotel menurun. Sitokin dapat menurunkan bioavailabilitas NO, meningkatkan produksi ROS. Radikal bebas dapat mengurangi NO baik secara langsung dengan bereaksi dengan sel-sel endotel, ataupun secara tidak langsung, melalui modifikasi oksidatif Sintase Nitric

Oxide (iNOS) (Spagnoli et al., 2007). Rendahnya bioavailabilitas NO dapat meregulasi ekspresi intercellularadhesion molecule 1 (VCAM-1). VCAM-1 mengikat monosit dan limfosit pada endotel yang merupakan langkah pertama dalam invasi dari dinding pembuluh darah, melalui induksi nuclear factor- κ B (NF- κ B). Efek lain dari NO adalah penghambatan leukosit adhesi. Pengurangan NO menginduksi ekspresi monosit chemotactic protein 1 (MCP-1), yang dapat merekrut monosit ke pembuluh darah (Spagnoli et al., 2007). Hal tersebut menyebabkan terjadinya disintergrasi endotel yaitu disfungsi sel endotel yang diikuti oleh apoptosis sel, sehingga mengakibatkan disintegrasi fungsional dan struktural dari lapisan sel endotel (Fliser et al., 2011).

Disintegrasi endotel dapat meningkatkan permeabilitas vaskuler sehingga memungkinkan penetrasi LDL pada dinding pembuluh darah. Teroksidasi LDL (oxLDL) yang disebabkan oleh ROS akan memicu perekrutan sel pro-inflamasi (monosit dan mediator lainnya). Aktivasi monosit menjadi makrofag akan menyebabkan terbentuknya foam cell dengan penyerapan oxLDL.

Inflamasi yang terjadi juga meningkatkan proliferasi sel SMC dan pelepasan MMP yang mendegradasi serat kolagen sehingga terjadi disintergrasi kolagen intimal pembuluh darah seperti pada gambar 2.3. Dalam proses aterosklerosis, aksi MMP dimulai setelah inisiasi inflamasi, ketika sel-sel dengan tindakan inflamasi (makrofag dan foam cell terbentuk) sudah dalam intima. MMP-1 atau collagenases adalah salah satu MMP paling menonjol sebagai indikator dari risiko penyakit kardiovaskular. Diinduksi oleh hepatocyte growth factor (HGF), thrombin, vascular endothelial growth factor (VEGF) and TNF- α (Fonseca et al., 2014b).



Gambar 2.3 Interaksi antara metalloproteinase dan regulator (aktivator dan inhibitor). Degradasi matriks ekstraselular dalam proses aterosgenik (Fonsesca *et al.*, 2014)

Monosit dan sel akan bermigrasi ke dalam lapisan intima dinding pembuluh darah. Di dalam intima, monosit berdiferensiasi menjadi makrofag yang kemudian akan memakan oxLDL dan membentuk foam cell seperti pada gambar 2.2 bagian B. Penumpukan foam cell, sel T dan beberapa sel otot polos ini membentuk *fatty streak*. Selanjutnya foam cell mensekresikan *cytokines attracting monocytes* dan terperangkapnya makrofag akan menyebabkan terjadinya rekrutmen monosit yang terus menerus sehingga mengakibatkan penebalan lesi aterosklerosis (Spagnoli *et al.*, 2007).

Jika respon inflamasi tidak mereda, maka arteri akan mengalami remodeling, yaitu penebalan dan pelebaran dinding arteri bertahap, sampai lumen arteri tidak dapat berdilatasi lagi. Poliferasi SMC yang terus menerus dari tunika media - lapisan tengah dinding arteri - ke dalam tunika intima akan membentuk ateroma seperti pada gambar 2.2 bagian C (Libby *et al.*, 2011). Komplikasi trombotik tidak selalu terjadi.

Pada penyempitan arteri yang paling parah oleh plak thrombus sering timbul setelah gangguan fisik dari plak, yang paling umum pecahnya fibrous cap yang mengekspos bahan pro-koagulan dari inti plak untuk yang memicu koagulasi dalam darah dan memicu terjadinya trombosis seperti pada gambar 2.2 bagian D. Plak yang pecah biasanya memiliki fibrous cap yang tipis dengan beberapa SMC tapi makrofag berlimpah. Sel-sel inflamasi juga dapat mempercepat gangguan plak dengan mengelaborasi enzim yang dapat menurunkan kolagen dan dengan menghasilkan mediator yang memprovokasi kematian SMC (Libby et al., 2011).

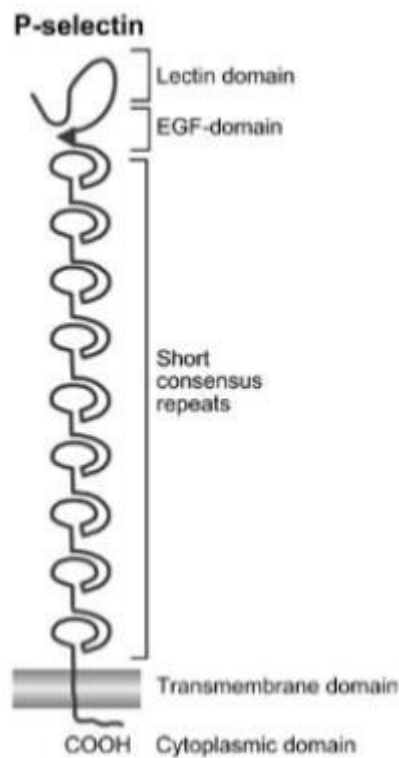
2.5 Peran P-Selektin dan SRA pada sel busa Aterosklerosis

2.5.1 P-Selektin

P-selektin adalah molekul adhesi sel yang memulai perlekatan leukosit ke platelet, sel endotel dan leukosit di tempat inflamasi dan cedera jaringan. Molekul adhesi sel memediasi proses yang terlibat dalam perlekatan sel satu sama lain. Molekul adhesi sel yang terlibat dalam aterosklerosis terdiri dari tiga jenis yaitu selektin, imunoglobulin dan integrin. Selektin memediasi *rolling* sel darah yang mengalir pada lapisan sel endotel, sedangkan imunoglobulin (ICAM-1,2,3 dan VCAM-1) dan integrin (b1- dan b2) memediasi adhesi dan ekstravasasi yang kuat dari sel darah.

Selektin adalah keluarga dari tiga glikoprotein yang berbeda. Gen manusia mereka terletak di kromosom 1. Tiga jenis selektin diberi nama sesuai dengan tempat ekspresi utamanya: L Selektin diekspresikan pada leukosit, E Selektin diekspresikan pada sel endotel, dan P Selektin

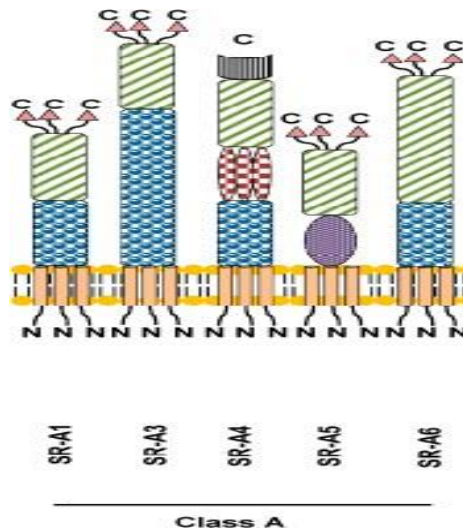
terutama ditemukan pada trombosit dan sel endotel. Artikel ini berfokus pada P-selectin, satu-satunya selektin yang diekspresikan pada trombosit. Ada sekitar 10.000 molekul P-selectin yang diekspresikan pada platelet teraktivasi. P-selektin mengandung karakteristik motif pengenalan karbohidrat terminal-N dari Ca^{2+} (lektin tipe-C) diikuti oleh faktor pertumbuhan epidermal (EGF), serangkaian pengulangan singkat (SCR) seperti pada protein pengatur komplemen, domain transmembran, dan ekor sitoplasma pendek. P-selectin mengikat ligan karbohidrat pada Ca^{2+} melalui lektin dan domain EGF.



Gambar 2.4 Struktur skema P-selectin dan lima domain fungsionalnya

2.5.2 SRA

SRA adalah protein membran Tipe II dengan N-terminus yang terdiri dari domain sitoplasma pendek diikuti oleh daerah transmembran tunggal dan domain ekstraseluler besar yang memediasi pengenalan ligan. Fitur unik dari protein Kelas A adalah domain mirip kolagen dengan aktivitas pengikatan kolagen dengan homotrimer SRA di permukaan sel. Anggota termasuk SRA1, SRA3, SRA4, SRA5 dan SRA6. SRA1 relatif melimpah pada makrofag tetapi juga terdapat pada otot polos pembuluh darah dan jaringan endotel, terutama ketika sel endotel mengalami stres oksidatif. Salah satu fitur umum yang dicontohkan oleh SRA1 seperti kemampuan untuk mengikat partikel LDL yang dimodifikasi atau teroksidasi. SRA1 selain terdapat di makrofag, mereka dapat ditemukan pada sel otot vaskular dan jaringan endotel. SRA3 memainkan peran penting dalam perlindungan terhadap agen radikal bebas (ROS). SRA4 bertindak sebagai reseptor untuk memeriksa, dan menghancurkan LDL yang beraktivitas untuk sel endotel vaskular. SRA5 terletak di beragam jaringan seperti, plasenta, paru-paru, usus, jantung, dan sel epitel, ia memiliki afinitas tinggi untuk bakteri tetapi tidak untuk LDL. SRA6 hanya ditemukan pada makrofag di peritoneum, keberadaan getah bening, hati dan zona spesifik limpa. Bakteri dan lipopolisakarida yang dihasilkan oleh bakteri merangsang ekspresinya. SRA6 tidak dapat terhubung dengan oxLDL (I. A. Zani et al., 2015).



Gambar 2.5 Scavenger Receptor tipe A; Fitur unik dari protein Kelas A adalah domain mirip kolagen dengan aktivitas pengikatan kolagen dengan homotrimer SRA di permukaan sel [3] Anggota termasuk SRA1, SRA3, SRA4, SRA5 dan SRA6 (I. Zani et al., 2015)

2.6 Sistematika Tumbuhan Kopi (*Coffea sp*)

Menurut Rahardjo (2012), taksonomi biji kopi (*Coffea sp.*), yaitu:

Kingdom : Phylum
 Divisio : Spermathophyta
 Kelas : Dicotyledoneae
 Ordo : Rubiales
 Famili : Rubiaceae
 Genus : *Coffea*
 Species : *Coffea sp.*

2.6.1 Biji Kopi (*Coffea sp.*)

Tanaman kopi akan mulai berbunga setelah berumur ± 2 tahun. Bunga ini akan keluar dari sela-sela daun yang terletak pada cabang primer. Bunga ini berasal dari kuncup-kuncup sekunder dan reproduktif yang berubah fungsinya menjadi 15 kuncup bunga. Kuncup bunga kemudian berkembang serentak menjadi bunga (Najiyati dkk, 2001).

Gambar biji kopi (*Coffea sp.*) dapat dilihat pada gambar 2.6 dibawah ini.



Gambar 2.6 Gambar Biji Kopi (*Coffea sp.*) Sumber: Panggabean, 2011

Pada gambar diatas menunjukkan gambar biji kopi yang sudah di kupas dari kulitnya dan belum mengalami proses penyangraian. Buah terdiri dari daging buah dan biji. Daging buah terdiri atas 3 bagian lapisan kulit luar (eksokarp), lapisan daging (mesokarp) dan lapisan kulit tanduk (endokarp) yang tipis tetapi keras. Buah kopi memiliki dua biji, tetapi kadang-kadang hanya mengandung 1 butir (Najiyati dkk,200).

2.6.2 Komposisi dalam Kopi

Kafein merupakan komponen yang paling dikenal dari biji kopi. Di dalam kopi jenis arabika, kafein dapat ditemukan dalam kadar yang berbeda-beda antara 0,8% dan 1,4%, sedangkan untuk Robusta terdapat berbagai nilai yang bervariasi antara 1,7% dan 4,0%. Namun, biji kopi didasari oleh beberapa komponen lainnya, termasuk selulosa, mineral, gula, lipid, tanin, dan polifenol. Kandungan mineral termasuk kalium, magnesium, kalsium, natrium, besi, mangan, rubidium, seng, tembaga, strontium, kromium, vanadium, barium, nikel, kobalt, timah, molibdenum,

titanium, dan kadmium. Kandungan gula, terdapat sukrosa, glukosa, fruktosa, arabinosa, galaktosa, dan manosa. Beberapa asam amino seperti alanin, arginin, asparagin, sistein, asam glutamat, glisin, histidin, isoleusin, leusin, lisin, metionin, fenilalanin, prolin, serin, treonin, tirosin, dan valin juga dapat ditemukan. Selain itu, biji kopi mengandung vitamin B kompleks, niacin (vitamin B3), dan CGA dalam proporsi yang mungkin berbeda dari 7% menjadi 12%, tiga sampai lima kali lebih dari kafein (Farah, 2012).

Tabel 2.1 Komposisi Kimia dari Kopi Arabika dan Kopi Robusta

Komponen	Konsentrasi (g/100g)	
	Kopi Arabika	Kopi Robusta
Karbohidrat		
Sukrosa	4.2-tr	1.6-tr
<i>Reducing sugars</i>	0.3	0.3
Polisakarida (<i>arabinogalactan, mannan,</i> dan <i>glucan</i>)	31–33	37
lignin	3.0	3.0
pektin	2.0	2.0
Senyawa Nitrogen		
Protein	7.5–10	7.5–10
Asam Amino Bebas	ND	ND
Kafein	1.1–1.3	2.4–2.5
<i>Trigonelina</i>	1.2–0.2	0.7–0.3
<i>Nicotinic acid</i>	0.016–0.026	0.014–0.025
Lipid		
Minyak Kopi (<i>triglicerida</i> dengan <i>unsaponifiables</i>)	17.0	11.0
Diterpene Esters	0.9	0.2
Mineral	4.5	4.7
Acids dan esters		
<i>Chlorogenic acids</i>	1.9–2.5	3.3–3.8
<i>Aliphatic acids</i>	1.6	1.6
<i>Quinic acid</i>	0.8	1.0
<i>Melanoidins</i>	25	25

Di antara zat-zat yang ada dalam komposisi kimia kopi, hanya kafein yang termostabil, yaitu tidak dihancurkan oleh pemanggangan yang berlebihan. Zat lain seperti protein, gula, CGA, trigonelina, dan lemak dapat menjadi diawetkan atau bahkan hancur dan berubah menjadi produk reaktif selama proses pemanggangan kopi (Mussatto et al., 2011).

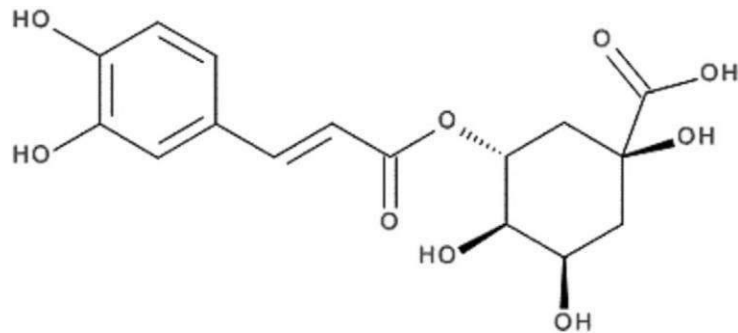
2.6.3 Bioaktivitas dalam kopi

Kopi mengandung banyak komponen biologis aktif, semisal polifenol dan alkaloid. Alkaloid yang ditemukan dalam kopi meliputi kafein, senyawa aktif paling melimpah yang ditemukan dalam seduan kopi dan telah terbukti memiliki kemungkinan efek anti-inflamasi. Sejumlah komponen lain yang ditemukan dalam kopi adalah tanin, flavanols, flavones, anthocyanins, proanthocyanidins, *phenolic acids*, *hydroxybenzoic acids* dan *hydroxycinnamic acids*). Senyawa lainnya merupakan senyawa golongan polifenol, polifenol dalam kopi terdiri dari CGA, *Ferulic acid* dan *Caffeic acid*. Polifenol telah terbukti memiliki efek biologis yang menguntungkan bagi jantung dan gangguan metabolik, inflamasi dan kanker, stres oksidatif, iskemia serebral, obesitas dan fungsi otak (Hall et al., 2015).

1. Chlorogenic Acid

Salah satu polifenol yang paling banyak dipelajari yang terkandung dalam kopi, yaitu Chlorogenic Acid (CGA) yang terbentuk melalui reaksi esterifikasi antara asam sinamat (disebut juga sebagai asam kafeat) dan

asam quinat. Namun konsentrasi CGA dalam kopi tetap bervariasi, kandungan CGA pada kopi espresso bervariasi 96-111 mg per 30 ml cangkir, sedangkan kandungan CGA dalam cangkir 130ml dapat berkisar dari 143 mg (arabika) sampai 247 mg (robusta) (Godos et al., 2014).



Gambar 7. Struktur kimia *Chlorogenic acid* (Hall et al., 2015).

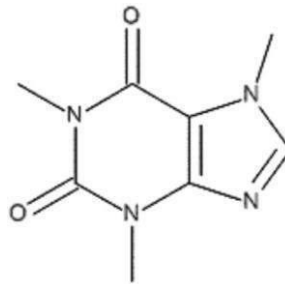
Chlorogenic acid menunjukkan sifat antioksidan yang kuat in vitro. CGA telah terbukti mengurangi produksi sejumlah mediator proinflamasi, termasuk TNF- α , IL-1 β , IL-6 dan interferon- γ (IFN- γ) dalam sel makrofag (Hall et al., 2015). CGA juga mungkin memainkan peran sebagai faktor anti tumor dengan menghambat matrix MMP-9, angiogenik enzim yang terlibat dalam genesis tumor hati manusia dan metastasis (Buscemi et al., 2014).

Chlorogenic Acid memainkan peran penting dalam pencegahan aterosklerosis dengan menghambat LDL yang mengalami oksidasi dalam plasma dan berada di bawah permukaan endotel (Godos et al., 2014). Dalam penelitian yang dilakukan pada metabolisme lipid pada hewan model diabetes, Efek antihyperlipidemic dari CGA tampaknya tergantung pada kapasitasnya untuk meningkatkan aktivitas 3-hidroksi 3-

methylglutaryl koenzim A reduktase di hati dan ginjal dan menurunkan aktivitas lipoprotein lipase dan lesitin acyltransferase kolesterol dalam plasma. Selain itu, CGA mungkin mengurangi kerentan oksidasi LDL (Godos et al., 2014).

2. Kafein

Kafein (1,3,7-trimethylxanthine) merupakan salah satu komponen kopi yang banyak diteliti. Senyawa ini merupakan kristal xanthine alkaloid putih alami dibiji kopi. Telah dilaporkan bahwa konsentrasi kafein dalam kopi berkafein berkisar 29-130 mg/cup (240 ml), sedangkan pada kopi espresso, kafein adalah berkisar 58-76 mg (35-50 ml). Penghapusan kafein dapat dilakukan pada kopi melalui proses dekafeinasi sehingga mengurangi kapasitas antioksidan dan juga menyebabkan menurunnya kandungan polifenol (Godos et al., 2014).

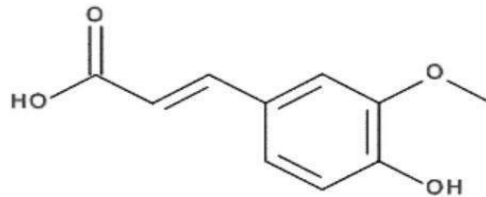


Gambar 2.8 .Struktur kimia kafein (Hall et al., 2015).

3. Ferulic acid

Ferulic Acid telah terbukti memiliki banyak efek pada peradangan. Ferulic acid memicu penurunan produksi IL-1 β dan TNF- α . Selain itu ferulic acid juga dapat mempengaruhi katabolisme triptofan dalam otak

sehingga berperan dapat digunakan sebagai biomarker depresi (Hall et al., 2015).



Gambar 2.9 Struktur kimia ferulic acid (Hall et al., 2015).

Sejumlah penelitian telah mengungkapkan manfaat ferulic acid karena sifat antioksidan. Ferulic acid telah terbukti menghambat peroksidasi lipid pada tikus. Pada penelitian terhadap model sel saraf, ferulic acid telah terbukti memberikan perlindungan antioksidan terhadap hidroksil dan paparan radikal peroksil. (Hall et al., 2015).

2.7 Hubungan Kopi dan Aterosklerosis

Efek kopi terhadap kesehatan telah banyak diperdebatkan sepanjang empat abad terakhir. Baru-baru ini, banyak peneliti telah menyarankan bahwa senyawa polifenol sebagai antioksidan muncul pada kopi bermanfaat untuk melindungi tubuh manusia terhadap penyakit kardiovaskular, penyakit hati, dan penyakit degeneratif. Oleh karena itu, kopi diharapkan menjadi minuman yang bermanfaat bagi kesehatan manusia.

Hubungan antara kopi dan risiko penyakit kardiovaskular terutama aterosklerosis telah menjadi topik penelitian selama 20 tahun terakhir walaupun

kesimpulan dari penelitian yang telah diterbitkan beragam (Engstrom, 2015). Aterosklerosis merupakan penyakit vaskuler dengan timbulnya plak ateroma, yaitu suatu tungkulan pada dinding arteri. Tahap awal, di daerah sub intima ditemukan yang disebut *foam cell*. Terbentuknya *foam cell* terjadi setelah makrofag mengendositososis lipid teroksidasi (terutama oxLDL) melalui SRA. Ekspresi SRA pada monosit dapat diinduksi oleh tingginya kadar kolesterol dalam darah. Stimulasi P. gingivalis bersifat pro oksidatif karena meningkatkan oksidasi LDL oleh monosit dan pro-inflamatori karena menginduksi produksi sitokin pro-inflamatori TNF- α dan IL-1 β yang menginduksi ekspresi SRA, sehingga P. gingivalis memudahkan pembentukan *foam cell* (Libby et al., 2011).

Hasil penelitian secara in vitro, menunjukkan bahwa filtrat seduan kopi dapat menghambat pembentukan foam cell dan ekspresi SRA (Susilawati et al., 2013). Kopi mengandung bahan-bahan aktif antioksidan seperti flavonoid, xanthine, alkaloid yang dapat berfungsi sebagai antiinflamasi, antibakteri. Sehingga adanya kopi akan mengurangi oksidasi lipid sehingga stimulasi terhadap ekspresi SRA berkurang dan dengan demikian pembentukan foam cell dihambat. Antioksidan juga mempengaruhi viabilitas monosit, diduga antioksidan mengurangi peroksidasi lipid membran sel, sehingga integritas membran monosit dapat dipertahankan, dengan demikian juga berarti mengurangi efek merusak toksin P. gingivalis pada membran monosit. Kemungkinan lain, kopi juga bersifat antibakteri yang dapat berpengaruh terhadap kelangsungan dan aktivitas bakteri, sehingga efek patogeniknya berkurang (Susilawati et al., 2013).

Kopi juga memiliki efek perlindungan endotel terhadap inisiasi awal dari aterosklerosis. Kafein bekerja langsung pada sel endotel merangsang produksi NO dan pelepasan kalsium dari retikulum yang mendukung aktivasi sintesis NO endotel (Umemura et al., 2006). Dengan meningkatnya produksi NO pada sel endotel akan mengurangi risiko terjadinya disintegrasi endotel. Selanjutnya, kafein meningkatkan migrasi sel endotel dan re-endotelisasi, melalui protein AMP kinase. Mekanisme ini menunjukkan peran menguntungkan kafein pada perbaikan endotel (Spyridopoulos et al., 2008). Komponen kopi, Dihydrocaffeic acid (DHCA) yang merupakan metabolit dari CGA dapat menghambat ekspresi dan aktivasi MMP sehingga dapat menghambat terjadinya disintegrasi kolagen intimal (Lee et al., 2015).

Dalam penelitian lain, konsumsi kopi mengakibatkan penurunan yang signifikan dalam kadar serum kolesterol, kolesterol LDL, dan penurunan yang signifikan dalam kerentanan LDL untuk terjadi oksidasi (Yukawa et al., 2004). Hal tersebut menunjukkan bahwa kekuatan konsumsi kopi melindungi terhadap aterosklerosis. Potensi kopi juga didukung dengan penelitian eksperimental pada tikus model periodontitis yang diberikan konsumsi kopi jenis robusta yang dapat melindungi arteri koroner dari pembentukan aterosklerosis (Susilawati et al., 2014).

2.8 Metode *In Silico*

Studi *in silico* merupakan pendekatan realistik terhadap simulasi komputer dengan menggunakan media/aplikasi dalam membuat desain obat. Metode *in silico* merupakan metode menjanjikan yang mengidentifikasi senyawa baru karena

mudah, cepat, dan lebih ekonomis. Keunggulan ini dapat dikembangkan lebih lanjut melalui bidang ilmu yang berkaitan dengan penggunaan senyawa kimia seperti farmasi, untuk melakukan eksperimen dalam membuat penemuan obat baru. Kegunaan penelitian ini juga berperan dalam meminimalkan jumlah hewan yang diuji dalam penyelidikan, memvisualisasikan mekanisme obat pada targetnya, dan mengoptimalkan bentuk senyawa obat. (Noori & Spanagel, 2013).

Tujuan utama dari pengembangan obat dengan bantuan komputer adalah untuk membawa bahan kimia terbaik dan efektif ke pengujian eksperimental dengan mengurangi biaya dan kesalahan pada tahap akhir. Tujuan umum *in silico* antara lain: Metode berbasis komputer untuk menemukan dan mengembangkan obat yang lebih efektif dan efisien, membangun *database* informasi kimia dan biologi tentang ligan dan target/protein untuk mengidentifikasi dan mengoptimalkan obat baru, dan menghitung kesamaan sifat farmakokinetik obat untuk senyawa kimia sebelum dilakukan skrining sehingga dapat memungkinkan deteksi dini senyawa yang mungkin kurang cocok dalam tahap uji klinis dan selanjutnya mampu mendeteksi senyawa yang menjanjikan (Noori & Spanagel, 2013).

Studi *in silico* dapat dibagi menjadi 2 bentuk secara umum bersumber pada pengenalan molekuler dan jenis algoritma yang digunakan, antara lain yaitu: *Structure Based Design*, model yang memiliki prinsip saling menyempurnakan diantara ligan serta target seperti kunci beserta gemboknya. Model ini berusaha memberi uraian kalkulasi energi afinitas diantara ligan dan protein sasaran yang sudah dilihat dari susunannya. Biasanya diaplikasikan terhadap protein sasaran dengan database yang cukup detail serta ketajaman gambar yang sangat jelas

(Suharna, 2012). Bentuk kedua adalah *Ligand Based Design*, model dengan prinsip dugaan yaitu penambahan ligan mempunyai cara kerja yang hampir sama dengan senyawa yang sudah dilaksanakan percobaan melalui *in vivo* ataupun *in vitro*. Model ini dinamakan dengan istilah homologi struktur ligan atau *Quantitative Structure-Activity Relationship* (Sliwoski *et al.*, 2014).

Prinsip utama pendekatan metode *in silico* yaitu dengan melaksanakan tambatan ligan pada sasaran yang mencakup protein (makromolekul) agar memperoleh sifat kimia ataupun fisika diawali dari yang memuaskan (efisien) sampai kurang memuaskan (tidak efisien) (Wadood *et al.*, 2013). Keterangan itu berkaitan dengan penggunaan segala aplikasi yang bisa dipakai sekaligus guna meminimalisir hasil yang kurang memuaskan (Shityakov *et al.*, 2013). Antara banyak usaha yang bisa dilaksanakan yaitu dengan korelasi antara salah satu struktur kimia bahan dengan *Lipinski's Rule of Five* (Ro5) mengenai sifat senyawa yang dianggap diperlukan perkembangan lagi sebab berpotensi sebagai bahan berkhasiat dalam medis (Muchtaridi *et al.*, 2018).

Metode *in silico* melalui bidang farmasi dalam uraian sebelumnya, hanya bisa meramal yang mungkin cara kerja apa yang akan muncul dari senyawa. Meskipun pendekatan ini mampu memberi deskripsi yang detail dari senyawa tanpa melaksanakan uji *in vitro* serta *in vivo*, pendekatan secara *in silico* pula harus dikuatkan dengan menjalankan percobaan lainnya sebagai tambahan pembuktian dari cara kerja senyawa (Noori & Spanagel, 2013). Pemakaian studi *in silico* sekaligus dengan studi lainnya bisa lebih menguatkan hasil penelitian yang mana studi *in silico* tak dibutuhkan dalam tahap *in vitro* ataupun *in vivo*.

Kondisi ini akan lebih meminimalisir timbulnya kesalahan diantara hasil *in silico* dengan cara lainnya yang bersifat masih perkiraan (Sliwoski *et al.*, 2014).

Molecular docking adalah salah satu metode *in silico* yang digunakan untuk mencari posisi optimal molekul ligan sehingga cocok secara geometris dan energi dengan sisi aktif pengikatan protein target (reseptor). *Molecular docking* akan memperlihatkan ikatan terbaik antara dari ligan dan protein (reseptor) (Mukesh dan Rakesh, 2011). Ligan merupakan suatu molekul kecil yang akan berinteraksi dengan daerah ikatan (*binding site*) yang terdapat pada protein. Sedangkan reseptor merupakan protein yang menjadi tempat penempelan ligan (Onkara, 2013). Ligan secara kimiawi akan berikatan dengan asam amino yang terdapat pada reseptor.

Molecular docking umumnya dimanfaatkan dalam proses penemuan obat. *Molecular docking* digunakan sebagai alat dalam biologi molekuler struktural untuk mendesain obat dengan bantuan computer. *Molecular docking* digunakan untuk memprediksi afinitas pengikatan inhibitor yang didesain terhadap suatu enzim yang ingin dihambat aktivitasnya Terdapat beberapa ikatan yang dihasilkan oleh sebab *molecular docking*, antara lain : (1) Ikatan kovalen adalah ikatan yang terbentuk ketika dua atom berbagi sepasang elektron bersama. Ikatan kovalen adalah ikatan kimia terkuat. Karena ikatan kuat tersebut, pada suhu normal ikatan kovalen bersifat *irreversible* yang bisa dipecah oleh katalisator enzim tertentu. Interaksi obat dan reseptor dengan adanya ikatan kovalen yang kuat ini mampu menjadikan kompleks yang stabil sehingga dapat digunakan untuk tujuan pengobatan; (2) Ikatan ion adalah ikatan yang terbentuk karena adanya tarikan elektrostatis antar ion dengan muatan berlawanan. Daya tarik menarik tersebut

dapat menurun apabila jarak antara ion berlawanan semakin jauh; (3) Ikatan hidrogen adalah gaya tarik antar molekul yang terjadi antar atom hidrogen yang terikat pada atom bermuatan negatif (F, O, dan N) dengan pandangan elektron bebas dari atom bermuatan negatif lain; (4) Ikatan *Van der Waal's* adalah daya tarik menarik molekul atom yang tidak memiliki muatan serta letak yang berdekatan. Ikatan *Van der Waal's* terbentuk karena sifat kepolaran molekul atom (Siswandono, 2016).

Autodock adalah software yang digunakan untuk *docking molecular* yang efektif, cepat, dan akurat. Sehingga *autodock* dapat memprediksi konformasi dan energi dari interaksi ikatan antara ligan dan target molekul. *Autodock* terdiri dari dua program yaitu *Autodock* dan *Autogrid*. *Autodock* memiliki fungsi untuk melakukan *docking molecular* ligan dan protein target dengan *set grid* yang sudah terdeskripsi. Software yang melakukan pendeskripsian tersebut yaitu *Autogrid* (Morris et al, 2009). Pemaparan sebelumnya bisa memberi keterangan yaitu *Autodock* sangat berguna dalam bidang farmasi untuk melakukan percobaan dalam membuat temuan obat baru dengan visualisasi cara kerja senyawa yang diprediksi memiliki khasiat obat. Potensi yang dipunyai dari *Autodock* ialah pengembangan dari *Autodock* maka dari segi tampilan ataupun visualisasi senyawa memiliki ada hal yang sama. Tetapi *Autodock* sebagai aplikasi pengembangan mempunyai kelebihan masing-masing yang berada dalam hal pemetaan struktur mempergunakan *Autogrid* harus dengan tepat, cepat serta otomatis guna mengefisiensi waktu tambatan senyawa pada sasaran (Trott, 2009)

Autodock dipakai bersama dengan aplikasi penunjang lainnya, antara lain:

(1) Pymol, *pymol* merupakan software yang diperuntukan untuk visualisasi

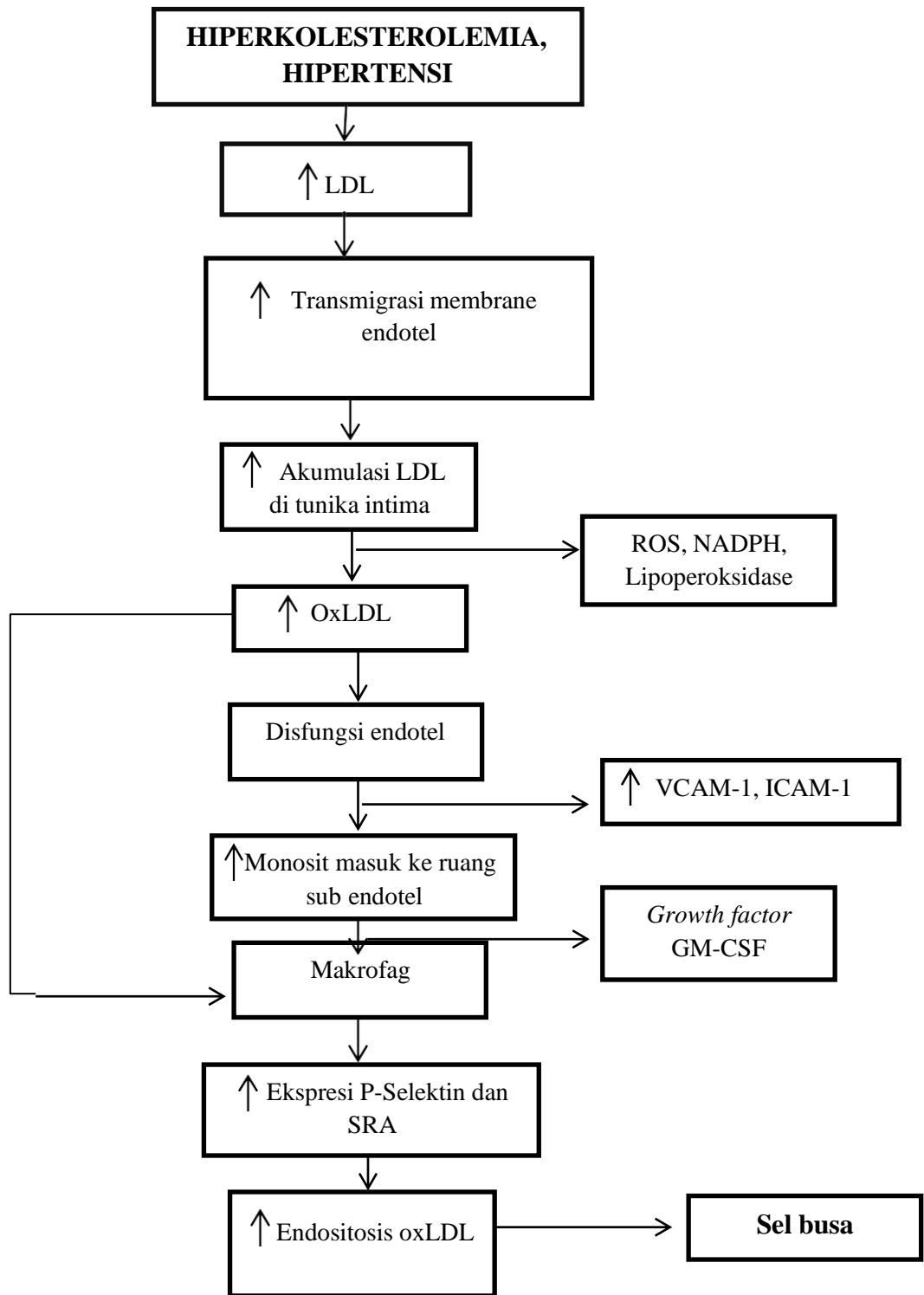
senyawa kimia dalam bentuk 3D yang mempunyai tampilan berwarna dari suatu molekul dengan gambar yang bagus. Software ini mampu menggambarkan protein, asam nukleat, molekul kecil, dan kerapatan elektron secara detail. Visualisasi diperlukan untuk mengetahui struktur dari sebuah senyawa. Pymol juga dapat berfungsi untuk mengubah molekul (Yuan *et al.*, 2017); (2) Open Babel, Open Babel adalah *software* yang digunakan untuk mengubah beberapa format file kimia. Beberapa utilitas pada software yang dapat digunakan seperti pencarian konformer dan penggambaran 2D, konversi batch, dan pencarian substruktur dan kesamaan. Software ini dapat diunduh secara gratis dari <http://openbabel.org> (O'Boyle *et al.*, 2011).

SwissADME, PASS (*Prediction of Activity Spectra for Substances*), dan Pre ADMET adalah aplikasi *online* lainnya yang bisa diakses secara gratis dan berfungsi sebagai ramalan aktivitas dari suatu senyawa berdasarkan strukturnya terlebih untuk aktivitas senyawa sintetis yang akan diuji untuk menjadi obat. Kelebihan ini digunakan oleh semua pihak terlebih dalam proses melakukan percobaan temuan obat baru dengan memperkirakan aktivitas senyawa tak hanya berdasar aspek fisikokimianya saja, bahkan mampu memperkirakan sifat dari senyawa itu yang dilihat dari farmakokinetik atau farmakodinamik. Kelebihan yang lain adalah metode penyajian hasil perkiraan oleh beberapa senyawa lebih mudah maka akan berdampak pada tahap analisisnya (Daina *et al.*, 2017)

Dalam penelitian ini *PASS prediction* digunakan untuk memprediksi aktivitas senyawa dalam menghambat pembentukan sel busa. PASS akan mempresentasikan hasil yang menunjukkan aktivitas biologi pada suatu senyawa berkemungkinan aktif (PA: Probable Activity) dan tidak aktif (PI: Probable

Inactivity). Jumlah PA dan PI \neq 1 dengan nilai pa dan pi beragam mulai dari 0,000 hingga 1,000. Interpretasi dari PASS adalah sebagai berikut: (1) Senyawa dengan PA > PI memiliki kemungkinan sebagai senyawa yang baik, (2) Senyawa dikatakan eksperimental tinggi apabila nilai PA > 0,7, (3) Senyawa dikatakan eksperimental sedang apabila nilai PA diantara 0,5-0,7, dan (4) Senyawa dikatakan eksperimental rendah apabila PA < 0,5 (Pramely & Raj, 2012).

2.9 Kerangka Teori Penelitian

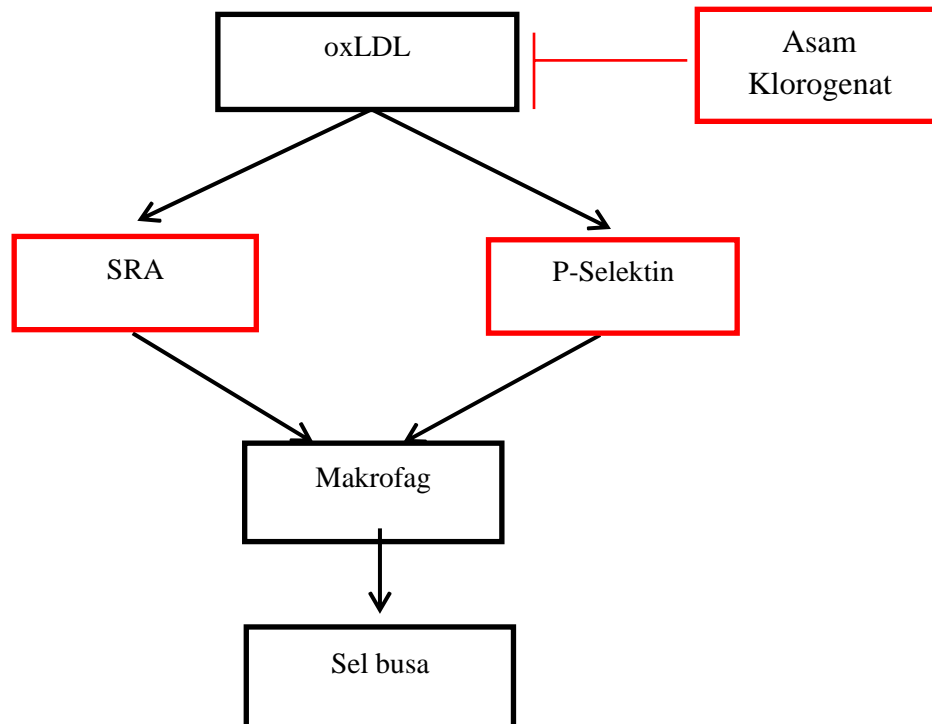


Gambar 2.10 Kerangka Teori Penelitian

BAB III





KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian

Keterangan:

	: Variabel yang tidak diteliti
	: Variabel yang diteliti
	: Menstimulasi
	: Menginhibisi

3.2 Hipotesis Penelitian

- 3.2.1 Mengetahui potensi CGA sebagai ligand kompetitif oxLDL bagi P-selektin dan SRA
- 3.2.2 Mengetahui profil skor bioaktif dari CGA menggunakan metode *in silico*
- 3.2.3 Mengetahui profil mekanisme kerja CGA menggunakan metode *in silico*
- 3.2.4 Mengetahui nilai afinitas ikatan antara CGA dengan P-selektin dan SRA dengan menggunakan metode *in silico*

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Desain penelitian ini adalah deskriptif eksploratif, dimana penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bagaimana potensi senyawa aktif kopi yaitu CGA sebagai agen kandidat aterosklerosis secara *in silico*.

4.2 Variabel Penelitian

4.2.1 Variabel bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah merupakan senyawa aktif CGA dari ekstrak biji kopi.

4.2.2 Variabel terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah kekuatan ikatan (*binding affinity*) dari interaksi senyawa aktif CGA sebagai ligan serta SRA dan P-selektin sebagai reseptor, dan ikatan yang terjadi antara ligan dan reseptor.

4.2.3 Variabel kontrol

Variabel kontrol pada penelitian ini adalah SRA dan P-selektin.

4.3 Tempat dan Waktu Penelitian

4.3.1 Waktu penelitian

Waktu penelitian dilakukan pada bulan Juni 2021 – Juli 2021 mencakup kegiatan analisis data dan penulisan laporan.

4.3.2 Tempat penelitian

Penelitian dilakukan di rumah pribadi kabupaten Sidoarjo.

4.4 Alat dan Bahan

4.4.1 Alat

- Laptop dengan processor Intel Core i7-4510U 2.0GHz, 8GB DDR3L Memory RAM, 1000 GB HDD
- Windows 10
- PASS online
- swissADME
- Open Babel
- Autodock
- PyRx95
- Protein database
- PubChem
- *Discovery studio*

4.4.2 Bahan

4.4.2.1 Bahan ligan CGA

Ligan yang digunakan pada penelitian ini adalah struktur dari senyawa kopi CGA. Struktur tiga dimensi ligan CGA dapat diunduh dari situs PubChem.

4.4.2.2 Struktur tiga dimensi *Scavenger Receptors* SRA dan P-Selektin

Reseptor yang digunakan pada penelitian ini adalah struktur dari *Scavenger Receptors* SRA, dan P-Selektin. Struktur tiga dimensi SRA, dan P-Selektin dapat diunduh dari situs RSCB atau PDB.

4.5 Definisi Operasional

Definisi operasional pada penelitian ini adalah:

a. Senyawa CGA

Asam klorogenat (CGA) adalah kombinasi asam kuintat dan beberapa asam trans-sinamat (biasanya asam caffeic, asam eicosatetraenoic dan asam ferulic).

b. Reseptor merupakan suatu kelompok sel yang mampu mengenali rangsangan tertentu di dalam dan di luar tubuh manusia, sehingga dapat berikatan dengan ligan. Reseptor pada penelitian ini adalah *Scavenger Receptors* tipe A, dan P-Selektin.

c. Afinitas ikatan (*binding affinity*) adalah energi ikatan yang terbentuk dari *molecular docking* dan digunakan dalam bentuk skor. Nilai/skor *binding affinity* mengindikasikan kekuatan ikatan antara ligan dan reseptor pada *binding site*.

4.6 Prosedur Penelitian

4.6.1 Preparasi Ligan

Senyawa CGA yang berperan sebagai ligan dapat di unduh dalam bentuk 3D melalui PubChem (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) dan kemudian disimpan dalam format SDF (*.sdf).

4.6.2 Preparasi protein reseptor

Protein Data Bank P-Selektin dan SRA memiliki struktur 3D yang dapat diunduh dari situs <http://www.rcsb.org>. Selanjutnya dihilangkan molekul yang tidak

dibutuhkan seperti air dan ligan, dengan aplikasi *Discovery studio* dan disimpan dalam format file (*.pdbqt).

4.6.3 Penambatan *Molecular Docking*

Molecular Docking dilakukan dengan beberapa tahap dengan beberapa *software*. Tahap pertama memasukkan reseptor ke dalam *software Discovery studio* dan kemudian formatnya diubah menjadi (*.pdbqt). Tahap kedua memasukkan ligan untuk diminimalisasi dan diubah formatnya menjadi (*.sdf) dengan menggunakan *software open babel*. Tahap ketiga memulai proses *docking* dengan *software Autodock Vina* dengan cara mengatur grid pada sisi aktif reseptor dan selanjutnya di running. Pada tahap terakhir, hasil dari *docking* disimpan dalam format PDB serta data nilai *binding affinity* disimpan dalam format Microsoft Excel.

4.6.4 Visualisasi hasil *docking*

Hasil *docking* divisualisasikan dalam bentuk 3D. *Software Discovery studio* dapat menggambarkan interaksi dalam bentuk 3D dan kemudian dianalisis ikatan yang terbentuk antara senyawa ligan dengan receptor.

4.6.5 Uji *Human Intestinal Absorption (HIA)*

Prediksi absorpsi senyawa squalene dengan uji *Human Intestinal Absorption (HIA)* menggunakan *software SwissADME* pada situs <http://www.swissadme.ch/>. Mengupload struktur ligan dengan format file (*.mol) pada *software SwissADME*.

4.6.6 Uji Lipinski *Rule of five (Ro5)*

Uji Lipinski *Rule of five (Ro5)* berfungsi untuk memprediksi suatu senyawa yang diteliti untuk menjadi obat dapat bekerja aktif secara oral dan masuk ke dalam

sel. Uji ini dilakukan menggunakan *software* SwissADME. Format file PDB yang telah disimpan di input pada situs <http://www.swissAdme.res.in/software/drugdesign/lipinski.jsp>.

4.6.7 Uji Prediction of Activity Spectra for Substances (PASS)

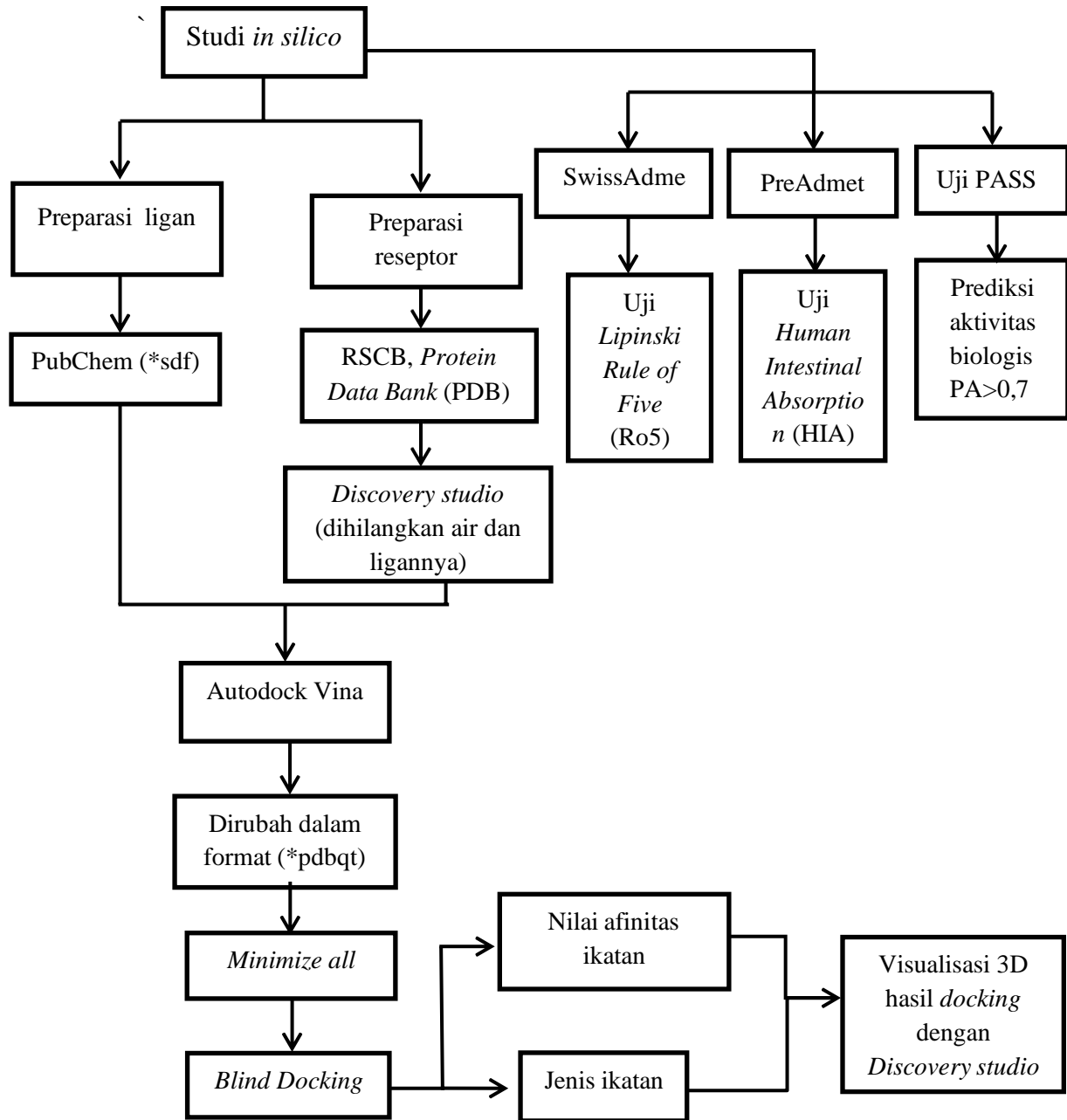
Umumnya langkah awal sebelum dilakukannya proses docking molekular dilakukan prediksi terlebih dahulu menggunakan *software* online PASS. PASS merupakan *software* yang digunakan untuk memprediksi berbagai aktivitas biologi yang terdapat pada suatu senyawa (Jamkhande dkk., 2014). PASS digunakan sebagai *software* yang potensial untuk memprediksi spectrum aktivitas biologi dari suatu senyawa sintetis dalam pencarian obat baru. Analisis *software* PASS berdasarkan pada SAR (Structure Activity Relationship) atau dapat dikatakan sebagai hubungan antara struktur aktivitas dari sekumpulan percobaan yang berjumlah lebih dari 205.000 yang menunjukkan lebih dari 3.750 macam aktivitas biologi (Pramely dan Leon, 2012).

Hasil yang didapat dari proses prediksi *software* PASS yaitu menunjukkan aktifitas biologi dengan kemungkinan aktif (P_a = probable activity) dan kemungkinan tidak aktif (P_i = probable inactivity). Nilai P_a dan P_i yang didapat bermacam-macam, nilai P_a dan P_i berawal dari 0,000 hingga 1,000 sehingga secara umum nilai $P_a + P_i \neq 1$. Penjelasan dari hasil prediksi PASS yaitu sebagai berikut, (i) Senyawa dengan nilai $P_a > P_i$ memiliki kemungkinan sebagai senyawa yang baik, (ii) jika nilai $P_a > 0,7$ memiliki kemungkinan untuk menemukan aktivitas eksperimental yang tinggi, (iii) jika nilai $0,5 < P_a < 0,7$ maka kemungkinan aktivitas secara eksperimental rendah, tetapi senyawa tersebut mungkin tidak sama dengan obat farmasi yang sudah ada, dan (iv)

jika $P_a < 0,5$ maka menunjukkan aktivitas secara eksperimental rendah (Pramely dan Leon, 2012).

Uji PASS dilakukan menggunakan *software* PASS online pada situs <http://www.pharmaexpert.ru/passonline> dengan cara mencari SMILES senyawa CGA pada situs <http://www.pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>. kemudian memasukkan SMILES senyawa CGA pada *software* PASS selanjutnya melakukan prediksi aktivitas senyawa CGA.

4.7 Alur Penelitian



Gambar 4.1 Alur Penelitian

4.7 Analisis Hasil

Data yang telah diperoleh disajikan secara deskriptif menggunakan tabel. Analisis data hasil uji *Human Intestinal Absorption* (HIA) dilakukan melalui pengelompokan persentase nilai dengan jenis rendah (0-20%), sedang (20-70%), dan tinggi (70%-100%). Analisis data hasil dari *docking* dilakukan dengan cara menganalisis ikatan-ikatan yang terbentuk antara ligan dan reseptor. Analisis data uji PASS dilakukan dengan mengelompokkan nilai *Probable Activity* (pa) senyawa squalene sebagai hasil aktivitas senyawa anti kolesterol. Analisis data hasil uji Lipinski *Rule of five* dilakukan dengan cara mengelompokkan senyawa ligan yang memenuhi 4 kriteria dari *Rule of five* yaitu (HBA) hydrogen bond acceptor <10, (HBD) *hydrogen bond donor* <5, berat molekul <500, dan koefisien partisi H₂O (logP) <5.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Hasil Penelitian

5.1.1 Profil fisikokimia dan kelarutan dari senyawa CGA

Penelitian secara *in silico* ini diawali dengan melakukan prediksi absorpsi senyawa turunan yang terdapat pada kopi (*coffea sp*) dengan prediksi HIA (*Human Intestinal Absorption*). Prediksi ini dilakukan karena penelitian pada *in vivo* menggunakan senyawa yang diinduksikan secara oral sehingga obat tersebut harus terabsorpsi dengan baik pada dinding usus. Apabila tingkat absorpsi senyawa tersebut rendah, maka senyawa tersebut tidak dapat mencapai reseptor target. Karakteristik fisikokimia dari CGA merupakan bagian penting dalam memprediksi kemungkinan suatu bahan untuk menjadi kandidat obat di kemudian hari. Identifikasi profil fisika dan kimia dari CGA dilakukan menggunakan *open database* <http://www.swissadme.ch/>. dan HIA (*Human Intestinal Absorption*) dengan masuk pada laman <http://preadme.bmdrc.org/>.

Tabel 5. 1 Profil Fisikokimia dari CGA

Keterangan	Nilai
Formula	C16H18O9
Berat molekul	354.31 g/mol
berat atom	25
Jumlah atom berat aromatis .	6
Pecahan Csp3	0.38
Nilai ikatan rotasi	5
Nilai akseptor ikatan H	9
Nilai donor ikatan H	6
Refraksi molar	83.50
TPSA (Topological Polar Surface Area)	164.75 Å ²
Kelarutan dalam lemak (Consensus Log Po/w)	-0.38
Kelarutan dalam air (Log S (SILICOS-IT))	0.40
HIA	20.427827
Ro5	312.000000

Absorpsi pada usus manusia merupakan salah satu sifat obat yang paling penting. Absorpsi pada usus juga merupakan salah satu langkah kunci selama pengangkutan obat ke sel target. Karena jalur penyerapan obat yang beragam, diperlukan deskriptor kuat pada metabolisme awal untuk memprediksi bioavailabilitas obat oral manusia. HIA (*Human Intestinal Absorption*) dianggap

sebagai salah satu komponen penting yang mempengaruhi bioavailabilitas, sehingga banyak upaya telah dilakukan untuk prediksi yang akurat dari HIA. Dari tabel diatas dapat disimpulkan bahwa senyawa CGA memiliki prediksi untuk dapat menembus dinding saluran pencernaan dengan skor 20,42%.

Sifat fisikokimia molekul obat merupakan salah satu indikator kualitas utama dalam penemuan obat. Sifat fisikokimia dapat didefinisikan sebagai atribut fisik dari molekul yang terkait dengan interaksi dengan media dan lingkungan yang berbeda. Tabel 1 menyajikan karakteristik fisikokimia dari CGA. CGA memiliki potensi kuat sebagai kandidat obat ditinjau dari berat molekul yang kecil (354.31 g/mol), sehingga kemungkinan untuk menembus organ target dalam jumlah yang besar. Parameter penting lainnya yang diperhatikan adalah terkait dengan kelarutannya. Senyawa CGA dapat larut dalam air dan lemak. Kelarutan dalam air memudahkan pergerakan molekul ini dalam sistem sirkulasi, sedangkan kelarutan dalam lemak membantu untuk menembus lapis lipid bilayer.

5.1.2 Prediksi Farmakokinetik

Lippinski Rule of five (Ro5) adalah suatu rumus untuk mengevaluasi kesamaan obat atau memprediksi suatu senyawa kimia tertentu dengan pemberian oral. Aturan tersebut menjelaskan sifat molekuler yang penting untuk farmakokinetik obat dalam tubuh manusia, termasuk penyerapan, distribusi, metabolisme, dan ekskresi (ADME). Tabel 5.2 adalah hasil analisis *Rule of 5* dari senyawa CGA menggunakan *open database Swiss Adme* Lippinski Rule of five (Ro5) <http://www.swissAdme.res.in/software/drugdesign/lipinski.jsp>. (Filiminov *et al.*, 2014).

Tabel 5. 2 Profil senyawa CGA menggunakan uji Ro5

Daftar	Nilai	Kriteria
Berat molekul	312.000	<500
Nilai akseptor ikatan H	6	<10
Nilai donor ikatan H	5	<5
Refraksi molar	77.145782	40-130
LogP	-0.053101	<5

Berdasarkan tabel diatas CGA memiliki profil farmakokinetik yang memenuhi semua kriteria dari hukum *Lipinski Rules of Five* (Ro5).

5.1.3 Prediksi mekanisme kerja CGA

Spektrum aktivitas biologis adalah sifat intrinsik suatu senyawa yang mewakili efek farmakologis yang berbeda termasuk mekanisme aksi fisiologis, biokimiawi dan toksisitas spesifik (mutagenisitas, karsinogenisitas, teratogenisitas, dan embriotoksisitas). Aktivitas ini sebagian besar tergantung pada sifat struktural suatu senyawa. Zat aktif biologis memiliki tindakan terapeutik dan tambahan, yang terakhir bermanifestasi sebagai efek samping. Maka dari itu, aktivitas biologis utama dari suatu senyawa menjadi penting sebelum dilakukannya studi eksperimental (Parasuraman, 2011). Uji *Prediction of Activity Spectra for Substances* (PASS) dilakukan menggunakan *software* uji *Prediction of Activity Spectra for Substances* (PASS) Online dengan menginput SMILES dari senyawa CGA, skor PA (Probable Activity) ditetapkan menggunakan *cutoff* 0.7.

Tabel 5. 3. Skor PA senyawa CGA dengan uji PASS online

Skor PA	Keterangan
0,940	Membrane integrity agonist
0,920	Choleretic
0,865	Membrane permeability inhibitor
0,856	Free radical scavenger
0,855	Lipid peroxidase inhibitor
0,846	Oxidoreductase inhibitor
0,846	Anticarcinogenic
0,833	Chemopreventive
0,826	HIF1A expression inhibitor
0,815	Phosphatase inhibitor
0,808	Antieczematic
0,785	Antioxidant
0,769	Proliferative diseases treatment
0,778	Antineoplastic
0,771	Feruloyl esterase inhibitor
0,750	Quinate 5-dehydrogenase inhibitor
0,726	Antihypoxic
0,752	Mucomembranous protector
0,701	4-Coumarate-CoA ligase inhibitor
0,716	G-protein-coupled receptor kinase inhibitor
0,716	Beta-adrenergic receptor kinase inhibitor
0,707	UDP-glucuronosyltransferase substrate
0,705	CDP-glycerol glycerophosphotransferase inhibitor

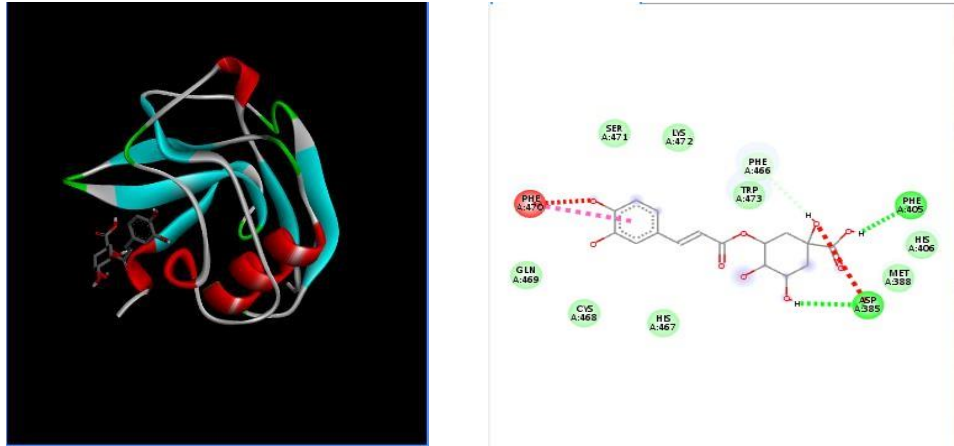
5.1.4 Potensi CGA untuk bekerja pada Aterosklerosis

Uji *docking* CGA dengan P-Selektin dan SRA menjadi kandidat kompetitif inhibitor untuk oxLDL bekerja dalam pembentukan sel busa. Uji *docking* yang digunakan adalah metode *blind docking* dengan menggunakan beberapa *software* diantaranya adalah autodock vina, pyrx dan discovery studio. Makromolekul dalam hal ini adalah reseptor yang telah dioptimasi menggunakan discovery studio di-*docking*-kan dengan CGA menggunakan *software Autodock Tools*. Pengaturan *grid box* meliputi center_x, center_y, center_z untuk mengatur letak parameter *box* pada makromolekul protein, kemudian size_x, size_y, size_z untuk menentukan besar kecilnya *grid box* untuk ruang berikatan ligan tersebut. Grid box untuk P-Selektin didapatkan center x, y, z adalah 48.7281415813, 100.771534545, 51.9954277554 dengan dimensi x, y, z secara berurutan adalah 42.7265593088, 56.4484527593, 59.4499381804. Grid box untuk SRA didapatkan center x, y, z adalah 8.31305783826, 2.97934820897, -7.74931702875 dengan dimensi x, y, z secara berurutan adalah 39.2633211041, 31.1816337622, 32.4583512378. Hasil uji *docking* CGA dengan SRA dan P-Selektin disajikan dalam nilai afinitas ikatan seperti tampak pada tabel 5.4.

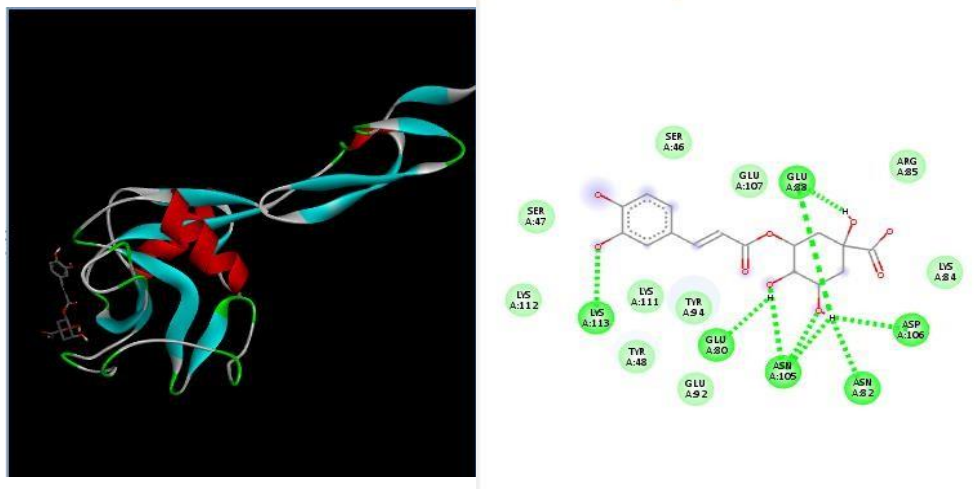
Tabel 5. 4 Hasil *docking* senyawa uji CGA dengan SRA dan P-Selektin

Protein target	Konformasi	Binding Affinity (kcal/mol)	RMSD lower bound	RMSD upper bound
SRA	1	-6.2	0	0
	2	-6.0	1.62	29.036
	3	-5.9	1.883	22.318
	4	-5.8	2.154	21.898
	5	-5.8	17.856	20.729
	6	-5.8	18.375	19.868
	7	-5.7	18.512	8.741
	8	-5.7	19.065	8.26
	9	-5.7	28.206	2.161
P-Selektin	1	-7.0	0	0
	2	-6.9	24.427	26.814
	3	-6.8	2.976	3.844
	4	-6.7	4.052	8.369
	5	-6.3	3.349	5.285
	6	-6.3	3.129	6.453
	7	-6.3	2.345	5.123
	8	-6.2	2.838	4.567
	9	-6.2	2.530	3,234

Gambar diatas adalah nilai afinitas ikatan dari 9 model CGA yang terbentuk dari uji *Molecular Docking*. Rerata nilai afinitas ikatan dari CGA pada protein target SRA dan P-Selektin secara berurutan adalah -5,8 dan -6,3.



Gambar 5. 1 Hasil visualisasi 3D & 2D ikatan antara senyawa CGA dengan SRA



Gambar 5. 2 Hasil visualisasi 3D & 2D ikatan antara senyawa CGA dengan P-Selektin

Afinitas ikatan ligan dengan reseptor ditentukan oleh jenis ikatannya. Ikatan hidrogen adalah bentuk ikatan ikatan yang paling kuat. Gambar 1 dan 2 adalah visualisasi dari lokasi ikatan CGA dengan SRA dan P-Selektin, serta residu ikatan dari struktur CGA dan residu asam amino reseptor SRA & P-Selektin dengan tipe baik hidrogen, kovalen, maupun *van der walls*, namun pada hasil visualisasi 3D dan 2D pada ikatan CGA dengan SRA terdapat *unfavorable bump*.

5.2 Pembahasan

5.2.1 Prediksi CGA sebagai kandidat obat menghambat pembentukan sel busa aterosklerosis

Tahap awal penelitian ini dimulai dari prediksi CGA pada kopi (*Coffea Sp*) yang dikenal dengan uji *Human Intestinal Absorption* (HIA). Uji ini penting untuk dilakukan karena bertujuan untuk mengetahui apakah ketika senyawa ini dijadikan obat dan diberikan secara oral maka obat tersebut dapat terabsorpsi secara baik dalam dinding usus sehingga dapat masuk ke pembuluh darah. Jika kemampuan terabsorpsinya rendah maka obat ini tidak dapat mencapai target reseptornya sehingga tidak dapat memicu reaksi. Senyawa dikatakan dapat terabsorpsi dengan baik ketika memiliki nilai lebih dari 70%, sedang ketika nilai diantara 20-70% (Nerkar, 2012). Uji *Human Intestinal Absorption* (HIA) pada senyawa CGA didapatkan persentase 20,42 %. Berdasarkan hasil persentase yang didapatkan menunjukkan senyawa CGA merupakan senyawa yang dapat terabsorpsi sedang.

Nilai logP digunakan untuk menunjukkan lipofilisitas suatu senyawa. Semakin tinggi lipofilik suatu senyawa maka semakin baik pula kemampuan untuk melewati lapisan lipid bilayer membrane seluler. Sama seperti berat molekul, *hydrogen bond donor* (HBD), dan *hydrogen bond acceptor* (HBA) nilai dari logP juga dapat mempengaruhi senyawa dalam mencapai target reseptornya. Nilai logP yang besar dapat mempengaruhi suatu senyawa dalam melewati membrane sel karena nilai logP memiliki keterkaitan dengan hidrofobisitas suatu molekul obat. Semakin tinggi nilai logP yang dihasilkan maka molekul juga semakin hidrofobik. Senyawa ligan yang dibuat menjadi obat tidak disarankan untuk terlalu hidrofobik karena dapat

terhambat pada lapisan lipid bilayer dan senyawa tersebut dapat terdistribusi secara luas dalam tubuh sehingga ikatan senyawa ligan terhadap reseptor target menjadi kurang selektif. Berdasarkan data yang diperoleh senyawa CGA mendapatkan nilai -0,05 yang berarti sesuai kriteria karena dibawah 5. Menurut Jadhav et al., (2015) suatu obat dinyatakan mampu menembus membran sel jika memenuhi minimal 2 aturan dari Lippinski *Rule of five* (Ro5) sehingga kesimpulannya pada uji *Lippinski Rule of Five* (Ro5) senyawa CGA memenuhi keempat kriteria dan dapat dikatakan mampu menembus membran sel (Jadhav et al., 2015).

Berdasarkan uji potensi senyawa melewati membran sel dengan Lipinski *Rule of five* (Ro5) menunjukkan bahwa senyawa CGA memiliki berat molekul 312, *hydrogen bond donor* 5, *hydrogen bond acceptors* 6, dan logP -0.05. Dalam uji *Lippinski Rule of five* (Ro5) terdapat 4 kriteria yang perlu diperhatikan yaitu jumlah *hydrogen bond acceptor* (HBA) <10, *hydrogen bond donor* (HBD) <5, berat molekul <500, dan koefisien logP <5. Berat molekul menggambarkan ukuran dari suatu molekul. Molekul yang berukuran besar akan mempengaruhi suatu senyawa dalam menembus membrane sel karena berat molekul yang terlalu besar dapat mengganggu proses difusi sehingga sulit untuk diserap oleh tubuh. Berat molekul dari senyawa CGA didapatkan 312 yang menunjukkan sesuai dengan kriteria yaitu berat molekul dibawah 500. *Hydrogen bond donor* (HBD) dan *Hydrogen bond acceptor* (HBA) memiliki korelasi dengan ikatan antarmolekul. Didapatkan nilai *hydrogen bond donor* (HBD) senyawa CGA adalah 5 sedangkan *hydrogen bond acceptor* (HBA) senyawa CGA yaitu 6 yang menunjukkan sesuai dengan kriteria yaitu nilai *hydrogen bond donor* (HBD) kurang dari 5 sedangkan nilai *hydrogen bond acceptor* (HBA) kurang

dari 10. Nilai dari *hydrogen bond donor* (HBD) serta nilai *hydrogen bond acceptor* dapat mempengaruhi senyawa dalam mencapai sel targetnya dikarenakan jika nilai *hydrogen bond donor* (HBD) dan *hydrogen bond acceptor* (HBA) semakin besar maka semakin banyak juga ikatan hydrogen yang terbentuk dan memperlambat senyawa mencapai targetnya sehingga dalam lippinski *Rule of five* (Ro5) nilai *Hydrogen bond donor* (HBD) dan *Hydrogen bond acceptor*.

5.2.2 Uji Prediction of Activity Spectra for Substances (PASS)

Uji yang selanjutnya adalah uji *Prediction of Activity Spectra for Substances* (PASS) yang bertujuan untuk memprediksi aktivitas senyawa CGA dalam menghambat pembentukan aterosklerosis. Uji ini menggunakan *software Prediction of Activity Spectra for Substances* (PASS) online. Menurut Filiminov dkk, (2014) Analisis *Prediction of Activity Spectra for Substances* (PASS) berdasarkan *Structure Activity Relationship* (SAR) atau hubungan antara struktur dari senyawa tersebut dengan aktivitas biologinya. CGA dapat dilanjutkan dalam skala laboratorium karena memiliki nilai *Probable Activity* (pa) diatas 0,7 (Filiminov *et al.*, 2014).

5.2.3 Hasil Nilai Binding affinity Ligan-Reseptor

Hasil Nilai *Binding affinity* antara ligan dengan reseptor dapat dinilai menggunakan *Molecular Docking*. Uji *Molecular Docking* bertujuan untuk mempredikasi energi ikatan yang terbentuk diantara dua atau lebih molekul. Berdasarkan hasil uji *Molecular Docking* pada senyawa CGA didapatkan nilai *binding affinity* yang bermacam-macam pada setiap modelnya. Pada uji ini

didapatkan 9 model CGA dengan nilai *binding affinity* yang berbeda-beda. Nilai *binding affinity* P-Selektin tertinggi yaitu -7 kcal/mol dengan nilai *binding affinity* terendah -6 kcal/mol. Sedangkan SRA memiliki nilai *binding affinity* tertinggi -6,2 dan -5,7 untuk nilai terendah. Menurut Syahputra dkk (2014) ikatan yang terbentuk antara ligan dan reseptor akan semakin stabil sehingga dapat membentuk ikatan yang semakin kuat ditandai dengan nilai *binding affinity* yang semakin negatif, sehingga semakin kecil nilai ikatan energinya, maka semakin besar daya hambat yang dihasilkan Berdasarkan penjelasan diatas menunjukkan bahwa ikatan antara CGA dengan P-Selektin dan SRA memiliki nilai *binding affinity* terendah yaitu pada model 0 dan dapat disimpulkan sebagai model CGA paling tepat dalam berikatan dengan reseptor P-Selektin dan SRA.

5.3 Integrasi Islam

Beragam jenis tanaman yang ada dimuka bumi ini adalah sebuah anugerah yang telah diberikan oleh Allah SWT kepada seluruh makhluk-Nya dan diharapkan dapat digunakan serta dimanfaatkan dengan sebaik-baiknya kandungan / khasiat yang dimiliki oleh tanaman.

Salah satu surah yang telah memperjelas terkait beragam jenis tanaman yang dapat diolah dan dipergunakan manusia untuk diambil manfaatnya. yaitu pada surah Taha ayat 53:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ السَّمْعَ وَالْأَبْصَارَ وَجَعَلَ لَكُمُ الرِّجَالَ لِتَمْشِيَ بِهِ وَاللَّهُ بِمَا تَعْمَلُونَ خَبِيرٌ
 ذِي ۙ جَعَلَ لَكُمُ السَّمْعَ وَالْأَبْصَارَ وَجَعَلَ لَكُمُ الرِّجَالَ لِتَمْشِيَ بِهِ وَاللَّهُ بِمَا تَعْمَلُونَ خَبِيرٌ
 م ۙ ذِي ۙ جَعَلَ لَكُمُ السَّمْعَ وَالْأَبْصَارَ وَجَعَلَ لَكُمُ الرِّجَالَ لِتَمْشِيَ بِهِ وَاللَّهُ بِمَا تَعْمَلُونَ خَبِيرٌ

Artinya :

“Yang telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan dan Yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam.” (QS. Taha: 53)

Pada surah taha ini menjelaskan bahwa berbagai tanaman yang tumbuh dapat dimanfaatkan karena memiliki banyak perbedaan diantaranya warna, rasa, dan aromanya. Surah ini juga menjelaskan tentang beragam jenis tanaman yang bisa bermanfaat bagi manusia.

Manfaat kopi (*coffea sp*) yang digunakan sebagai bahan penelitian dengan tujuan untuk menguji potensi senyawa CGA sebagai kandidat obat aterosklerosis. Hal tersebut merupakan sebuah ikhtiar dalam mengobati atau menyembuhkan sebuah penyakit karena suatu penyakit pasti ada obatnya ketika ada usaha dan kemauan untuk mencari obat dari penyakit tersebut. Sesuai dengan hadits nabi Muhammad SAW yang diriwayatkan oleh Imam Muslim :

كُلُّ دَاءٍ إِذَا أُعِدَّ دَوَاءٌ إِذَا أُعِدَّ دَو�

Artinya :

“Semua penyakit ada obatnya. Jika sesuai antara penyakit dan obatnya, maka akan sembuh dengan izin Allah” (HR Muslim)

Menurut hadits tersebut telah dijelaskan bahwa setiap penyakit di muka bumi ini pasti ada obatnya juga asalkan ada usaha serta kemauan untuk mencari pengobatan untuk penyakit tersebut. Hadits tersebut memang menjelaskan suatu penyakit pasti ada obatnya akan tetapi bersifat umum sehingga yang dimaksudkan hadits tersebut bisa mencakup seluruh penyakit dan seluruh obat yang dapat menyembuhkan seluruh penyakit juga. Namun, pastinya suatu kesembuhan akan terjadi atas izin Allah SWT maka jangan lupa untuk senantiasa berdoa serta kembali kepada Allah SWT yang memiliki kekuasaan untuk memberikan kesembuhan tersebut.

BAB VI

PENUTUP

6.1 Penutup

- 6.1.1 Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa senyawa CGA pada kopi (*coffea sp*) dapat berikatan dengan P-Selektin dan SRA sebagai ligan dan reseptor dalam menghambat aterosklerosis secara *In Silico*.
- 6.1.2 Potensi CGA dapat menjadi ligand kompetitif oxLDL bagi P-selektin dan SRA dengan mengetahui hasil skor bioaktif, profil mekanisme kerja dan nilai afinitas ikatan.
- 6.1.3 Afinitas ikatan rerata senyawa CGA terhadap SRA dan P-Selektin yang didapatkan dari uji *docking* adalah -5,8 dan -6,3.

6.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, saran yang dapat diberikan adalah sebagai berikut:

- 6.2.2 Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut secara *in vivo* dan *in vitro* untuk mengetahui potensi senyawa CGA sebagai kandidat aterosklerosis dalam skala laboratorium untuk dijadikan kandidat agen inhibisi aterosklerosis.
- 6.2.3 Perlu dilakukan perkembangan lebih lanjut terkait *molekular docking* sebagai awal penemuan senyawa obat baru

LAMPIRAN

Lampiran 1. Preparasi Ligan

1. Ligan yang akan digunakan diunduh dari website

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>

The screenshot shows the PubChem website interface for Chlorogenic acid (CID 1794427). The page features the National Library of Medicine logo, the PubChem logo, and navigation links (About, Blog, Submit, Contact). A search bar is located in the top right. The main content area displays the compound name 'Chlorogenic acid' and its PubChem CID '1794427'. Below this, there are two chemical structure representations: a 2D ball-and-stick model and a 3D ball-and-stick model. A 'Find Similar Structures' link is provided. A chemical safety warning icon (a red diamond with a white exclamation mark) is shown, with the text 'Irritant' below it. On the right side, there are 'Cite' and 'Download' buttons, and a 'CONTENTS' table of contents with 10 items, including 'Title and Summary', '1 Structures', '2 Names and Identifiers', '3 Chemical and Physical Properties', '4 Spectral Information', '5 Related Records', '6 Chemical Vendors', '7 Drug and Medication Information', '8 Pharmacology and Biochemistry', '9 Safety and Hazards', and '10 Toxicity'.

2. Ligan diunduh dalam bentuk 3D dengan format SDF

The screenshot shows the 'DOWNLOAD' dialog box on the PubChem website. The dialog box is titled 'DOWNLOAD' and has a close button (X) in the top right corner. It contains three main sections: 'Data Used to Display This Page', '2D Structure', and '3D Conformer'. Each section has buttons for 'Save' and 'Display' for different file formats: JSON, XML, and ASNT. The '3D Conformer' section also has a 'Save' and 'Display' button for SDF format. At the bottom, there is a section titled 'Looking to Download a PDF of This Page?' with a note: 'Please use print functionality available in your browser and look for a save as PDF option. Note that some sections on this page might be loaded on demand (when you scroll to them), and thus, before saving the page to PDF, you would first want to scroll to the bottom of the page to make sure that everything is loaded. Alternatively, you may open a section of interest in a new window (using the new window icon available on the right side of the title of each section), and then save it to PDF.'

Lampiran 2. Preparasi Reseptor

1. Struktur 3D reseptor SRA dan P-Selektin dari Protein Data Base (PDB) melalui web <https://www.rcsb.org>

7BZZ
Crystal structure of the SRCR domain of mouse SCARA5
PDB DOI: 10.2210/pdb7BZZ/pdb
Classification: METAL BINDING PROTEIN
Organism(s): Mus musculus
Expression System: Trichoplusia ni
Mutation(s): No

Deposited: 2020-04-29 Released: 2020-09-16
Deposition Author(s): Yu, B., He, Y.
Funding Organization(s): National Natural Science Foundation of China (NSFC)

Experimental Data Snapshot
Method: X-RAY DIFFRACTION
Resolution: 2.50 Å
R-Value Free: 0.243
R-Value Work: 0.198
R-Value Observed: 0.202

wwPDB Validation

Metric	Percentile Ranks	Value
Rfree		0.242
Clashscore		7
Ramachandran outliers		0
Sidechain outliers		2.2%
RSRZ outliers		1.4%

1G1S
P-SELECTIN LECTIN/EGF DOMAINS COMPLEXED WITH PSGL-1 PEPTIDE
PDB DOI: 10.2210/pdb1G1S/pdb
Classification: IMMUNE SYSTEM, MEMBRANE PROTEIN
Organism(s): Homo sapiens
Expression System: Cricetulus griseus
Mutation(s): Yes

Deposited: 2000-10-13 Released: 2001-10-13
Deposition Author(s): Somers, W.S., Camphausen, R.T.

Experimental Data Snapshot
Method: X-RAY DIFFRACTION
Resolution: 1.90 Å
R-Value Free: 0.235
R-Value Work: 0.204
R-Value Observed: 0.204

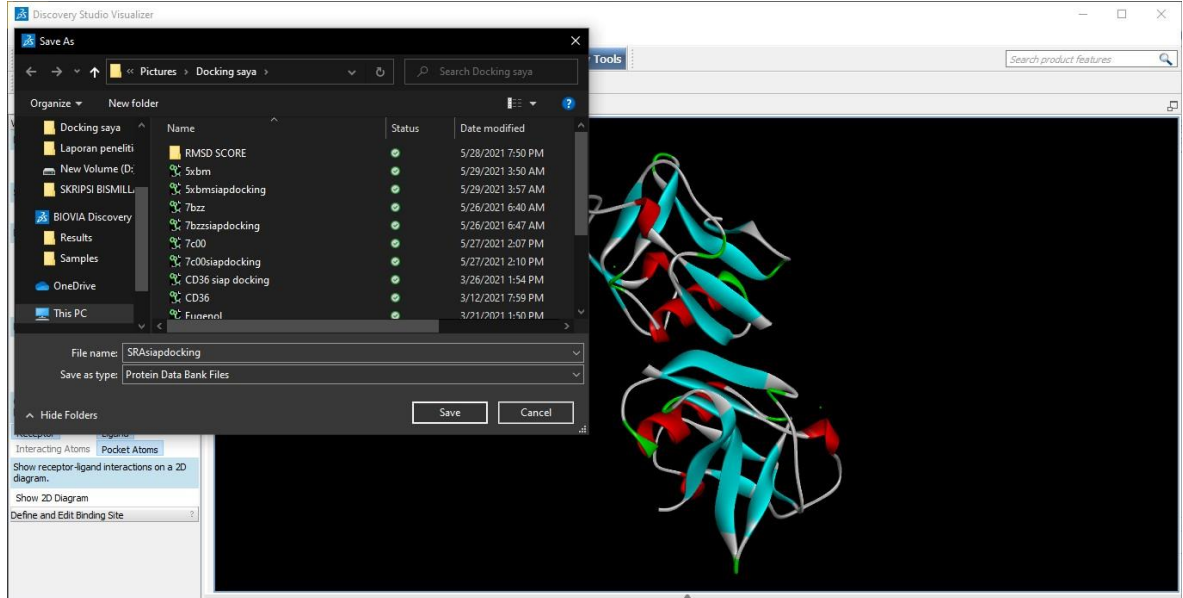
wwPDB Validation

Metric	Percentile Ranks	Value
Clashscore		9
Ramachandran outliers		1.5%
Sidechain outliers		0.3%

This is version 2.0 of the entry. See complete history.

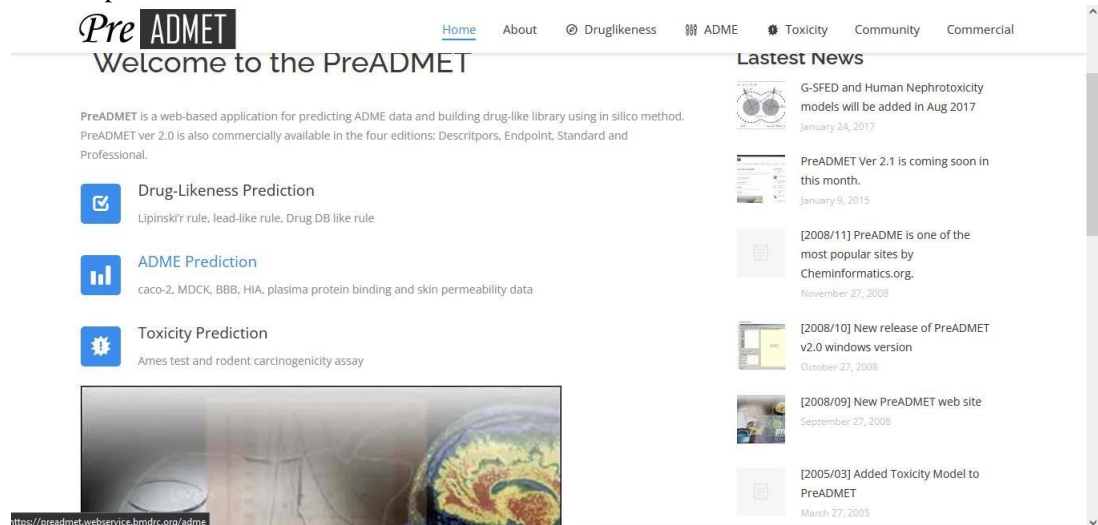
2. Pembersihan molekular air dan ungu ligand yang tidak dibutuhkan menggunakan software Biovia Discovery Studio

3. Menyimpan file dengan format PDB

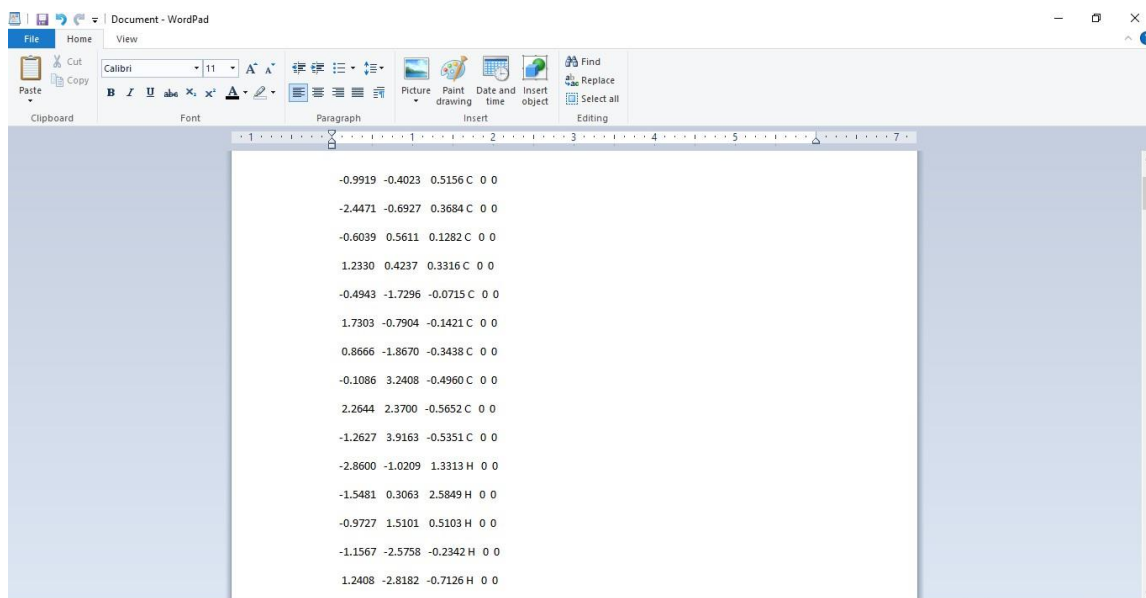


Lampiran 3. Uji *Human Intestinal Absorption* (HIA)

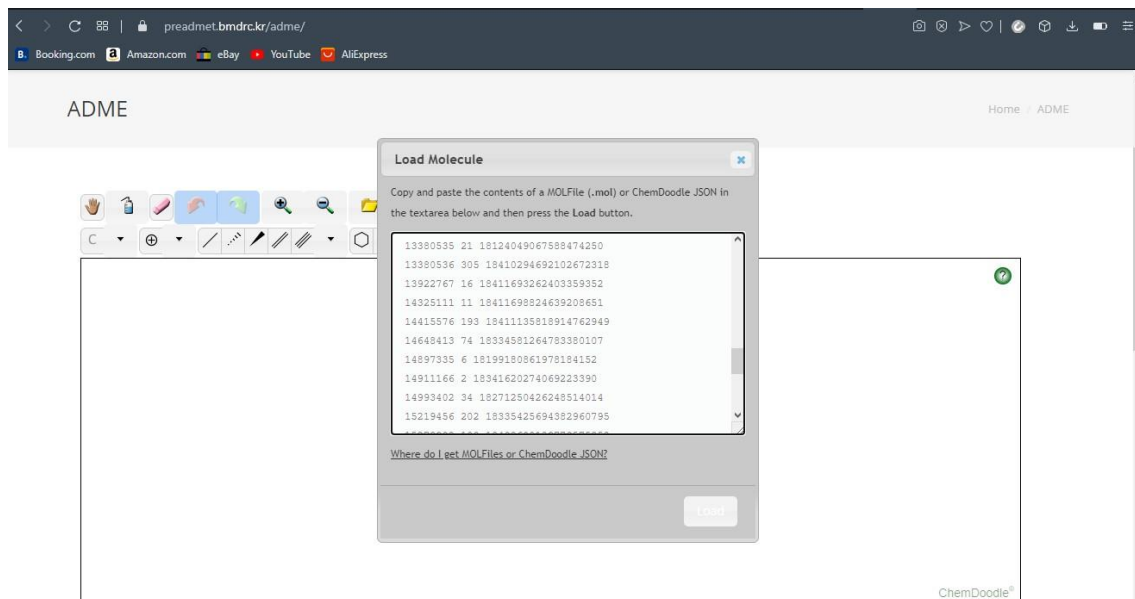
1. Masuk ke situs Pre ADMET online yaitu <https://preadmet.bmdrc.kr/> kemudian pilih ADME prediction



2. MOL file ligan dicopy pada WordPad



3. Masukkan MOL file yang telah dicopy pada notepad ke Load Molecule pada web Pre ADMET online



4. Hasil prediksi *Human Intestinal Absorption* (HIA)

The screenshot shows the Pre ADMET web application interface. At the top, there is a navigation bar with links for Home, About, Druglikeness, ADME, Toxicity, Community, and Commercial. Below the navigation bar, there is a table of ADMET parameters and their predicted values. The parameters are listed in the first column, and their values are in the second column. The HIA parameter is highlighted in red, indicating a predicted value of 20.427827, which is outside the acceptable range. Other parameters include CYP_2D6_inhibition (Non), CYP_2D6_substrate (Non), CYP_3A4_inhibition (Inhibitor), CYP_3A4_substrate (Weakly), MDCK (4.51345), Pgp_inhibition (Non), Plasma_Protein_Binding (41.961790), Pure_water_solubility_mg_L (7919.12), and Skin_Permiability (-3.89403).

Parameter	Value
CYP_2D6_inhibition	Non
CYP_2D6_substrate	Non
CYP_3A4_inhibition	Inhibitor
CYP_3A4_substrate	Weakly
HIA	20.427827
MDCK	4.51345
Pgp_inhibition	Non
Plasma_Protein_Binding	41.961790
Pure_water_solubility_mg_L	7919.12
Skin_Permiability	-3.89403

Below the table, there is a form with the following fields:

- ID: HIA
- Title: Human intestinal absorption (HIA, %)
- Description: Human intestinal absorption
- Value: 20.427827

Lampiran 4. Uji *Lipinski Rule of five* (Ro5)

1. Masuk ke situs uji *Lipinski Rule of five* online yaitu <http://www.scfbio-iitd.res.in/software/drugdesign/lipinski.jsp>

The screenshot shows the Lipinski Rule of Five online tool interface. The page title is "Lipinski Rule of Five". The text explains that the Lipinski rule of 5 helps in distinguishing between drug like and non drug like molecules. It predicts high probability of success or failure due to drug likeness for molecules complying with 2 or more of the following rules:

- Molecular mass less than 500 Dalton
- High lipophilicity (expressed as LogP less than 5)
- Less than 5 hydrogen bond donors
- Less than 10 hydrogen bond acceptors
- Molar refractivity should be between 40-130

These filters help in early preclinical development and could help avoid costly late-stage preclinical and clinical failures. To draw a chemical structure [Click here](#) and follow the instructions given.

Step 1: Input Drug File.

Input PDB file No file chosen

Step 2: Input pH Value

pH Value [Value ranges from 0.0 to 14.0]

Step 3: Click on 'Submit' to submit your job

Result

2. Masukkan senyawa ligan bentuk 3D dengan format pdb kemudian submit

Supercomputing Facility for Bioinformatics & Computational Biology, IIT Delhi

SCFBio

Lipinski Rule of Five

Lipinski rule of 5 helps in distinguishing between drug like and non drug like molecules. It predicts high probability of success or failure due to drug likeness for molecules complying with 2 or more of the following rules

- Molecular mass less than 500 Dalton
- High lipophilicity (expressed as LogP less than 5)
- Less than 5 hydrogen bond donors
- Less than 10 hydrogen bond acceptors
- Molar refractivity should be between 40-130

These filters help in early preclinical development and could help avoid costly late-stage preclinical and clinical failures .To draw a chemical structure [Click Here](#) and follow the instructions given.

Step 1: Input Drug File.

Input PDB file

Step 2 : Input pH Value

pH Value [Value ranges from 0.0 to 14.0]

Step 3: Click on 'Submit' to submit your job

How to Use the Tool

OPTION 1:-
• The input file should be in the following formats[*.pdb, *.mol, *.mol2, *.xyz, *.sdf, *.smi]

3. Hasil uji *Lippinski Rule of five* (Ro5)

Input PDB file

Step 2 : Input pH Value

pH Value [Value ranges from 0.0 to 14.0]

Step 3: Click on 'Submit' to submit your job

Result

```
mass: 312.000000
hydrogen bond donor: 5
hydrogen bond acceptors: 6
LOGP: -0.053101
Molar Refractivity: 77.145782
```

How to Use the Tool

OPTION 1:-
• The input file should be in the following formats[*.pdb, *.mol, *.mol2, *.xyz, *.sdf, *.smi]
• The input file name should not contain whitespace(s).
• Browse and Upload the file.
• Click on Submit.
• If the results were not showing, please recheck you input file format and submit it again.

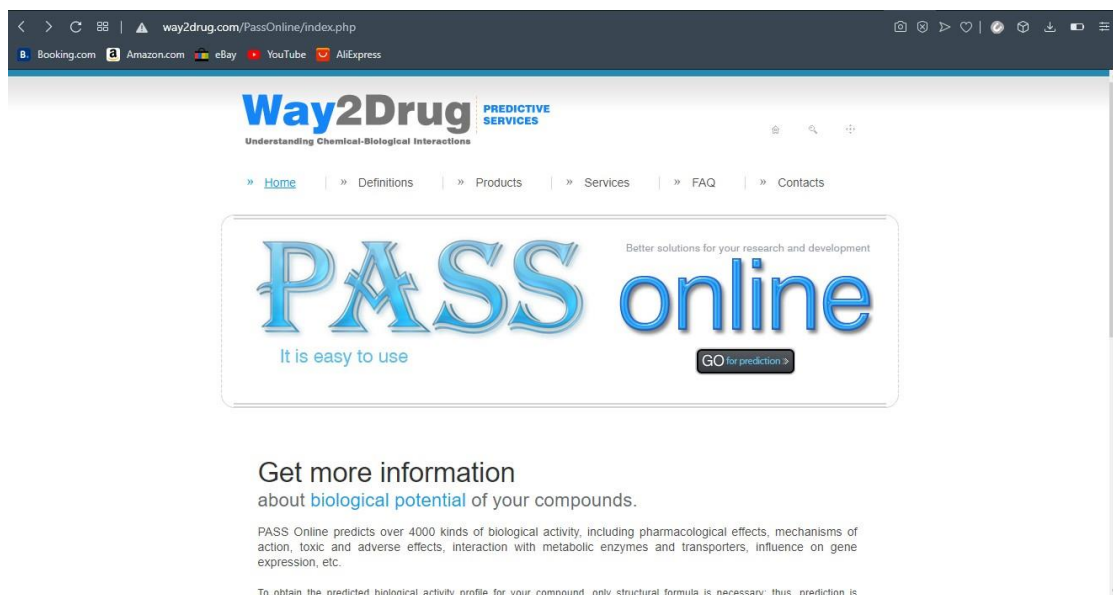
OPTION 2:-
• To draw a chemical structure [Click Here](#).
• Follow the instructions given.
• Browse and Upload the file.
• Click on Submit.

For Feedback/Queries/Reportings bugs/Suggestions mail us at : abhilash@scfbio-iitd.res.in

References:
Cite as:
[Lipinski, G. \(December 2004\). "Lead- and drug-like molecules: the rule of five revisited". Drug Discovery Today](#)

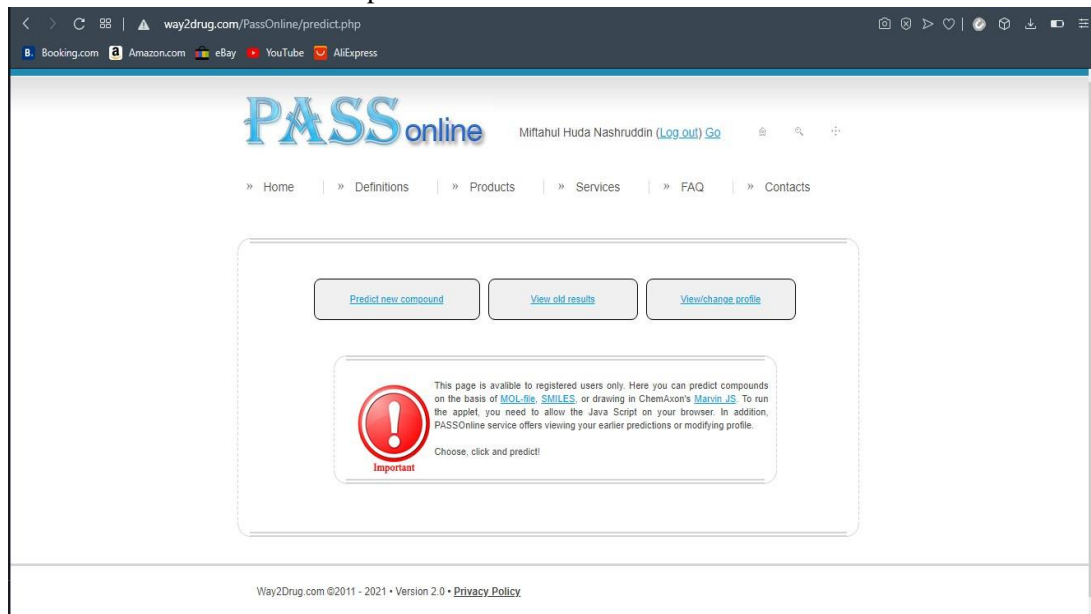
Lampiran 5. Uji *Prediction of Activity Spectra for Substances* (PASS)

1. Masuk ke situs uji *Prediction of Activity Spectra for Substances* (PASS) online yaitu <http://www.pharmaexpert.ru/passonline/> kemudian pilih *go for prediction*.



The screenshot shows the homepage of the Way2Drug PASS online service. The browser address bar displays way2drug.com/PassOnline/index.php. The page features the Way2Drug logo with the tagline "Understanding Chemical-Biological Interactions" and "PREDICTIVE SERVICES". A navigation menu includes links for Home, Definitions, Products, Services, FAQ, and Contacts. The main content area has a large "PASS online" banner with the text "Better solutions for your research and development" and "It is easy to use". A "GO for prediction" button is visible. Below the banner, there is a section titled "Get more information about biological potential of your compounds." which states that PASS Online predicts over 4000 kinds of biological activity, including pharmacological effects, mechanisms of action, toxic and adverse effects, interaction with metabolic enzymes and transporters, influence on gene expression, etc. A small note at the bottom of this section reads: "To obtain the predicted biological activity profile for your compound, only structural formula is necessary, thus, prediction is".

2. Pilih Predict new compound



The screenshot shows the "predict.php" page of the Way2Drug PASS online service. The browser address bar displays way2drug.com/PassOnline/predict.php. The page features the PASS online logo and the user name "Miftahul Huda Nashruddin (Log out) Go". A navigation menu includes links for Home, Definitions, Products, Services, FAQ, and Contacts. The main content area has three buttons: "Predict new compound", "View old results", and "View/change profile". Below these buttons is a red warning icon with an exclamation mark and the word "Important". The text next to the icon reads: "This page is available to registered users only. Here you can predict compounds on the basis of [MOL-file](#), [SMILES](#), or drawing in ChemAxon's [Marvin JS](#). To run the applet, you need to allow the Java Script on your browser. In addition, PASSOnline service offers viewing your earlier predictions or modifying profile. Choose, click and predict!". At the bottom of the page, there is a footer with the text "Way2Drug.com ©2011 - 2021 • Version 2.0 • Privacy Policy".

3. Kemudian pilih SMILES

way2drug.com/PassOnline/predict.php

Booking.com Amazon.com eBay YouTube AliExpress

PASSonline Miftahul Huda Nashruddin (Log out) Go

» Home | » Definitions | » Products | » Services | » FAQ | » Contacts

Predict new compound View old results View/change profile

SMILES MOL file Marvin JS

Way2Drug.com ©2011 2021 • Version 3.0 • Private Database

4. Copy SMILES ligan dari Pubchem

PubChem Chlorogenic acid (Compound)

CWVRJTMFETXNAD-JUHZACGLSA-N
Computed by InChI 1.0.6 (PubChem release 2021.05.07)
PubChem

2.1.4 Canonical SMILES ?

C1C(C(C(C(C1C(=O)O)O)OC(=O)C=CC2=CC(=C(C=C2)O)O)O)O
Computed by OEChem 2.3.0 (PubChem release 2021.05.07)
PubChem

2.1.5 Isomeric SMILES ?

C1[C@H]([C@H]([C@@H]([C@H]([C@@H]1C(=O)O)O)OC(=O)C=C/C2=CC(=C(C=C2)O)O)O
Computed by OEChem 2.3.0 (PubChem release 2021.05.07)
PubChem

2.2 Molecular Formula ?

C₁₆H₁₈O₉
Computed by PubChem 2.1 (PubChem release 2021.05.07)

Cite Download

CONTENTS

- Title and Summary
- 1 Structures
- 2 Names and Identifiers
- 3 Chemical and Physical Properties
- 4 Spectral Information
- 5 Related Records
- 6 Chemical Vendors
- 7 Drug and Medication Information
- 8 Pharmacology and Biochemistry
- 9 Toxicity
- 10 Associated Disorders and Diseases
- 11 Literature

5. Masukkan SMILES ligan yang sudah dicopy dari pubchem kemudian pilih *Get prediction*

The screenshot shows a web interface for prediction. At the top, there are three buttons: "Predict new compound", "View old results", and "View/changes profile". Below these are three input fields labeled "SMILES", "MOL file", and "Marvin JS". The "SMILES" field contains the text O)C=CC2=CC(=C(C=C2)O)O)O. Below the input fields is a large "Get prediction" button.

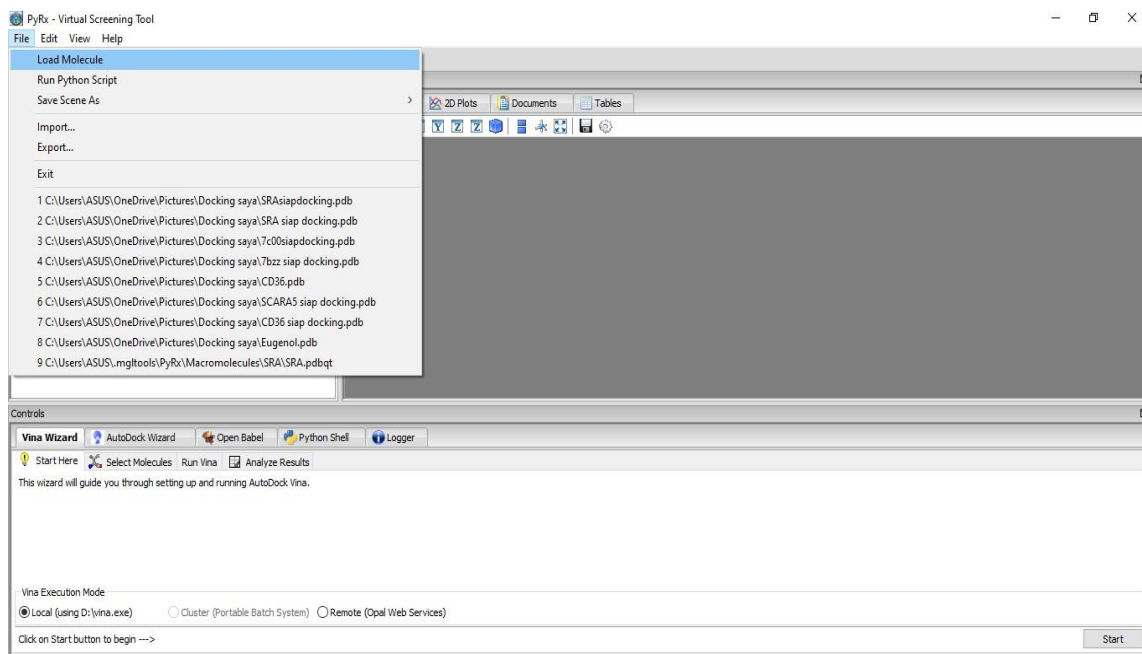
6. Hasil Uji *Prediction of Activity Spectra for Substances (PASS)*

The screenshot shows the results of the PASS prediction. A table lists various activity categories with their corresponding Pa and Pi values. Below the table, there is a note: "Click this place to view possible adverse & toxic effects (prediction is based on clinical manifestations, which are sometimes observed in a few or even in a single patient)".

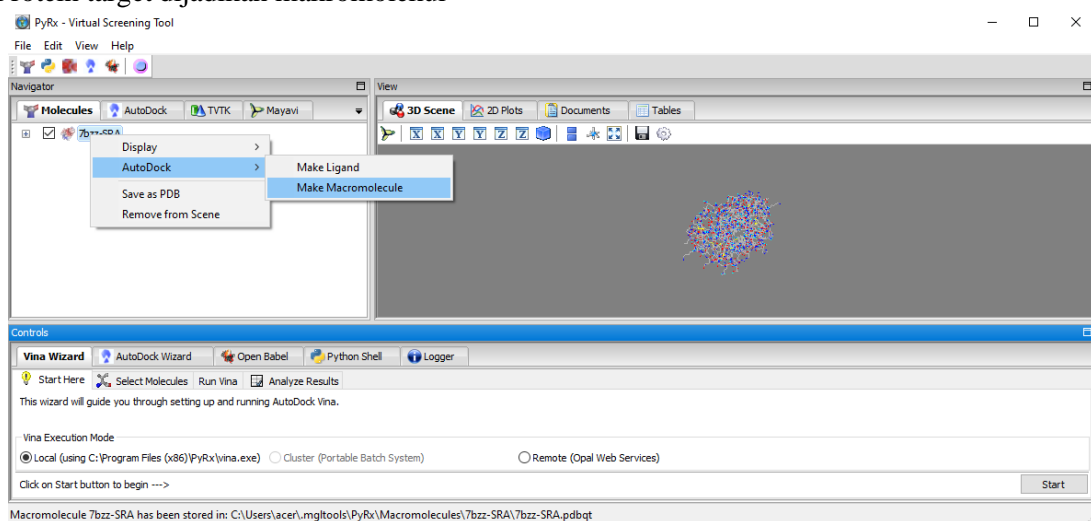
Pa	Pi	Activity
0,940	0,004	Membrane integrity agonist
0,920	0,001	Choleretic
0,865	0,004	Membrane permeability inhibitor
0,856	0,002	Free radical scavenger
0,855	0,003	Lipid peroxidase inhibitor
0,846	0,004	Oxidoreductase inhibitor
0,846	0,004	Anticarcinogenic
0,833	0,003	Chemopreventive
0,826	0,010	HIF1A expression inhibitor
0,815	0,003	Phosphatase inhibitor
0,808	0,017	Antieczematic

Lampiran 6. Uji *Molecular Docking* dengan Pyrx

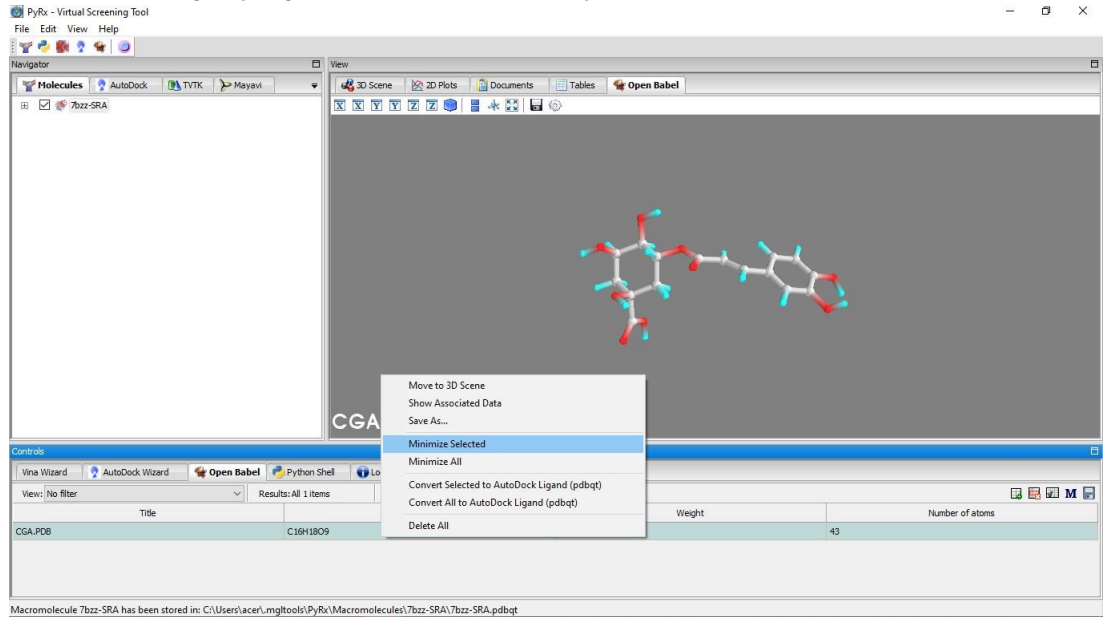
1. Membuka software Pyrx kemudian memasukkan file reseptor yang sudah dipreparasi sebelumnya



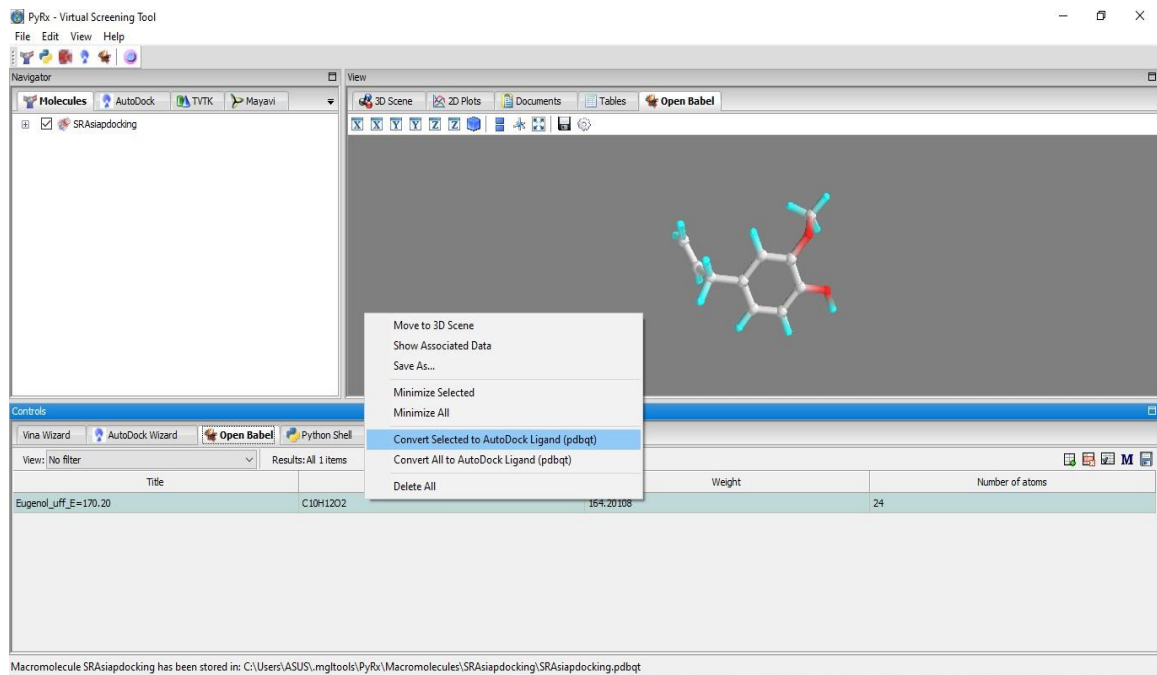
2. Protein target dijadikan makromolekul



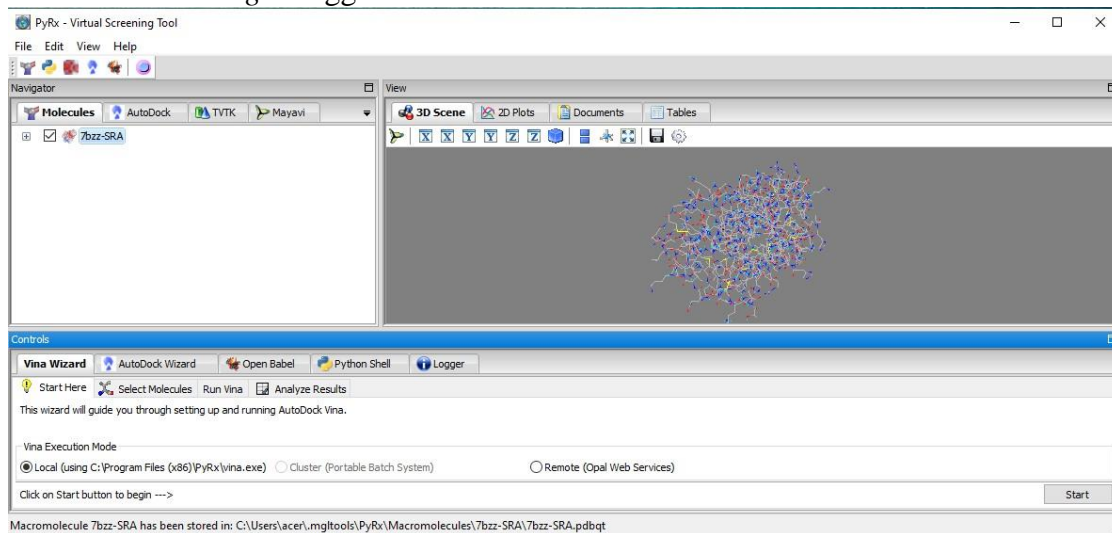
3. Memasukkan ligan yang telah diunduh sebelumnya dan di *minimize*



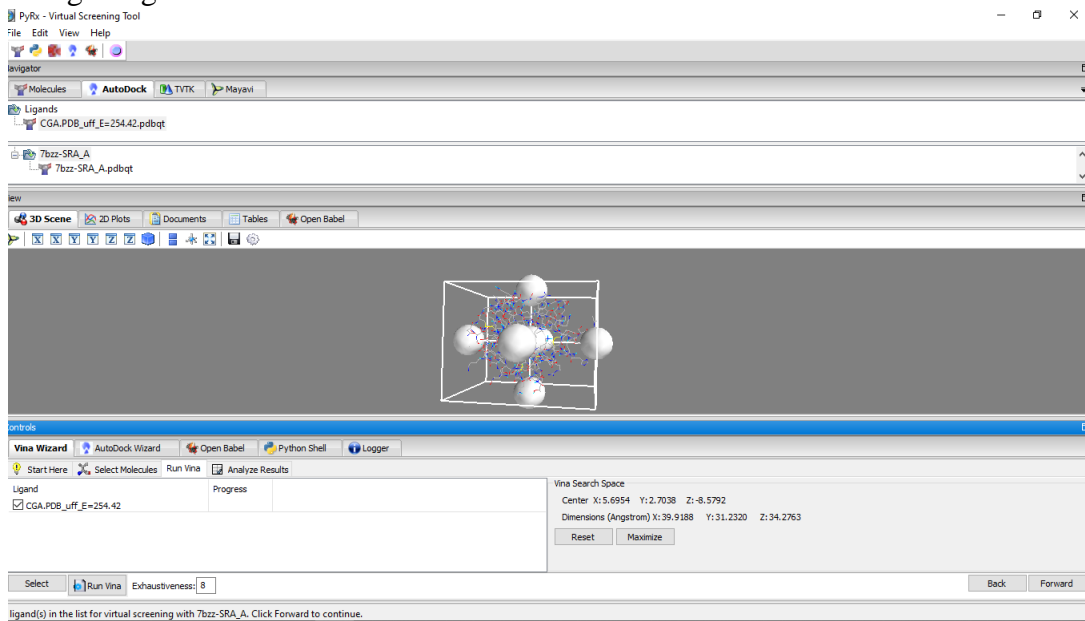
4. Preparasi format ligan menjadi format pdbqt



5. Melakukan *docking* menggunakan *autodock vina*



6. Mengatur grid box



7. Hasil *Molecular Docking* disimpan filenya dengan format pdbqt, dipilih juga binding affinity yang terkecil

The screenshot displays the PyRx - Virtual Screening Tool interface. The Navigator panel shows the following structure:

- Molecules: AutoDock, T/TK, Mayavi
- Ligands: CGA.PDB_uff_E=254.42.pdbqt
- Macromolecules: 7bzz-SRA_A

The 3D Scene view shows a molecular model of the protein-ligand complex. The Controls panel includes the Vina Wizard and a table of results:

Ligand	Binding Affinity (kcal/mol)	Mode	RMSD lower bound	RMSD upper bound
7bzz-SRA_A_CGA.PDB_uff_E=254.42	-6.5	0	0.0	0.0
7bzz-SRA_A_CGA.PDB_uff_E=254.42	-6.5	1	28.011	28.835
7bzz-SRA_A_CGA.PDB_uff_E=254.42	-6.2	2	1.536	2.481
7bzz-SRA_A_CGA.PDB_uff_E=254.42	-6.2	3	18.608	20.704
7bzz-SRA_A_CGA.PDB_uff_E=254.42	-6.2	4	19.618	21.816

DAFTAR PUSTAKA

- Allen, W. E. (2008). diFiore's Atlas of Histology with Functional Correlations (11th Edition). *Journal of Anatomy*, 213(3), 357. <https://doi.org/10.1111/J.1469-7580.2008.00956.X>
- Bartova, J., Sommerova, P., Lyuya-Mi, Y., Mysak, J., Prochazkova, J., Duskova, J., Janatova, T., & Podzimek, S. (2014). Periodontitis as a risk factor of atherosclerosis. *Journal of Immunology Research*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/636893>
- Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2017). SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports*, 7(January), 1–13. <https://doi.org/10.1038/srep42717>
- Dorland, W. A. N. (2006). *Kamus kedokteran Dorland (Dorlan illustrated medical dictionary)*. Edisi ke-29. 2006. EGC.
- Fliser, D., Wiecek, A., Suleymanlar, G., Ortiz, A., Massy, Z., Lindholm, B., Martinez-Castelao, A., Agarwal, R., Jager, K. J., Dekker, F. W., Blankestijn, P. J., Goldsmith, D., Covic, A., London, G., & Zoccali, C. (2011). The dysfunctional endothelium in CKD and in cardiovascular disease: mapping the origin(s) of cardiovascular problems in CKD and of kidney disease in cardiovascular conditions for a research agenda. *Kidney International Supplements*, 1(1), 6. <https://doi.org/10.1038/KISUP.2011.6>
- Fonseca, Á. L. M. da, Lima, F. W. de M., & Couto, R. D. (2014a). Ação das Metaloproteinases nas Doenças Ateroscleróticas. *ABCS Health Sciences*, 39(3), 186–193. <https://doi.org/10.7322/ABCSSHS.V39I3.654>
- Fonseca, Á. L. M. da, Lima, F. W. de M., & Couto, R. D. (2014b). Ação das Metaloproteinases nas Doenças Ateroscleróticas. *ABCS Health Sciences*, 39(3), 186–193. <https://doi.org/10.7322/ABCSSHS.V39I3.654>
- Godos, J., Pluchinotta, F. R., Marventano, S., Buscemi, S., Volti, G. L., Galvano, F., & Grosso, G. (2014). Coffee components and cardiovascular risk: beneficial and detrimental effects. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 65(8), 925–936. <https://doi.org/10.3109/09637486.2014.940287>
- Hall, S., Desbrow, B., Anoopkumar-Dukie, S., Davey, A. K., Arora, D., McDermott, C., Schubert, M. M., Perkins, A. V., Kiefel, M. J., & Grant, G. D. (2015). A review of the bioactivity of coffee, caffeine and key coffee constituents on inflammatory responses linked to depression. *Food Research International (Ottawa, Ont.)*, 76(Pt 3), 626–636. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2015.07.027>

- Kemenkes RI. (2014). Situasi kesehatan jantung. *Pusat Data Dan Informasi Kementerian Kesehatan RI*, 3. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Lee, K., Lee, B. J., & Bu, Y. (2015). Protective Effects of Dihydrocaffeic Acid, a Coffee Component Metabolite, on a Focal Cerebral Ischemia Rat Model. *Molecules* 2015, Vol. 20, Pages 11930-11940, 20(7), 11930–11940. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES200711930>
- Liang, N., & Kitts, D. D. (2015). Role of Chlorogenic Acids in Controlling Oxidative and Inflammatory Stress Conditions. *Nutrients*, 8(1). <https://doi.org/10.3390/NU8010016>
- Libby, P., Ridker, P. M., & Hansson, G. K. (2011). Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis. *Nature*, 473(7347), 317–325. <https://doi.org/10.1038/NATURE10146>
- Lou, Z., Wang, H., Zhu, S., Ma, C., & Wang, Z. (2011). Antibacterial activity and mechanism of action of chlorogenic acid. *Journal of Food Science*, 76(6). <https://doi.org/10.1111/J.1750-3841.2011.02213.X>
- Mercer, J. R., Gray, K., Figg, N., Kumar, S., & Bennett, M. R. (2012). The methyl xanthine caffeine inhibits DNA damage signaling and reactive species and reduces atherosclerosis in ApoE(-/-) mice. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 32(10), 2461–2467. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.112.251322>
- Miao, C., Chen, S., Ding, J., Liu, K., Li, D., Macedo, R., Lai, S., Vogel-Claussen, J., Brown, E. R., Lima, J. A. C., & Bluemke, D. A. (2011). The association of pericardial fat with coronary artery plaque index at MR imaging: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Radiology*, 261(1), 109–115. <https://doi.org/10.1148/RADIOL.11110346>
- Muchtaridi, M., Dermawan, D., & Yusuf, M. (2018). Molecular docking, 3D structure-based pharmacophore modeling, and ADME prediction of alpha mangostin and its derivatives against estrogen receptor alpha. *Journal of Young Pharmacists*, 10(3), 252–259. <https://doi.org/10.5530/jyp.2018.10.58>
- Mussatto, S. I., Machado, E. M. S., Martins, S., & Teixeira, J. A. (2011). Production, Composition, and Application of Coffee and Its Industrial Residues. *Food and Bioprocess Technology*, 4(5), 661–672. <https://doi.org/10.1007/S11947-011-0565-Z>
- Noori, H. R., & Spanagel, R. (2013). *In silico pharmacology: drug design and discovery 's gate to the future*. 29(3), 1–2. <https://doi.org/10.1186/2193-9616-1-1>
- O'Boyle, N. M., Banck, M., James, C. A., Morley, C., Vandermeersch, T., &

- Hutchison, G. R. (2011). Open Babel. *Journal of Cheminformatics*, 3(33), 1–14.
- Pramely, R., & Raj, T. L. S. (2012). Prediction of biological activity spectra of a few phytoconstituents of *Azadirachta indica* A. Juss. *Journal of Biochemical Technology*, 3(4), 375–379.
- Shityakov, S., Neuhaus, W., Dandekar, T., & Förster, C. (2013). Analysing molecular polar surface descriptors to predict blood-brain barrier permeation. *International Journal of Computational Biology and Drug Design*, 6(1–2), 146–156. <https://doi.org/10.1504/IJCBDD.2013.052195>
- Siswandono. (2016). 007Ar. 5. <https://doi.org/10.2174/15701638136661605251123>
- Sliwoski, G. R., Meiler, J., & Lowe, E. W. (2014). Computational Methods in Drug Discovery Prediction of protein structure and ensembles from limited experimental data View project Antibody modeling, Antibody design and Antigen-Antibody interactions View project. *Computational Methods in Drug Discovery*, 66(1), 334–395.
- Spagnoli, L. G., Bonanno, E., Sangiorgi, G., & Mauriello, A. (2007). Role of inflammation in atherosclerosis. *Journal of Nuclear Medicine: Official Publication, Society of Nuclear Medicine*, 48(11), 1800–1815. <https://doi.org/10.2967/JNUMED.107.038661>
- Suharna. (2012). No Title39–37, 66, עלון הנטע. תמונת מצב. ענף הקיווי.
- Susilawati, A., Suryono, & Ermawati, T. (2015). *PROTECTIVE EFFECT OF COFFEE AGAINST CORONARY ATHEROSCLEROSIS IN PERIODONTITIS RAT MODEL*.
- Trott. (2009). Software News and Updates Gabedit — A Graphical User Interface for Computational Chemistry Softwares. *Journal of Computational Chemistry*, 32, 174–182. <https://doi.org/10.1002/jcc>
- Trott, O., & Olson, A. J. (2010). AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*, 31(2), 455. <https://doi.org/10.1002/JCC.21334>
- Wadood, A., Ahmed, N., Shah, L., Ahmad, A., Hassan, H., & Shams, S. (2013). In-silico drug design: An approach which revolutionarised the drug discovery process. *OA Drug Design and Delivery*, 1(1), 1–4. <https://doi.org/10.13172/2054-4057-1-1-1119>
- Yu, X. H., Fu, Y. C., Zhang, D. W., Yin, K., & Tang, C. K. (2013). Foam cells in atherosclerosis. *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry*, 424, 245–252. <https://doi.org/10.1016/J.CCA.2013.06.006>

- Yuan, S., Chan, H. C. S., & Hu, Z. (2017). Using PyMOL as a platform for computational drug design. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*, 7(2), 1–10. <https://doi.org/10.1002/wcms.1298>
- Zani, I. A., Stephen, S. L., Mughal, N. A., Russell, D., Homer-Vanniasinkam, S., Wheatcroft, S. B., & Ponnambalam, S. (2015). Scavenger receptor structure and function in health and disease. *Cells*, 4(2), 178–201. <https://doi.org/10.3390/CELLS4020178>
- Zani, I., Stephen, S., Mughal, N., Russell, D., Homer-Vanniasinkam, S., Wheatcroft, S., & Ponnambalam, S. (2015). Scavenger Receptor Structure and Function in Health and Disease. *Cells*, 4(2), 178–201. <https://doi.org/10.3390/cells4020178>
- Zoumi, A., Lu, X., Kassab, G. S., & Tromberg, B. J. (2004). Imaging Coronary Artery Microstructure Using Second-Harmonic and Two-Photon Fluorescence Microscopy. *Biophysical Journal*, 87(4), 2778–2786. <https://doi.org/10.1529/BIOPHYSJ.104.042887>