

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Anggur (*Vitis vinifera L.*)

##### 1. Klasifikasi Anggur

Klasifikasi tanaman anggur (*Vitis vinifera L.*) menurut Hendarto, 2019 sebagai berikut:

|             |   |                          |
|-------------|---|--------------------------|
| Kingdom     | : | Plantae                  |
| Subkingdom  | : | Tracheobionta            |
| Superdivisi | : | Spermatophyta            |
| Divisi      | : | Magnoliophyta            |
| Kelas       | : | Magnoliopsida            |
| Subkelas    | : | Rosidae                  |
| Ordo        | : | Rhamnales                |
| Famili      | : | Vitaceae                 |
| Genus       | : | <i>Vitis</i>             |
| Spesies     | : | <i>Vitis vinifera L.</i> |



Gambar 1. Tanaman anggur (PxHere, 2023).

##### 2. Kandungan Kimia Anggur

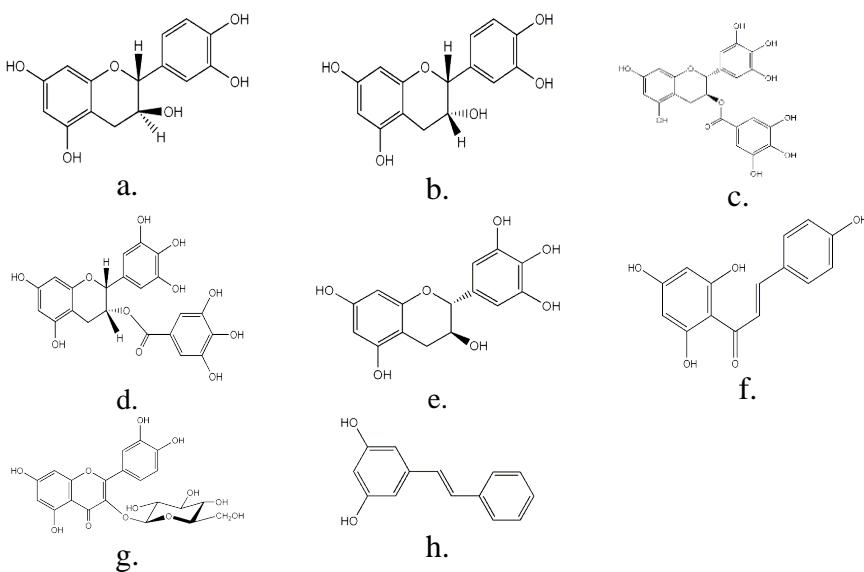
Tanaman anggur seperti pada gambar 1, mengandung berbagai senyawa kimia yang diantaranya sebagai antiparkinson dan memiliki efek neuroprotektif. Kandungan senyawa kimia pada anggur didapat melalui *web server* KNApSACk dan beberapa jurnal penelitian. Senyawa anggur terdiri dari 4 golongan yaitu golongan polifenol, asam amina, dihidroksibenzena, dan auksin.

###### 2.1 Golongan Polifenol.

###### 2.1.1. Golongan Flavonoid

###### 2.1.1.1 Golongan Flavan-3-ols

Terdapat 3 senyawa golongan flavan-3-ols dalam tanaman anggur yaitu (+)-Catechin, (-)-Epicatechin, Gallocatechin 3-O-gallate, (-)-Epigallocatechin gallate, (+)-Gallocatechin, Naringenin chalcone, Hirsutrin, Pinosylvin atau bisa dilihat pada gambar 2.

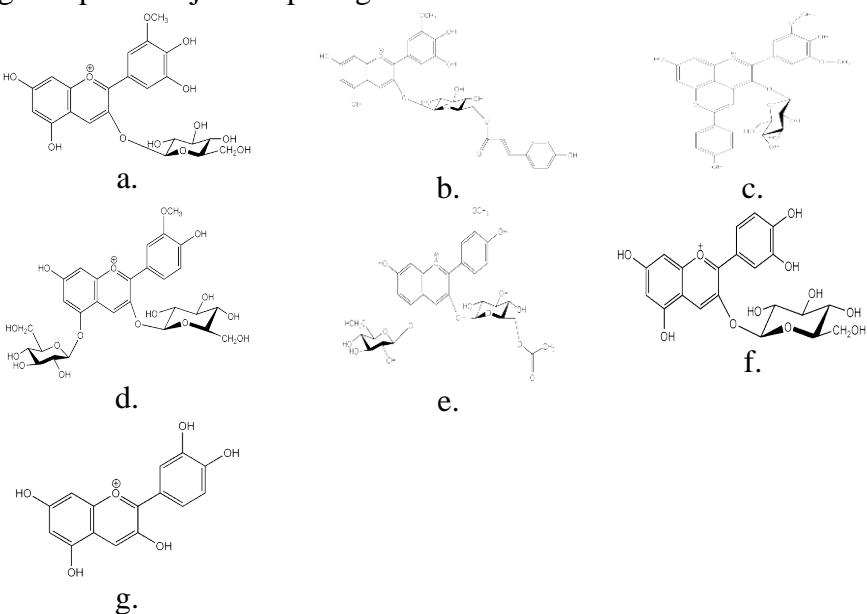


**Gambar 2. Senyawa kimia golongan falvan-3-ols dalam anggur**

(+)-Catechin (a), (-)-Epicatechin (b), Gallocatechin 3-O-gallate (c), (-)-Epigallocatechin gallate (d), (+)-Gallocatechin (e) (Niaz, 2020), Naringenin chalcone (f), Hirsutrin (g), Pinosylin (h) (Rencoret, 2022).

### 2.1.1.2 Golongan Antosianidin dan Antosianin

Senyawa golongan antosianidin dan antosianin dalam tanaman anggur dapat ditunjukkan pada gambar 3.



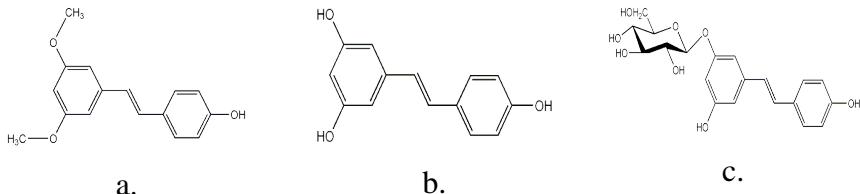
**Gambar 3. Senyawa kimia golongan antosianidin dalam anggur**

Petunidin 3-glucoside (a), Petunidin 3-(6''-p-coumarylglucoside) (b), Malvidin 3-glucoside-4-vinylphenol (c), Peonidin-3,5-diglucoside (d), Peonidin acetyl 3,5-diglucoside (e) (KNAPSAcK, 2023), Cyanidin 3-O-glucoside (f), Cyanidin (g) (Murkovic, 2016).

## 2.1.2. Golongan Fenolik Lainnya

### 2.1.2.1. Golongan Stilbene

Terdapat 3 senyawa golongan stilbene dalam tanaman anggur yaitu *Pterostilbene*, dan *Resveratrol*, (*E*)-*Piceid* atau bisa dilihat pada gambar 4.

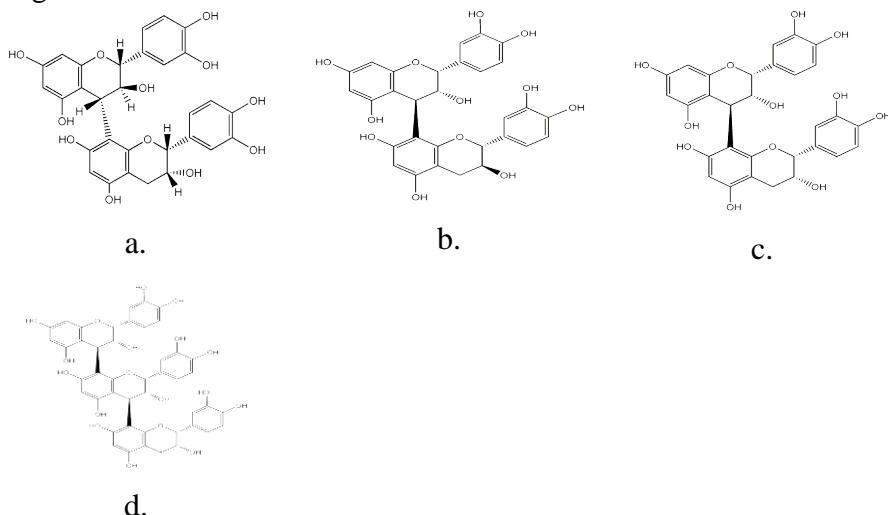


**Gambar 4. Senyawa kimia golongan stilbene dalam anggur**

*Pterostilbene* (a), *Resveratrol* (b), (*E*)-*Piceid* (c) (Niaz, 2020) (KNApSAcK, 2023).

### 2.1.2.2. Golongan Proantosianidin

Senyawa golongan proantosianidin dalam anggur ditunjukkan oleh gambar 5.



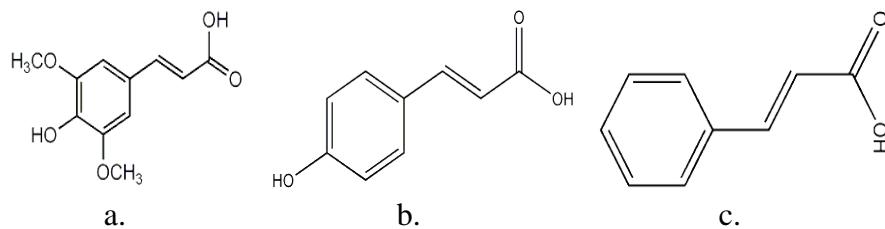
**Gambar 5. Senyawa kimia golongan proantosianidin dalam anggur**

*Procyanidin B4* (a), *Procyanidin B1* (b), *Procyanidin B2* (c), *Procyanidin C1* (d) (Niaz, 2020).

## 2.1.3. Golongan Asam Fenolik

### 2.1.3.1. Golongan Asam Hidroksinamat

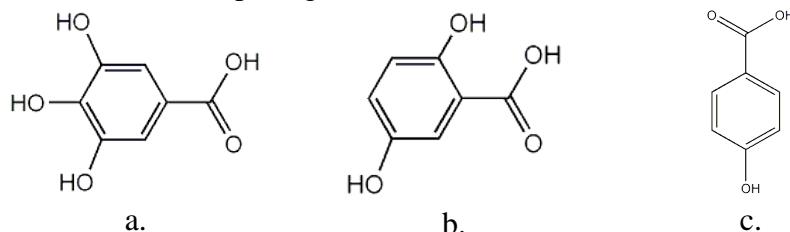
Senyawa-senyawa golongan asam hidroksinamat dalam tanaman anggur yaitu *Sinapic acid* (Murkovic, 2016), *p-Coumaric acid* (Soledade, *et al.*, 2010), *Cinnamate* atau bisa dilihat pada gambar 6.



**Gambar 6. Senyawa kimia golongan asam hidroksinamat dalam anggur**  
*Sinapic acid* (a) (Murkovic, 2016), *p-Coumaric acid* (b) (Soledade, *et al.*, 2010),  
*Cinnamate* (c) (Nunes *et al.*, 2018) (KNApSAcK, 2023).

### 2.1.3.2. Golongan Asam Hidroksibenzoat

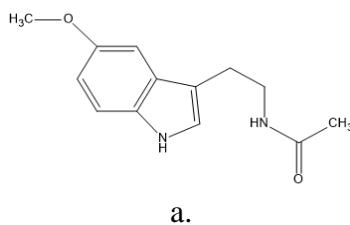
Senyawa-senyawa golongan asam hidroksibenzoat dalam tanaman anggur yaitu *Gallic acid*, *Gentisic acid*, dan *4-hydroxybenzoic acid* atau bisa dilihat pada gambar 7.



**Gambar 7. Senyawa kimia golongan asam hidroksibenzoat dalam anggur**  
*Gallic acid* (a), *Gentisic acid* (b) (Murkovic, 2016), *4-hydroxybenzoic acid* (c)  
(KNApSAcK, 2023).

### 2.2 Golongan Asam Amina.

Senyawa golongan asam amina dalam anggur ditunjukkan oleh gambar 8.

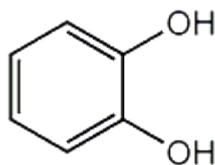


a.

**Gambar 8. Senyawa kimia golongan asam amina dalam anggur**  
*Melatonin* (a), (KNApSAcK, 2023).

### 2.3 Golongan Dihidroksibenzena.

Senyawa golongan dihidroksibenzena dalam anggur ditunjukkan oleh gambar 9.



a.

**Gambar 9. Senyawa kimia golongan dihidroksibenzena dalam anggur**

Catechol (a), (KNAPSAcK, 2023).

### 3. Aktivitas Farmakologi

Tanaman anggur memiliki aktivitas farmakologi yang berpotensi sebagai alternatif pengobatan Parkinson. Kandungan kimia yang ditemukan dalam tanaman ini yaitu polifenol. Penelitian Tikhonova *et al.* (2020) menggunakan hewan uji tikus jantan Wild-Type dan tikus *Parkinson disease* transgenik yang diberikan ekstrak polifenol anggur untuk mengetahui efek neuroprotektif dari ekstrak tersebut. Hewan uji yang digunakan tikus jantan Wild-Type diberikan suplemen makanan yang mengandung ekstrak polifenol anggur 1,5 ml/kg/hari dengan air minum, lalu dilakukan pengamatan dari usia 6-8 minggu seumur hidup. Tikus *Parkinson disease* transgenik diberikan ekstrak polifenol anggur dari usia 10 minggu selama 4 bulan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa polifenol dalam anggur dapat bertindak sebagai agen pelindung saraf atau memiliki efek neuroprotektif terhadap  $\alpha$ -synuclein. Pada tikus *Parkinson disease* transgenik, menunjukkan ekstrak polifenol anggur meningkatkan rekonsolidasi memori dan dapat mengurangi kepunahan memori dalam uji penghindaran pasif. (Tikhonova *et al.*, 2020).

Anggur juga mengandung senyawa seperti golongan proantosianidin, polifenol, flavonoid, antosianin, katekin dan stilbene. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Strathearn *et al.* (2014) menyatakan bahwa kandungan senyawa kimia antosianin, proantosianidin, dan polifenol dalam ekstrak biji anggur memiliki aktivitas neuroprotektif dan dapat meringankan neurodegenerasi pada penyakit Parkinson melalui peningkatan fungsi mitokondria serta menekan efek neurotoksik rotenone dalam model kultur sel primer Parkinson. Senyawa flavonoid, antosianin, katekin dan stilbene dalam biji dan kulit dari tanaman anggur juga dapat secara efektif dalam melindungi neuron dopamin dari toksisitas 6-hidroksidopamin (6-OHDA) dan meningkatkan fungsi motorik dalam model *Parkinson disease* 6-OHDA secara in vivo (Youssef *et al.*, 2019).

Anggur juga dilaporkan memiliki banyak aktivitas yaitu sebagai antioksidan, antiinflamasi alami, antiulkus, antikanker, dan antimikroba yang dapat melawan spesies bakteri, jamur maupun virus dalam beberapa penelitian. Minyak biji anggur juga memiliki efek menguntungkan yaitu efek neuroprotektif (perlindungan saraf) terhadap cedera otak pada tikus yang diiradiasi  $\gamma$ , dan kemungkinan dikaitkan dengan kemampuannya mengais radikal bebas, menekan respons inflamasi, meningkatkan aktivitas enzim antioksidan dan menghambat tingkat ekspresi gen *xanthine oxidase* (XO) dan *inducible nitric oxide synthase* (iNOS) (Ismail *et al.*, 2015). Kandungan proanthocyanidin pada biji anggur dapat mencegah kelainan fungsional dan morfologis pada saraf tepi tikus diabetes mellitus tipe II. Penelitian ini menggunakan tikus Sprague-Dawley yang mendapatkan dua kali suntikan streptozotocin 25 mg/kg BB dan 8 minggu diet tinggi karbohidrat/tinggi lemak, lalu dilanjutkan perawatan dengan proanthocyanidin biji anggur dosis 500 mg/kg selama 16 minggu. Hasil penelitian menunjukkan efek penghambatan pada  $\text{Ca}^{2+}$  yang berlebihan pada linu panggul saraf (Ding *et al.*, 2014).

Senyawa polifenol yang terkandung dalam ekstrak biji anggur memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Berdasarkan penelitian terdahulu menyatakan bahwa ekstrak polifenol biji anggur dapat menjadi sumber antioksidan baru dalam nutrisi hewan. Ekstrak tersebut di ekstraksi dengan metanol atau air dengan prosedur Folin-Ciocalteu menggunakan asam galat sebagai standar. Penelitian ini dilakukan dengan cara memberikan ekstrak tersebut ke dalam pakan ayam pada 240 anak ayam jantan Cobb broiler usia 21 dan 42 hari. Hasil yang diperoleh efek nutrisi polifenol akan diserap dan terjadi peningkatan aktivitas antioksidan polifenol anggur dalam ekskreta (kotoran) menunjukkan bahwa sebagian polifenol yang dapat diekstraksi didegradasi oleh mikroflora usus (Brenes *et al.*, 2010).

## B. Jeruk Nipis (*Citrus aurantium* L.)

### 1. Klasifikasi Jeruk Nipis

Klasifikasi tanaman jeruk nipis (*Citrus aurantium* L.) menurut Herbie, 2015 sebagai berikut:

Divisi : Spermatophyta

Sub divisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledoneae

|        |   |
|--------|---|
| Bangsa | : Sapindales  |
| Suku   | : Rutaceae  |
| Marga  | : Citrus  |
| Jenis  | : <i>Citrus aurantium L. subs. Aurantifolia Swingle</i> |



Gambar 10. Tanaman jeruk nipis (Saputera, 2020)

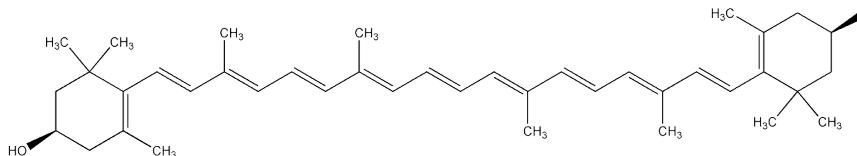
## 2. Kandungan Kimia Jeruk Nipis

Jeruk nipis seperti pada gambar 10 mengandung berbagai senyawa kimia yang diantaranya sebagai antiparkinson. Kandungan senyawa kimia pada jeruk nipis didapat melalui *web server* KNAPSAcK dan jurnal-jurnal penelitian. Senyawa jeruk nipis dibagi menjadi golongan besar yaitu terpenoid dan flavonoid.

### 2.1 Golongan Terpenoid.

#### 2.1.1 Golongan Tetraterpenoid

Terdapat 1 senyawa golongan tetraterpenoid dalam jeruk nipis yaitu *Zeaxanthin* dapat dilihat pada gambar 11.

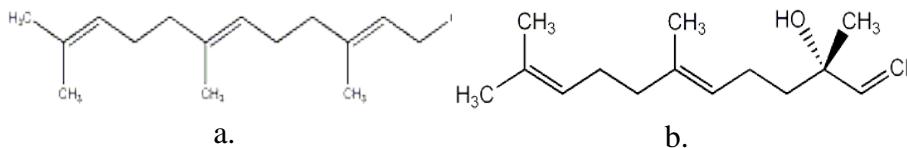


a.

Gambar 11. Senyawa kimia golongan tetraterpenoid dalam jeruk nipis  
*Zeaxanthin* (a) (KNAPSAcK, 2023).

#### 2.1.2 Golongan Seskuiterpenoid

Terdapat 4 senyawa golongan seskuiterpenoid dalam jeruk nipis yaitu *trans-Farnesol*, *Nerolidol* dapat dilihat pada gambar 12.

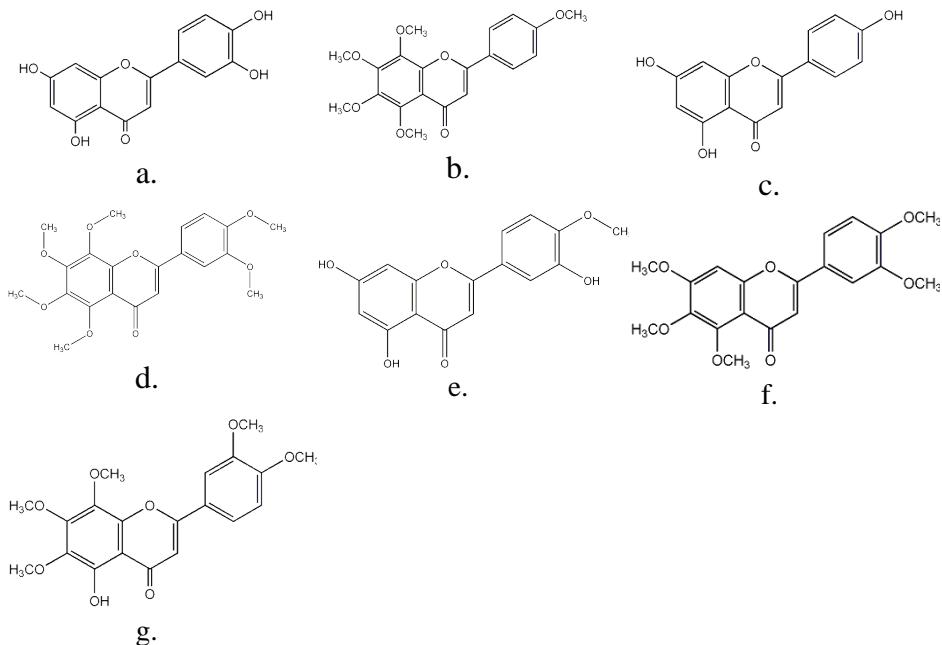


**Gambar 12. Senyawa kimia golongan seskuiterpenoid dalam jeruk nipis**  
*trans*-Farnesol (a), Nerolidol (b) (KNApSAcK, 2023).

## 2.2 Golongan Flavonoid.

### 2.2.1. Golongan Flavon

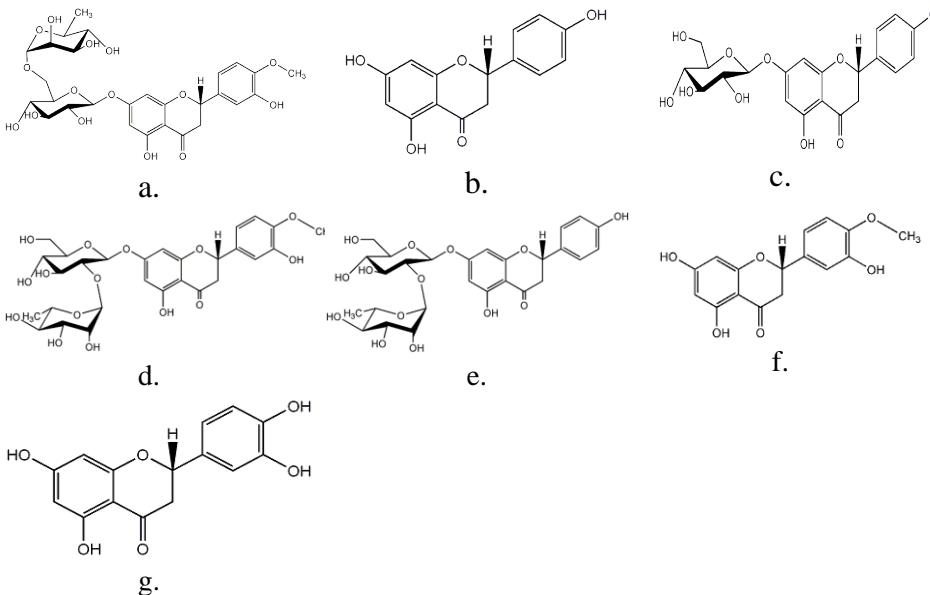
Senyawa golongan flavon dalam jeruk nipis dapat dilihat pada gambar 13.



**Gambar 13. Senyawa kimia golongan flavon dalam jeruk nipis**  
Luteolin (a), Tangeretin (b), Apigenin (c), Nobiletin (d), Diosmetin (e), Sinensetin  
(f), 5-Demethylnobiletin (g) (KNApSAcK, 2023).

### 2.2.2 Golongan Flavanon

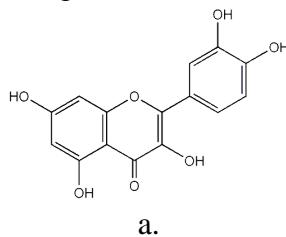
Senyawa golongan flavanon dalam jeruk nipis yaitu *Hesperidin*, *Naringenin*, *Naringenin 7-O-beta-D-glucoside*, *Neohesperidin*, *Naringin*, *Hesperetin* dan *Eriodictyol* atau dapat dilihat pada gambar 14.



**Gambar 14. Senyawa kimia golongan flavanon dalam jeruk nipis**  
*Hesperidin* (a), *Naringenin* (b), *Naringenin 7-O-beta-D-glucoside* (c),  
*Neohesperidin* (d), *Naringin* (e), *Hesperetin* (f), *Eriodictyol* (g) (Morissette, 2018).

### 2.2.3. Golongan Flavonol

Terdapat 1 senyawa golongan flavonol dalam jeruk nipis yaitu *Quercetin* dapat dilihat pada gambar 15.



**Gambar 15. Senyawa kimia golongan flavonol dalam jeruk nipis**  
*Quercetin* (a) (Morissette, 2018).

### 2.3 Golongan Asam Fenolik.

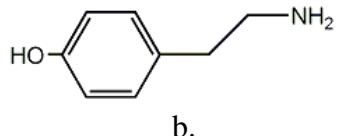
Terdapat 1 senyawa golongan asam fenolik dalam jeruk nipis yaitu *3,4 dimethoxybenzoic acid* atau dapat dilihat pada gambar 16.



**Gambar 16. Senyawa kimia golongan asam fenolik dalam jeruk nipis**  
*3,4 dimethoxybenzoic acid* (a) (Morissette, 2018).

## 2.4 Golongan Amina.

Senyawa golongan amina dalam jeruk nipis yaitu *Tyramine* atau dapat dilihat pada gambar 17.



**Gambar 17. Senyawa kimia golongan amina dalam jeruk nipis**  
*Tyramine* (a) (Morissette, 2018).

## 3. Aktivitas Farmakolog

Senyawa yang terkandung dalam jeruk nipis golongan flavonoid seperti hesperidin berpotensi dapat mengobati gejala Parkinson. Senyawa hesperidin yang terdapat pada jeruk nipis memiliki banyak fungsi farmakologis seperti antioksidan, antiinflamasi, antihipercolesterolemia, anti-karsinogenik serta peran potensial dalam melindungi neuron terhadap berbagai jenis gangguan termasuk Parkinson. Menurut Tamilselvam (2013) dilaporkan bahwa jeruk nipis memiliki aktivitas sebagai agen terapeutik untuk pengobatan Parkinson. Penelitian yang dilakukan menggunakan tikus jantan dewasa yang terdiri dari empat kelompok yang masing-masing terdiri dari enam ekor. Tikus kelompok I diberi dimetil sulfoksida (DMSO) (0,05%) sebagai kontrol. Tikus kelompok II menerima injeksi *1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine* (MPTP) (30mg/kg BB sekali sehari) selama lima hari berturut-turut. Kelompok III menerima hesperidin (50 /kg BB) selama empat belas hari berturut-turut 24 jam setelah dosis terakhir MPTP. Kelompok IV menerima hesperidine (100 mg/kg/BB) yang dilarutkan dalam DMSO (0,05%) dan diberikan selama 14 hari. Pemberian MPTP secara sistemik menyebabkan gangguan kemampuan untuk memulai gerakan (akinesia) serta ketidakmampuan untuk memperbaiki postur yang dipaksakan secara eksternal (katalepsi) dibandingkan dengan tikus kontrol. Pemberian hesperidin yang terkandung didalam jeruk nipis secara signifikan melemahkan akinesia yang diinduksi MPTP dan katalepsi. Kandungan hesperidin dalam jeruk nipis dapat melindungi dari peradangan pada tikus dengan menghambat metabolisme asam arakidonat melalui jalur 5-lipoksigenase dan siklooksigenase, sehingga efek protektif hesperidin pada neurotoksisitas yang diinduksi MPTP dengan menormalkan stres oksidatif dan peradangan. Senyawa yang terkandung dalam ekstrak

kulit jeruk nipis berpotensi dalam pencegahan dan pengobatan penyakit neurodegeneratif seperti penyakit Alzheimer dan Parkinson. Penelitian dilakukan dengan pemberian nobiletin 100 mg/kg/hari selama 6 minggu pada tikus umur 3 bulan yang diinduksi lipopolisakarida. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nobiletin dapat menurunkan peradangan saraf yang distimulasi lipopolisakarida dan gangguan memori melalui menjaga kesemibangan oksidatif seluler dan memblokir jalur transkripsional NF-  $\kappa$ B (Qi *et al.*, 2019).

Penelitian yang dilakukan Qi *et al.* (2019) sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Nakajima (2019) yang menyatakan bahwa nobiletin yang merupakan flavonoid polimetoksi memiliki aktivitas neuroprotektif. Nobiletin dapat memperbaiki defisit motorik dan kognitif pada model hewan *Parkinson disease* sehingga nobiletin berpotensi menjadi obat baru untuk pengobatan dan pencegahan penyakit neurodegeneratif. Jeruk nipis mengandung flavonoid yang melimpah, antara lain hesperidin, naringin dan nobiletin. Flavonoid ini telah dilaporkan memiliki berbagai manfaat obat meliputi antioksidan, antimikroba, antiinflamasi, antikanker, aktivitas antidiabetes, dan juga digunakan untuk mengobati penyakit kardiovaskular. Senyawa flavonoid dari jeruk nipis akan menjadi potensi terapi untuk pengobatan kanker dan menghambat efek peradangan (Arulkumar, 2014).

### C. Penyakit Parkinson

#### 1. Definisi Penyakit Parkinson

Parkinson adalah penyakit neurodegeneratif dengan insiden paling banyak diderita lansia setelah penyakit Alzheimer (Rizek *et al.*, 2016). Faktor risiko penyakit ini meliputi usia, jenis kelamin, riwayat keluarga, stress oksidatif, dan sejumlah racun lingkungan. Penyakit Parkinson merupakan penyakit yang pertama kali dijelaskan oleh Dr. James Parkinson pada tahun 1817 dengan istilah kelumpuhan gemetar atau “*shaking palsy*”. Beliau menjelaskan tentang sebuah penyakit yang mempunyai ciri khas gejala tremor, kekakuan, dan gangguan dalam cara berjalan yang disebutnya *paralysis agitans* (York, 2017 dalam Setianto *et al.*, 2023:2).

Parkinson adalah jenis penyakit yang ditandai dengan hilangnya neuron dopaminergik pada bagian *substantia nigra pars compacta* (SNC). Neuron dopaminergik berfungsi untuk menghasilkan dopamin. Dopamin merupakan sebuah neurotransmitter yang bertanggung jawab untuk mengirimkan pesan yang mengordinasikan gerakan otot normal

(Patel, 2014 dalam Setianto *et al.*, 2023:6). Penyakit Parkinson adalah penyakit neurodegeneratif progresif kronis yang ditandai oleh gejala motorik dan non-motorik. Gejala motorik Parkinson meliputi tremor saat istirahat, kekakuan, dan bradikinesia. Gejala non-motorik meliputi gangguan tidur, depresi, dan perubahan kognitif. (DeMaagd *et al.*, 2015). Timbulnya gejala bisa memakan waktu bertahun-tahun dan kebanyakan orang hidup selama bertahun-tahun meskipun terkena penyakit tersebut. *Parkinsonism* adalah istilah yang digunakan untuk menggambarkan sekelompok gejala gangguan saraf yang menyebabkan gangguan gerakan seperti yang terdapat pada penyakit Parkinson seperti tremor, gerakan yang lambat dan kaku. (Mahadewa, 2022).

## 2. Obat Penyakit Parkinson

Terapi farmakologis dimulai ketika pasien mengalami gangguan fungsional. Pengobatan tergantung pada usia dan gejala yang ingin dikontrol pasien. Pada awal terkena penyakit Parkinson, beberapa pasien umumnya mencari perawatan untuk tremor seperti obat golongan antikolinergik yang telah menunjukkan hasil yang baik untuk meminimalkan tremor (Orayj, *et al.*, 2021). Menurut Dipiro *et al.* (2020) penggolongan obat untuk Parkinson digolongkan menjadi 6 yaitu:

### 2.1 Carbidopa dan Levodopa (L-dopa).

Levodopa adalah prekusor langsung dopamine, obat ini merupakan obat yang paling efektif untuk pengobatan simptomatis penyakit Parkinson. Obat ini berkerja dengan diserap oleh sel-sel saraf otak untuk kemudian diubah menjadi dopamin. L-dopa dapat membantu memperbaiki kemampuan gerak pasien Parkinson. L-dopa dikombinasikan dengan Carbidopa yang berfungsi untuk mencegah L-dopa memproduksi dopamin di luar otak. Carbidopa membantu meminimalisir gejala samping yang mungkin ditimbulkan dari pengobatan dengan Levodopa seperti pusing, mual, dan kelelahan. Carbidopa dengan dosis 75 mg/hari cukup untuk menghambat aktivitas perifer dekarboksilase asam L-amino, tetapi beberapa pasien bisa membutuhkan lebih banyak lagi. Pasien dengan penyakit Parkinson yang berat, dosis maksimal yang bisa ditoleransi sekitar 1000 sampai 1500 mg/hari (Dipiro *et al.*, 2020).

### 2.2 Antikolinergik.

Obat golongan antikolinergik ini dapat mengatasi gejala Parkinson seperti tremor dan kekakuan tubuh. Cara kerja obat golongan antikolinergik dengan menghambat sistem kolinergik di ganglia basal

dan menghambat aksi neurotransmitter otak atau asetilkolin. Obat ini tidak cocok untuk terapi jangka panjang karena dapat menimbulkan efek samping dan komplikasi seperti sembelit, mulut kering, penglihatan kabur, mengantuk, kebingungan dan gangguan daya ingat. Contoh obat golongan antikolinergik yaitu triheksifidil (artane), benztropine (congentin) (Dipiro *et al.*, 2020).

### **2.3 Amantadine.**

Obat amantadine merupakan obat yang diberikan pada tahapan awal penyakit Parkinson. Amantadine dapat meringankan gejala Parkinson yang ringan dan sifatnya untuk terapi jangka pendek. Selain itu, jika Amantadine dikombinasikan dengan levodopa dapat meningkatkan efektivitas L-dopa di dalam otak serta untuk mengurangi L-dopa yang tidak diinginkan di luar otak. Efek samping yang ditimbulkan dari Amantadine seperti insomnia, halusinasi, kaki bengkak, kulit berubah jadi keunguan dan terdapat bitnik, serta sulit berkonsentrasi. Amantadine *immediate release* biasanya diberikan 300 mg/hari dalam dosis terbagi. (Dipiro *et al.*, 2020).

### **2.4 Inhibitor Monoamine Oxidase B (MAO-B).**

Inhibitor MAO-B di otak dapat mengganggu degradasi dopamin dan menghasilkan aktivitas dopaminergik. Obat golongan ini telah diselidiki memiliki sifat neuroprotektif dan dapat digunakan bagi penderita Parkinson stadium awal dengan gejala yang masih ringan. Obat ini tergolong aman daripada obat-obat lainnya. Efek samping yang ditimbulkan dari obat golongan MAO-B yaitu sakit kepala, sakiti perut, mual, tekanan darah meningkat dan gangguan tidur/insomnia. Contoh obat golongan MAO-B antara lain rasagiline (azilect), safinamide (xadago), selegiline (eldepryl) (Dipiro *et al.*, 2020).

### **2.5 Inhibitor Catechol-O-Methyltransferase (COMT).**

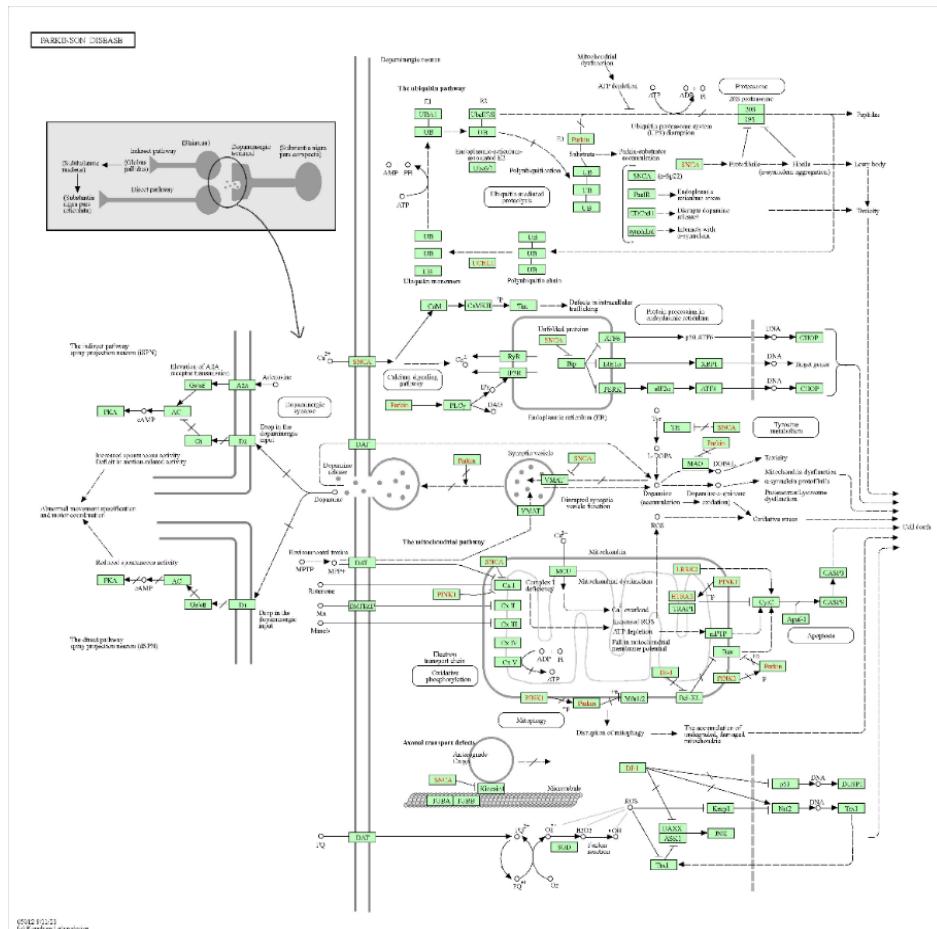
Inhibitor COMT bekerja dengan menambah durasi efek L-dopa dengan cara memblokir COMT yang dapat merusak dopamin atau degradasi dopamin. Obat ini biasa diresepkan untuk penderita penyakit Parkinson stadium lanjut. Obat ini kadang dikombinasikan dengan L-dopa atau Carbidopa, namun terkadang juga tidak dikombinasikan. Contoh golongan obat inhibitor COMT seperti entacapone dan tolcapone untuk membantu meredakan gejala yang muncul. Risiko hepatotoksitas obat tolcapone yang membuat pasien lebih memilih entacapone karena dianggap berkhasiat secara klinik dapat mengelola fluktuasi motorik (Dipiro *et al.*, 2020).

## 2.6 Agonis Dopamin.

Obat golongan agonis dopamin memiliki mekanisme kerja yang menyerupai efek dopamin dalam tubuh, biasanya obat ini juga dikombinasikan dengan L-dopa untuk menurunkan dosis L-dopa. Cara kerja obat golongan agonis dopamine berdasarkan beberapa mekanisme yaitu meningkatkan sintesis atau kadar dopaminergik di sistem saraf pusat, menstimulasi reseptor dopaminergik secara langsung dan selektif, menghentikan penguraian dopaminergic oleh enzim monoaminoksidase B, menstimulasi pelepasan DA di ujung saraf dan menghambat penarikan kembalinya di ujung saraf. Contoh obat golongan agonis dopamine yaitu bromokriptin (parlodel), pergolida (permax), ropirinol, pramipeksol (mirapex), dan apomorfina. Efek samping dari obat ini yaitu tubuh merasa lelah, pusing, kebingungan dan halusinasi (Tan dan Rahardja, 2015).

## 3. Patofisiologi

Patofisiologi Parkinson ditandai dengan hilangnya neuron dopaminergik di otak tengah yang terletak di bagian paling atas batang otak bernama *Substansia Nigra pars compacta* (SNc) di badan Lewy yang mengandung  $\alpha$ -synuclein. Penurunan kognitif, dalam bentuk penurunan eksekutif, penurunan visuospatial dan memori, serta demensia, yang merupakan aspek non-motorik dari penyakit Parkinson. Neurodegenerasi Parkinson tidak terbatas hanya pada neuron dopaminergik di SNc, tetapi juga memengaruhi sel-sel di daerah otak lain yang saling berhubungan. Pada fase awal, kerusakan terjadi pada sistem saraf otonom perifer dan atau sistem penciuman, kemudian patologi menyebar ke sistem saraf pusat lalu ke bawah batang otak hingga memengaruhi SNc (Suharti, 2020). Jalur patofisiologi Parkinson pada KEGG pathway yang melibatkan protein-protein target ditunjukkan pada gambar 18. Terdapat empat jalur yang memengaruhi patofisiologi Parkinson antara lain, jalur *dopamin metabolism*, jalur *mitophagy*, jalur *ubiquitin proteasome system*, dan jalur *apoptosis*.

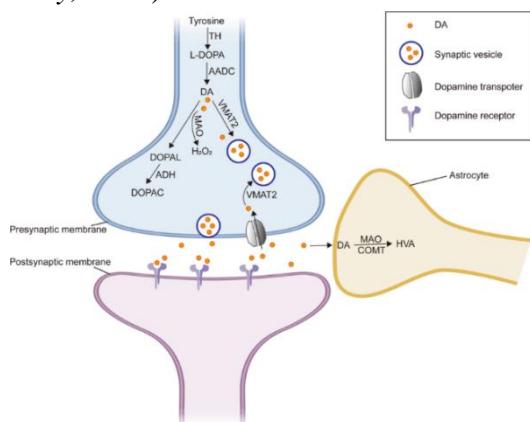


Gambar 18. Jalur patofisiologi Parkinson di KEGG pathway (KEGG Pathway, 2023)

### 3.1 Jalur Dopamine Metabolism.

Dopamin adalah neurotransmitter monoamine utama di otak yang memiliki peran penting dalam fungsi otak yang lebih tinggi. Patofisiologi Parkinson melibatkan interaksi cacat mitokondria dan kelainan metabolisme dopamin (DA). Jalur sinaps dopaminergik adalah jalur neurotransmitter yang paling berpengaruh dalam patogenesis Parkinson. Dopamin disintesis dalam neuron dopaminergik dari tirosin melalui levodopa menjadi dopamin oleh *dopa decarboxylase* (DDC). Kemudian diangkut ke vesikel sinaptik melalui *vesicular amine transporter 2* (VMAT2 atau SLC18A2). Dopamin dilepaskan ke celah sinaptik melalui eksositosis, dan *synaptic vesicle glycoprotein 2C* (SV2C) sinaptik juga terlibat. Sinyal tersebut kemudian ditransduksi oleh *D(1A) dopamine receptor* (DRD 1), *D(2) dopamine receptor* (DRD2), *D(3) dopamine receptor* (DRD3), *D(4) dopamine receptor*

(DRD4) dan *D(1B) dopamine receptor* (DRD5) pada neuron postsinaptik atau sel glial. Pengambilan kembali dopamin difasilitasi melalui transporter dopamin *solute carrier family 6* (SLC6A3) kembali ke neuron presinaptik, dimana ia dikemas ulang menjadi vesikel untuk pelepasan berikutnya atau dimetabolisme oleh MAO-B dan COMT (Redensek *et al.*, 2019). Jalur *dopamine metabolism* melibatkan protein-protein seperti *synapctic vesicular amine transporter* (SLC18A2), *synaptic vesicle glycoprotein 2C* (SV2C), *alpha-synuclein* (SNCA), *tyrosine 3-monooxygenase* (TH), *amine oxidase [flavin-containing] A* (MAOA), *E3 ubiquitin-protein ligase parkin* (PRKN), dan *catechol O-methyltransferase* (COMT) ditunjukkan pada gambar 23 (KEGG Pathway, 2023).

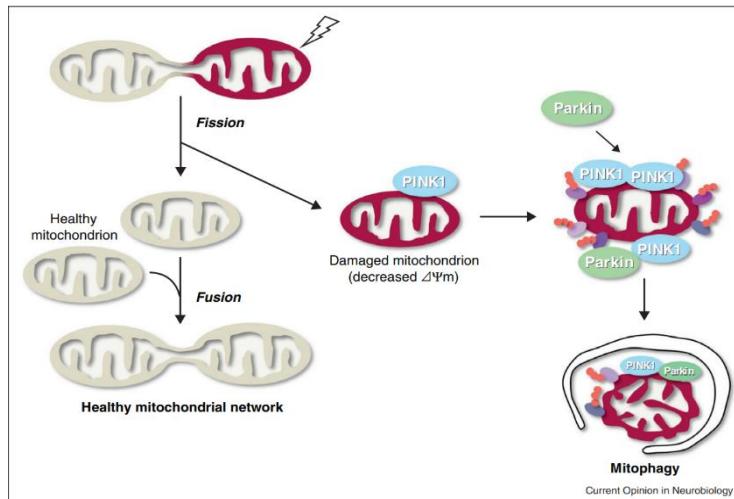


Gambar 19. *Dopamine metabolism pathway* (Xu *et al.*, 2022)

### 3.2. Jalur Mitophagy.

Mitofagi adalah jenis autofagi selektif yang menarget mitokondria. Autofagi ialah mekanisme alami sel dalam menghilangkan komponennya yang tidak lagi diperlukan. Jalur *autophagy-lysosomal* atau *mitophagy* adalah jalur yang terjadi peristiwa fusi dan fisi mitokondria yang diperlukan dalam pemeliharaan mitokondria yang sehat. Fusi mitokondria memiliki peran memfasilitasi pertukaran komponen internal seperti salinan genom mitokondria, protein pernapasan, dan produk metabolisme. Fisi mitokondria dapat berperan dalam menghilangkan mitokondria disfungsi dengan potensi membran mitokondria yang berkurang, melalui jalur mitophagy (Imai *et al.*, 2011). Jalur *mitophagy* melibatkan tiga protein dan gen yaitu *serine/threonine-protein kinase* (PINK1), PRKN, dan *mitofusin-1* (MFN1), seperti ditunjukkan pada gambar 20. PINK1 memiliki waktu paruh pendek pada mitokondria yang sehat. Setelah pengurangan mitokondria yang rusak, PINK1 distabilkan pada membran luar

mitokondria. Akumulasi PINK1 menginduksi translokasi Parkin dari sitosol ke mitokondria, yang mengarah ke ubiquitinasi dan degradasi protein mitokondria yang bergantung pada Parkin. Protein *ubiquitinated* dari mitokondria ditampilkan sebagai oval dengan lingkaran oranye kecil (Imai *et al.*, 2011).

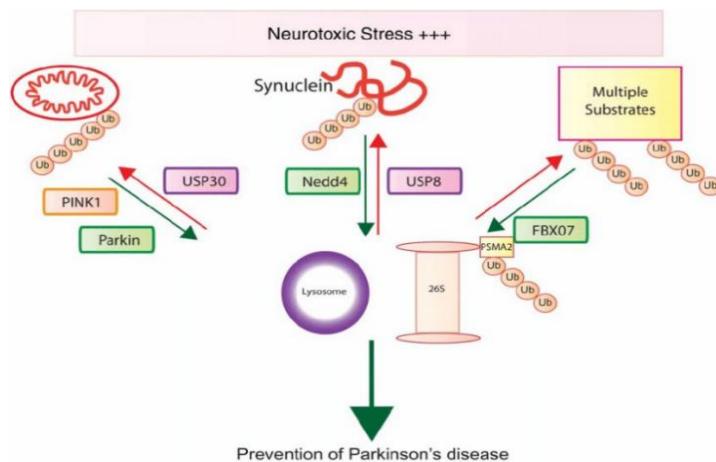


Gambar 20. *Mitophagy pathway* (Imai *et al.*, 2011)

### 3.3 Jalur Ubiquitin Proteasome System.

Jalur *ubiquitin proteasome system* menjadi peran sentral dalam kontrol kualitas protein. Dalam kondisi normal, protein yang ditujukan untuk degradasi proteasomal ditandai dengan rantai protein *polyubiquitin-C* (UBC) melalui beberapa putaran reaksi linier yang dikatalisis oleh pengaktifan *ubiquitin*, konjugasi dan enzim pengikat. Reaksi *ubiquitylation* dibalik oleh aksi enzim *deubiquitylating* (DUB), salah satu anggotanya adalah *ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase isozyme L1* (UCHL1). Substrat protein *ubiquitinated* didegradasi oleh kompleks proteasom 26S dan ubiquitin didaur ulang melalui aktivitas enzim DUB. Energi dalam bentuk ATP dibutuhkan untuk menggerakkan *ubiquitin proteasome system* (UPS). Perubahan terkait usia, stres eksogen, perubahan mitokondria, dan mutasi genetik terkait Parkinson pada Parkin, UCHL1, dan  $\alpha$ -synuclein dapat memicu gangguan pada UPS dan dapat mengakibatkan akumulasi agregat protein atau perantara protein abnormal yang dapat secara langsung merusak saraf bertahan hidup. Badan lewy diperkirakan terbentuk sebagai hasil dari upaya sel untuk menyerap protein abnormal ini. Peningkatan pelipatan ulang protein oleh pendamping seperti Hsp70 dan pembersihan agregat protein melalui stimulasi autofagi dapat

membantu mengurangi disfungsi UPS. Strategi tersebut mungkin menawarkan pendekatan inovatif dalam pengobatan Parkinson. Penemuan mutasi pada gen  *$\alpha$ -synuclein*, yang mengkodekan protein dalam agregat Parkinson, bersama dengan mutasi pada gen yang mengkode UBC molekul pengatur, termasuk *serine/threonine-protein kinase* (PINK1), Parkin, memberikan dasar molekuler dari gangguan pensinyalan ubiquitin pada Parkinson seperti ditunjukkan pada gambar 21 (Walden *et al.*, 2017). Jalur ubiquitin proteasome system melibatkan beberapa protein dan gen seperti UB (UBC), UCHL1, *ubiquitin-conjugating enzyme E2 L3* (UBE2L3), PRKN, SNCA, *prosaposin receptor* (GPR37), *septin-5* (SEPTIN5), *synphilin-1* (SNCAIP), 26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 14 (PSMD14), dan *proteasome subunit alpha-type 8* (PSMA8) (KEGG Pathway, 2023).



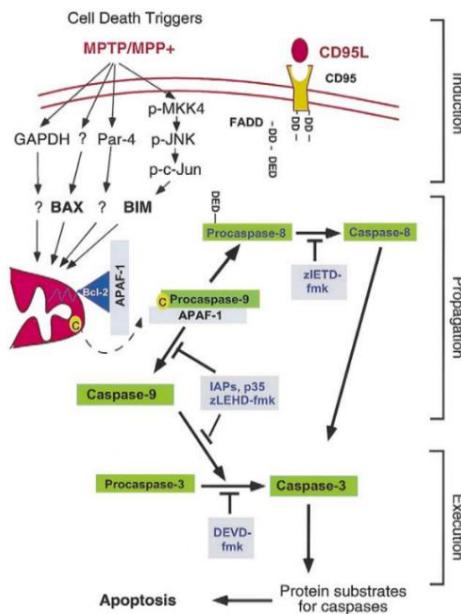
Gambar 21. *Ubiquitin proteasome system pathway* (Walden *et al.*, 2017)

### 3.4 Jalur Apoptosis.

*Apoptosis* adalah mekanisme utama hilangnya neuron pada penyakit Parkinson, yang dibuktikan dengan identifikasi fragmentasi DNA dan perubahan kromatin *apoptosis*. Pada manusia menunjukkan bahwa neuron dopaminergik mati oleh *apoptosis* pada penyakit Parkinson. *Apoptosis* dimediasi oleh sejumlah CASP inisiator dan eksekutor, dan terjadi melalui jalur intrinsik atau ekstrinsik. Aktivasi CASP mengarah pada fitur morfologi karakteristik *apoptosis*, seperti pembelahan DNA dan fragmentasi berikutnya (Schulz *et al.*, 2001). Jalur *apoptosis* melibatkan beberapa protein dan gen seperti *Parkinson disease protein 7* (PARK7), *bcl-2-like protein 1* (BCL2L1), PINK1, PRKN, *apoptosis regulator BAX* (BAX), *heat shock protein 75 kDa* (TRAP1), *serine protease mitochondrial* (HTRA2), *leucine-*

*rich repeat serine-protein kinase 2 (LRRK2), caspase-9 (CASP9), caspase-3 (CASP3), sodium-dependent dopamine transporter (SLC6A3), death domain-associated protein 6 (DAXX), mitogen-activated protein kinase kinase kinase 5 (MAP3K5), dan mitogen-activated protein kinase 8 (MAPK8) (KEGG Pathway, 2023). Faktor proapoptosis seperti BAX, telah terlibat dalam kematian sel saraf pada penyakit Parkinson. Bentuk Parkinson yang diturunkan dikaitkan dengan mutasi pada gen yang terkait dengan fungsi mitokondria, seperti PRKN, LRRK2, PINK1, dan PARK7 seperti yang ditunjukkan pada gambar 22.*

CASP3 adalah sebuah efektor apoptosis pada hewan percobaan dan kultur sel model penyakit Parkinson. Dalam SNc dari pasien Parkinson jumlah neuron CASP3-positif aktif meningkat dibandingkan dengan kontrol yang cocok dengan usia yang sehat, namun jumlah total CASP3 yang diekspresso neuron di SNc pasien Parkinson menurun. Hal ini menunjukkan bahwa neuron yang mengekspresikan CASP3 lebih sensitif terhadap proses patologis daripada yang tidak mengekspresikan protein (Schulz *et al.*, 2001).



Gambar 22. *Apoptosis pathway* (Schulz *et al.*, 2001)

#### D. Protein dan Gen Target

Protein adalah kelompok molekul biologis yang paling beragam dan sangat penting untuk struktur dan fungsi sel. Gen adalah unit fungsional, yang mengandung rangkaian DNA pengkode, rangkaian

DNA pengatur nonkode, dan intron (Alberts *et al.*, 2002). Protein dan gen target yang diprediksi menjadi target kerja patofisiologi Parkinson dalam penelitian ini meliputi 4 jalur yaitu antara lain jalur *dopamine metabolism*, jalur *mitophagy*, jalur *ubiquitin proteasome system*, dan jalur *apoptosis*. Jalur *dopamine metabolism* melibatkan protein-protein dan gen seperti SLC18A2, SV2C, SNCA, TH, MAOA, PRKN, COMT, DDC, DRD1, DRD2, DRD3, DRD4, dan DRD5. Jalur *mitophagy* melibatkan tiga protein dan gen yaitu PINK1, PRKN, dan MFN1. Jalur *ubiquitin proteasome system* melibatkan beberapa protein dan gen seperti UBC, UCHL1, UBE2L3, GPR37, SEPTIN5, SNCAIP, PSMD14, PSMA8, PRKN dan SNCA. Jalur *apoptosis* melibatkan beberapa protein dan gen meliputi PARK7, BCL2L1, BAX, TRAP1, HTRA2, LRRK2, SLC6A3, DAXX, MAP3K5, MAPK8, CASP9, CASP3, PINK1 dan PRKN. Protein dan gen target dalam penelitian ini diperoleh dari KEGG pathway, GeneCards, dari jurnal penelitian (Tabel 1).

**Tabel 1. Protein target pada Parkinson**

| Simbol gen | Nama Protein/Gen                            | Deskripsi Singkat  |
|------------|---|--|
| SLC18A2    | <i>Synaptic vesicular amine transporter</i> | Gen ini terlibat dalam transpor vesikular neurotransmitter amino biogenik ke dalam vesikel sinaptik. Memompa monoamina sitosol termasuk dopamin, norepinefrin, serotonin, dan histamin ke dalam vesikel sinaptik (NCBI, 2023).   |
| SV2C       | <i>Synaptic vesicle glycoprotein 2C</i>     | Protein yang berperan dalam kontrol sekresi yang diatur dalam sel saraf dan endokrin, meningkatkan neurotransmisi frekuensi rendah secara selektif. Mengatur fusi vesikel secara positif dengan mempertahankan kumpulan vesikel sekretorik yang siap dilepaskan (UniProt, 2023). |
| SNCA       | <i>Alpha-synuclein</i>                      | Protein neuron yang berperan dalam aktivitas sinaptik seperti pelepasan neurotransmitter, serta untuk perkembangan normal fungsi kognitif, penonaktifan dapat menyebabkan gangguan memori kerja (STRING, 2023).  |
| TH         | <i>Tyrosine monoxygenase</i>                | 3- Gen ini berperan penting dalam fisiologi neuron adrenergik. Mengkatalisis konversi <i>L-tirosin</i> menjadi <i>L-dihidroksifenilalanin</i> ( <i>L-Dopa</i> ) (UniProt, 2023).   |
| MAOA       | <i>Amine oxidase [Flavin Containing] A</i>  | Gen yang mengkode enzim mitokondria yang mengkatalisis deaminasi oksidatif amina, seperti dopamin, norepinefrin, dan serotonin (NCBI, 2023).   |

| Simbol gen | Nama Protein/Gen                           | Deskripsi Singkat  |   |
|------------|--|--|---|
| PRKN       | <i>E3 ubiquitin-protein ligase parkin</i>  | Protein yang dikodekan adalah komponen kompleks <i>ligase ubiquitin multiprotein E3</i> yang memediasi penargetan protein substrat untuk degradasi proteasomal. Mutasi pada gen ini diketahui menyebabkan penyakit Parkinson dan penyakit Parkinson remaja autosomal resesif (NCBI, 2023). |   |
| COMT       | <i>Catechol O-methyltransferase</i>        | Mengkatalisis metilasi orto sehingga penonaktifan, neurotransmitter katekolamin dan hormon katekol, memperpendek waktu paruh biologis obat neuroaktif tertentu, seperti L-DOPA, alfa-metil DOPA, dan isoproterenol (STRING, 2023).   |   |
| DDC        | <i>Aromatic-L-amino-acid decarboxylase</i> | Protein yang dikodekan mengkatalisis dekarboksilasi L-3,4-dihydroxyphenylalanine (DOPA) menjadi dopamin, L-5-hydroxytryptophan menjadi serotonin dan L-tryptophan menjadi tryptamine. Cacat pada gen ini menyebabkan defisiensi dekarboksilase asam L-amino aromatik (AADCD) (NCBI, 2023). |   |
| DRD1       | <i>D(1A) receptor</i>                      | <i>dopamine</i>  | Gen ini mengkode subtipe D1 dari reseptor dopamine yang merupakan reseptor dopamin paling melimpah di sistem saraf pusat. Reseptor berpasangan G-protein ini menstimulasi adenilat siklase dan mengaktifkan protein kinase yang bergantung pada AMP siklik. Reseptor D1 mengatur pertumbuhan dan perkembangan saraf, memediasi beberapa respons perilaku, dan memodulasi peristiwa yang dimediasi reseptor dopamin D2 (NCBI, 2023). |
| DRD2       | <i>D(2) dopamine receptor</i>              |  | Reseptor dopamin yang aktivitasnya dimediasi oleh protein G yang menghambat adenilat siklase (STRING, 2023).  |
| DRD3       | <i>D(3) dopamine receptor</i>              |  | Gen ini mengkodekan subtipe D3 dari lima reseptor dopamin (D1-D5). Aktivitas reseptor subtipe D3 dimediasi oleh protein G yang menghambat adenilat siklase (NCBI, 2023).  |
| DRD4       | <i>D(4) dopamine receptor</i>              |  | Reseptor dopamin yang bertanggung jawab atas sinyal saraf di sistem mesolimbik otak, area otak yang mengatur emosi dan perilaku kompleks. Diaktifkan oleh dopamin, tetapi juga oleh epinefrin dan norepinefrin, dan oleh berbagai agonis dan obat sintetik (Wang <i>et al.</i> , 2017).   |
| DRD5       | <i>D(1B) receptor</i>                      | <i>dopamine</i>  |   |
|            | <i>Serine/threonine-protein kinase</i>     | <i>PINK1</i>   |   |

| Simbol gen | Nama Protein/Gen  | Deskripsi Singkat   |
|------------|---|---|
| PINK1      | <i>mitochondria</i>                                     | Reseptor dopamin yang aktivitasnya dimediasi oleh protein G yang mengaktifkan adenilik siklase (STRING, 2023).  |
| MFN1       | <i>Mitofusin-1</i>                                      | Melindungi terhadap disfungsi mitokondria selama stres seluler dengan memfosforilasi protein mitokondria, serta terlibat dalam pembersihan mitokondria yang rusak melalui autophagy selektif (mitofag) dengan memediasi aktivasi dan translokasi PRKN (Koyano <i>et al.</i> , 2014).  |
| UBC        | <i>Polyubiquitin-C</i>                                  | GTPase membran luar mitokondria yang memediasi pengelompokan dan fusi mitokondria (Cao <i>et al.</i> , 2017).   |
| UCHL1      | <i>Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase isozyme L1</i> | Protein yang dikodekan adalah prekursor poliubiquitin. Gen ini mewakili gen ubiquitin yaitu ubiquitin C (NCBI, 2023). Protein yang dikodekan oleh gen ini termasuk dalam keluarga peptidase C12. Enzim ini adalah protease tiol yang menghidrolisis ikatan peptida pada glisin terminal-C ubiquitin. Gen ini secara khusus diekspresikan dalam neuron dan sel sistem neuroendokrin difus. Mutasi pada gen ini mungkin berhubungan dengan penyakit Parkinson (NCBI, 2023). |
| UBE2L3     | <i>Ubiquitin conjugating enzyme E2 L3</i>               | Gen ini mengkodekan anggota keluarga enzim konjugasi ubiquitin E2. Modifikasi protein dengan ubiquitin merupakan mekanisme seluler penting untuk menargetkan protein abnormal atau berumur pendek untuk degradasi (STRING, 2023).   |
| GPR37      | <i>Prosaposin receptor</i>                              | Gen ini mengkodekan anggota keluarga reseptor berpasangan protein G. Protein yang dikodekan mengandung tujuh domain transmembran dan ditemukan di membran sel dan retikulum endoplasma. Reseptor berpasangan protein G terlibat dalam menerjemahkan sinyal luar menjadi efek intraseluler yang dimediasi protein G. Produk gen ini berinteraksi dengan Parkin dan terlibat dalam penyakit Parkinson remaja (STRING, 2023).  |
| SEPTIN5    | <i>Septin-5</i>   | GTpase sitoskeletal pembentuk filamen dan mungkin berperan dalam sitokinesis, serta sekresi trombosit (STRING, 2023).   |
| SNCAIP     | <i>Synphilin-1</i>                                      | Gen ini mengkodekan protein yang mengandung beberapa domain interaksi protein-protein. Protein yang dikodekan berinteraksi dengan <i>alpha-synuclein</i> di jaringan saraf dan mungkin berperan   |
| PSMD14     | <i>26S Proteasome non-ATPase regulatory subunit 14</i>  |   |
| PSMA8      | <i>Proteasome alpha-type 8 subunit</i>                  |   |

| <b>Simbol gen</b> | <b>Nama Protein/Gen</b>            | <b>Deskripsi Singkat</b>  |
|-------------------|------------------------------------|---|
| PARK7             | <i>Parkinson protein 7 disease</i> | dalam pembentukan inklusi sitoplasma dan degenerasi saraf. Mutasi pada gen ini telah dikaitkan dengan penyakit Parkinson (NCBI, 2023).  |
| BCL2L1            | <i>Bcl-2-like protein 1</i>        | Komponen proteasome 26S, kompleks multiprotein yang terlibat dalam degradasi protein ubiquitinasi yang bergantung pada ATP. Kompleks ini memainkan peranan penting dalam pemeliharaan homeostasis protein dengan menghilangkan protein yang salah lipatan atau rusak, yang dapat mengganggu fungsi seluler, dan dengan menghilangkan protein yang fungsinya tidak lagi diperlukan. Proteasome berpartisipasi dalam berbagai proses seluler, termasuk perkembangan siklus sel, apoptosis, atau perbaikan kerusakan DNA. Subunit PSMD14 adalah metaloprotease yang secara khusus membelah (STRING, 2023). |
| BAX               | <i>Apoptosis regulator BAX</i>     | Komponen spermatoproteasome, suatu proteasome yang secara khusus ditemukan di testis yang mendorong degradasi histon yang bergantung pada asetilasi, sehingga berpartisipasi secara aktif dalam pertukaran histon selama spermatogenesis. Proteasome adalah kompleks protein yang mendegradasi protein yang tidak dibutuhkan atau rusak melalui proteolisis, suatu reaksi kimia yang memutus ikatan peptida (STRING, 2023).   |
| TRAP1             | <i>Heat shock protein 75 kDa</i>   | Protein multifungsi dengan fungsi molekuler kontroversial yang berperan penting dalam perlindungan sel terhadap stres oksidatif dan kematian sel. Sebagai protein deglikase, memperbaiki protein tergliksasi metilglioksal dan glioksal, dan masing-masing melepaskan protein yang diperbaiki dan laktat atau glikolat (Matsuda <i>et al.</i> , 2017).  |

| Simbol gen | Nama Protein/Gen   | Deskripsi Singkat  |
|------------|--|--|
| HTRA2      | <i>Serine protease mitochondrial</i>                         | (STRING, 2023). Protein ini berperan dalam proses apoptosis mitokondria. Dalam kondisi normal, BAX sebagian besar bersifat sitosol melalui retrotranslokasi konstan dari mitokondria ke sitosol yang dimediasi oleh BCL2L1/Bcl-xL, yang menghindari akumulasi kadar BAX toksik pada membran luar mitokondria (MOM). Pada kondisi stres mengalami perubahan konformasi yang menyebabkan translokasi ke membran mitokondria sehingga terjadi pelepasan sitokrom c sehingga dapat memicu apoptosis (Uniprot, 2023). |
| LRRK2      | <i>Leucine-rich repeat serine/threonine-protein kinase 2</i> |  |
| SLC6A3     | <i>Sodium-dependent dopamine transporter</i>                 | Gen ini mengkode protein pendamping mitokondria yang merupakan anggota keluarga <i>heat shock protein</i> 90 (HSP90). Protein yang dikodekan memiliki aktivitas ATPase dan berinteraksi dengan faktor nekrosis tumor tipe I. Protein ini dapat berfungsi dalam mengatur respons stres seluler (NCBI, 2023).  |
| DAXX       | <i>Death domain-associated protein 6</i>                     | Protease serin yang menunjukkan aktivitas proteolitik terhadap substrat non-spesifik beta-kasein. Protein ini berperan dalam menginduksi kematian sel baik melalui pengikatan langsung dan penghambatan protein BIRC yang menyebabkan peningkatan aktivitas caspase (STRING, 2023).  |
| MAP3K5     | <i>Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 5</i>      | Protein ini sebagian besar terdapat di sitoplasma tetapi juga berhubungan dengan membran luar mitokondria. Mutasi pada gen ini telah dikaitkan dengan penyakit Parkinson-8 (NCBI, 2023).   |
| MAPK8      | <i>Mitogen-activated protein kinase 8</i>                    | Gen ini mengkodekan transpor dopamin yang merupakan anggota keluarga transporter neurotransmitter yang bergantung pada natrium dan klorida. Variasi dalam jumlah pengulangan dikaitkan dengan epilepsi idiopatik, gangguan hiperaktif defisit perhatian, ketergantungan pada alkohol dan kokain, kerentanan terhadap penyakit Parkinson dan perlindungan terhadap ketergantungan nikotin (NCBI, 2023).   |
| CASP3      | <i>Caspase-3</i>   |  |
| CASP9      | <i>Caspase-9</i>   | Gen ini mengkode protein multifungsi yang berada di berbagai lokasi di nukleus dan sitoplasma. Protein ini berinteraksi dengan berbagai macam protein-protein  |

| Simbol gen | Nama Protein/Gen   | Deskripsi Singkat   |
|------------|--|---|
|            |  | yang dikodekan berfungsi sebagai penekan transkripsi kuat yang berikan dengan faktor transkripsi serta dapat mengatur apoptosis (NCBI, 2023).   |
|            | Serin/treonin kinase   | merupakan komponen penting dari jalur transduksi sinyal MAP kinase. Protein ini memiliki peran penting dalam rangkaian respon seluler yang ditimbulkan oleh perubahan lingkungan, serta berperan penting dalam jalur transduksi sinyal apoptosis melalui aktivasi <i>caspase</i> yang bergantung pada mitokondria (UniProt, 2023).        |
|            | Kinase ini diaktifkan oleh berbagai rangsangan sel, dan menargetkan faktor transkripsi spesifik, sehingga dapat memediasi ekspresi gen awal sebagai respons terhadap rangsangan sel (UniProt, 2023). |   |
|            |  | Protein yang memiliki peran sentral dalam fase eksekusi apoptosis sel. Terlibat dalam kaskade aktivasi caspases yang bertanggung jawab atas pelaksanaan apoptosis (STRING, 2023).   |
|            |  | Gen ini mengkodekan anggota keluarga protease asam sistein-aspartat ( <i>caspase</i> ). Terlibat dalam kaskade aktivasi <i>caspases</i> yang bertanggung jawab atas pelaksanaan apoptosis. Pengikatan <i>caspase</i> -9 ke Apaf-1 menyebabkan aktivasi protease yang kemudian membelah dan mengaktifkan <i>caspase</i> -3 (STRING, 2023). |

\*Simbol gen dan nama protein didapatkan dari *web server KEGG pathway* dan *UniProt*. Deskripsi singkat dikutip dari *web server STRING*, NCBI dan jurnal penelitian (Tabel 1).

### E. Network Pharmacology

Farmakologi adalah ilmu yang mempelajari tentang bagaimana obat bekerja di dalam tubuh. Kemajuan teknologi dalam bidang sistem biologi memunculkan pendekatan baru yaitu jejaring farmakologi atau *network pharmacology* yang pertama kali dikemukakan oleh Li *et al.* (2014). *Network pharmacology* memberikan prinsip-prinsip teori jaringan dan sistem biologi yang telah dianggap sebagai paradigma berikutnya dalam penemuan obat. Selain itu, pendekatan farmakologi jaringan telah digunakan untuk mempelajari jalur "senyawa-protein/gen-penyakit", yang mampu menggambarkan kompleksitas

antara sistem biologis, obat-obatan, dan penyakit dari perspektif jaringan.

*Network pharmacology* adalah suatu metode pendekatan baru yang digunakan untuk mengetahui interaksi antara tanaman herbal, kandungan senyawa kimia tanaman, protein target, dan penyakit. Pendekatan berbasis *network pharmacology* telah ditegakkan dengan memperbarui paradigma penelitian dari "satu penyakit-satu target-satu obat" menjadi "jaringan obat-target-penyakit". Penentuan senyawa yang menargetkan protein terkait dengan penyakit tertentu sangat penting untuk memahami mekanisme molekuler dalam desain obat. Obat sintetis yang mengandung satu senyawa aktif dengan satu protein target suatu penyakit tidak dapat mengatasi penyakit kompleks yang menargetkan banyak protein sekaligus. Hal ini berbeda dengan ramuan bahan alam yang dalam sekaligus dapat melibatkan banyak komponen senyawa dan protein target. Tanaman obat juga lebih tepat dan lebih aman digunakan untuk penyakit metabolismik dan degeneratif (Azizah, 2017).

*Network pharmacology* telah diterapkan pada penelitian yang dilakukan Shen *et al.* (2022) menyatakan bahwa *network pharmacology* digunakan untuk mengeksplorasi mekanisme farmakodinamik pada ramuan Yiguanjian (YGJ) terhadap penyakit Parkinson melalui penggabungan spektrum hubungan saraf pusat (otak dalam) dan sistem periferal (otak luar). Hasil penelitian menunjukkan terdapat 79 komponen aktif dan 128 target potensial YGJ yang berpotensi cocok untuk pengobatan Parkinson. Ramuan YGJ memiliki efek potensial pada sistem perifer dan menghambat apoptosis neuron melalui pengaturan jalur PI3K-Akt.

## F. Software dan Web Server

### 1. Software

Perangkat lunak yang digunakan pada penelitian ini yaitu *Cytoscape*. *Cytoscape* menyediakan fungsionalitas dasar untuk membangun, memvisualisasikan, tata letak, dan menganalisis jaringan, mengintegrasikan jaringan secara visual dengan profil ekspresi, fenotipe, dan keadaan molekul lainnya, serta untuk menautkan jaringan ke database anotasi fungsional (Zhao *et al.*, 2018). *Cytoscape* awalnya dirancang untuk penelitian biologi, namun sekarang ini adalah platform umum untuk analisis dan visualisasi jaringan yang kompleks. Distribusi

inti *Cytoscape* menyediakan serangkaian fitur dasar untuk integrasi, analisis, dan visualisasi data.

*Cytoscape* merupakan perangkat lunak yang digunakan untuk memvisualisasikan jaringan interaksi molekuler dan jalur biologis dan mengintegrasikan jaringan ini dengan anotasi, profil ekspresi gen, dan data status lainnya. Aplikasi tersedia untuk analisis profil jaringan dan molekuler, tata letak baru, dukungan format file tambahan, pembuatan skrip, dan koneksi dengan database. Fungsi utama *cytoscape* adalah untuk mengintegrasikan suatu data acak menjadi sebuah gambaran grafis. Perangkat ini juga dilengkapi dengan menu seleksi dan filter juga metode eksternal yang diimplementasikan sebagai plugin terpisah yang bisa digunakan untuk mengontrol tampilan jaringan (Hasanah, 2018).

## 2. Web Server

### 2.1 KNApSAcK.

KNApSAcK (<http://www.knapsackfamily.com/KNApSAcK/>) adalah suatu *web server* basis data yang menggambarkan hubungan antara spesies dengan metabolitnya. *Web server* ini menyediakan data metabolit dari spesies tanaman. KNApSAcK menyimpan 50.048 data metabolit yang berasal dari 20.741 spesies tanaman, menghasilkan sekitar 101.500 hubungan spesies dan metabolit. (Afendi *et al.*, 2012 dalam Hasanah, 2018). Informasi tentang kandungan kimia tanaman dicari dengan mengisi nama latin dari tanaman berdasarkan *organism* kemudian selanjutnya dihasilkan sejumlah data kandungan kimia tanaman yang dicari.

### 2.2 Pubchem.

*Pubchem* (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) merupakan arsip informasi kimia publik utama yang berfungsi untuk menemukan molekul secara struktural yang mirip dengan senyawa yang sudah diketahui sebelumnya serta dapat digunakan untuk mengidentifikasi senyawa dengan bioaktivitasnya. Selain itu *PubChem* juga berguna untuk menemukan ligan poli farmakologis (multi-target) dan mengidentifikasi target makromolekul baru dari senyawa kimia (untuk memprediksi efek samping obat) (Kim, *et al.*, 2021). Situs ini dikelola dan dikembangkan oleh Institut Kesehatan Nasional Amerika Serikat (NIH). Database yang tersedia pada *PubChem*, dan saling terkait yaitu *Substance*, *Compound*, *BioAssay*. Database *Compound* memuat record zat aktif dari sumber data yang berbeda tentang molekul yang sama

untuk dikumpulkan (Kim *et al.*, 2015). Data yang diambil untuk penelitian ini yaitu dari *BioAssay* dan kode SMILE dari masing-masing.

### 2.3 KEGG Pathway.

*Web server Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG) (<https://www.genome.jp/kegg/pathway.html>) adalah kumpulan database yang berkaitan dengan genom, *pathway* biologi, penyakit, obat dan bahan kimia (Kanehisa *et al.*, 2016). Salah satu fitur nya adalah KEGG *Pathway* berisi pengetahuan tentang interaksi molekuler biologis, dan *jaringan* reaksi, termasuk interaksi protein-protein, pengikatan protein-DNA, interaksi protein-ligan, reaksi biomassa yang dimediasi enzim. Interaksi dalam satu proses atau fungsi biologis tertentu digambar secara manual ke peta jalur (Qiu, 2013).

### 2.4 UniProt.

*Web server UniProt* (<https://www.uniprot.org/>) adalah database urutan protein dan informasi fungsional yang dapat diakses secara bebas dan menyediakan lengkap pada semua data sekuens protein yang diketahui. Uniprot berisi sejumlah besar informasi tentang fungsi biologis protein yang berasal dari literatur dari beberapa organisasi bioinformatika Eropa dan Yayasan di Amerika Serikat (UniProt, 2007). Terdapat empat bagian yaitu UniProtKB (terdiri dari Swiss-Prot, dan TrEMBL), UniParc, dan UniRef. Swiss-Prot terdiri dari urutan protein yang telah dianotasi secara manual. TrEMBL memiliki anotasi otomatis. UniParc adalah database dari urutan protein yang menetapkan pengidentifikasi unik untuk setiap urutan. UniRef terdiri dari klaster urutan protein dari UniProtKB, dan UniParc (Consortium, 2007 dalam Sachdev dan Gupta., 2019). Data yang diambil dari *web server* ini yaitu nama protein, kode gen dan no *entry* yang telah disetujui secara global.

### 2.5 Super-PRED.

Super-PRED (<https://prediction.charite.de/>) adalah *web server* yang memprediksi kode *Anatomical Therapeutic Chemical* (ATC) dan prediksi target molekul kecil atau senyawa, sehingga mendapatkan informasi tentang senyawa untuk proses pengembangan obat. Prediksi ATC dan prediksi target didasarkan pada model pembelajaran mesin, menggunakan model regresi logistik dan sidik jari Morgan dengan panjang 2048. Prediksi target untuk senyawa input dapat dieksekusi di situs Target-Prediction. Senyawa kueri dievaluasi dan diberi skor oleh model pembelajaran mesin, memeringkat setiap kelas ATC dan

mengembalikan kelas dengan skor tertinggi (Super-PRED, 2022). Prediksi protein target dengan menggunakan *web server* Super-PRED, dilakukan eliminasi pada protein yang skor *probability* dan *model accuracy* kurang dari 85% karena skor tersebut cenderung menghasilkan prediksi ATC yang lebih akurat.

## **2.6 STRING.**

*Web server Search Tool for Retrieval of Interacting Genes* (STRING) (<https://string-db.org/>) adalah *web server* yang mengumpulkan dan mengintegrasikan interaksi antar protein atau analisis jaringan *Protein-Protein Interaction* (PPI). (Szklarczyk *et al.*, 2015 dalam Karimizadeh *et al.*, 2019). STRING merupakan database yang berfungsi untuk menemukan kumpulan jaringan protein pada organisme. Selain itu *web server* ini dapat digunakan dalam merancang suatu jaringan baik dalam skala besar maupun skala kecil. Kemudian diimporkan ke *Cytoscape* untuk memvisualisasikan dan menganalisis protein. Skor yang terdapat pada setiap *channels* dimaksudkan untuk mengungkapkan perkiraan kepercayaan pada skala nol hingga satu dari asosiasi protein fungsional yang benar dan semua bukti yang tersedia, serta menunjukkan korelasi antar protein. Skor kepercayaan yang digunakan yaitu diatas 0,900. Interaksi antar protein digambarkan dalam STRING dengan garis pada warna yang berbeda berdasarkan dari tujuh *channels* di atas. Garis dengan warna biru muda menunjukkan *database channel*, garis dengan warna ungu menunjukkan *experiments channel*, garis dengan warna hijau muda menunjukkan *neighborhood channel*, garis dengan warna merah menunjukkan *gene fusion channel*, garis dengan warna biru tua menunjukkan *co-occurrence channel*, garis dengan warna kuning menunjukkan *text mining channel*, garis dengan warna hitam menunjukkan *co-expression channel* (Szklarczyk *et al.*, 2019).

## **2.7 Swiss Target Prediction.**

*Swiss Target Prediction* (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) merupakan *web server* yang digunakan untuk memprediksi secara akurat target molekul bioaktif berdasarkan kombinasi ukuran kesamaan 2D dan 3D dengan ligan yang diketahui. Hasil prediksi dapat dilakukan dalam lima organisme yang bebeda dan memprediksi pemetaan dengan homologi di dalam dan diantara spesies yang berbeda (Gfeller *et al.*, 2014). Prinsip *web server* Swiss Target Prediction ini adalah nilai ambang batasnya yaitu diatas 0,7 menunjukkan kesamaan molekuler

dari struktur kimia senyawa kueri yang dipresentasikan sebagai SMILE, serta terdapat keterangan berwarna hijau berupa *bar probability* yang menunjukkan semakin tinggi nilai *probability* maka semakin akurat prediksi protein target (Saharani *et al.*, 2021).

### 2.8 SEA (*Similarity Ensemble Approach*).

SEA (<https://sea.bkslab.org>) merupakan *web server* yang menghubungkan protein satu sama lain berdasarkan kesamaan kimia diantara ligan terikatnya. Identifikasi target baru telah diterapkan untuk *obat-obatan lama* ataupun bahan alam untuk diprediksi efek samping dan untuk memprediksi potensi indikasi terapi anatomi (ATC) dari obat yang telah disetujui (Wang *et al.*, 2016). Prinsip dari *web server* SEA adalah nilai *Max TC* lebih tinggi dari 0,7 menunjukkan kesamaan molekuler dari struktur kimia senyawa kueri yang dipresentasikan sebagai SMILES, dan telah melalui proses komputasi pada *web server* tersebut dengan protein target, sehingga adanya kesamaan molekuler tersebut dapat diprediksi bahwa senyawa kueri bekerja pada protein target hasil prediksi. *Max TC* merupakan kriteria kesamaan molekuler senyawa dengan target protein yang digunakan pada *web server* ini (Keisser *et al.*, 2007).

### 2.9 DrugCentral.

*DrugCentral* (<https://drugcentral.org/>), merupakan ringkasan obat yang mengintegrasikan struktur, bioaktivitas, peraturan, tindakan farmakologis dan indikasi untuk bahan aktif farmasi (API), mekanisme kerja obat (MoA) yang telah disetujui oleh FDA (Badan Pengawas Obat dan Makanan Amerika Serikat) dan badan pengatur lainnya yaitu Badan Obat Eropa (EMA), dan *Japan Pharmaceutical and Medical Devices Agency* (PMDA) (Ursu *et al.*, 2019).

## G. Landasan Teori

Parkinson adalah penyakit yang ditandai oleh minimnya gerakan, tremor, dan kekakuan. Protein dan gen target yang diprediksi menjadi target kerja patofisiologi Parkinson meliputi empat jalur yaitu antara lain jalur *dopamine metabolism*, jalur *mitophagy*, jalur *ubiquitin proteasome system*, dan jalur *apoptosis*. Jalur *dopamine metabolism* melibatkan protein-protein dan gen seperti SLC18A2, SV2C, SNCA, TH, MAOA, PRKN, COMT, DDC, DRD1, DRD2, DRD3, DRD4, dan DRD5. Jalur *mitophagy* melibatkan tiga protein dan gen yaitu PINK1, PRKN, dan MFN1. Jalur *ubiquitin proteasome system* melibatkan

beberapa protein dan gen seperti UBC, UCHL1, UBE2L3, GPR37, SEPTIN5, SNCAIP, PSMD14, PSMA8, PRKN dan SNCA. Jalur *apoptosis* melibatkan beberapa protein dan gen meliputi PARK7, BCL2L1, BAX, TRAP1, HTA2, LRRK2, SLC6A3, DAXX, MAP3K5, MAPK8, CASP9, CASP3, PINK1 dan PRKN.

Terapi farmakologis untuk penyakit Parkinson terdiri dari beberapa golongan seperti antikolinergik seperti triheksifidil dan benztrapin untuk mengatasi tremor, golongan inhibitor MAO-B seperti rasagiline dan selegiline yang memberikan manfaat simptomatis serta carbidopa atau levodopa yang paling efektif untuk gejala Parkinson seperti komplikasi motorik. Terapi obat-obatan ini menimbulkan efek samping yang mengganggu penderita seperti pandangan kabur, penurunan daya ingat, diskinesia, dan fluktuasi motorik. Pengganti pengobatan dengan minimnya efek samping yaitu menggunakan obat herbal dari alam. Contoh tanaman yang ampuh memiliki kandungan senyawa untuk mengobati Parkinson adalah anggur dan jeruk nipis.

Anggur mengandung antosianin, proantosianidin, polifenol, flavonoid, antosianin, katekin dan stilbene yang dapat memberikan efek neuroprotektif. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Strathearn *et al.* (2014) menyatakan bahwa kandungan senyawa kimia antosianin, proantosianidin, dan polifenol dalam ekstrak biji anggur memiliki aktivitas neuroprotektif dan dapat meringankan neurodegenerasi pada penyakit Parkinson melalui peningkatan fungsi mitokondria serta menekan efek neurotoksik rotenone dalam model kultur sel primer Parkinson. Senyawa flavonoid, antosianin, katekin dan stilbene dalam biji dan kulit dari tanaman anggur juga dapat secara efektif dalam melindungi neuron dopamin dari toksisitas 6-hidroksidopamin (6-OHDA) dan meningkatkan fungsi motorik dalam model *Parkinson disease* 6-OHDA secara *in vivo* (Youssef *et al.*, 2019).

Jeruk nipis mengandung flavonoid yang melimpah, antara lain hesperidin, naringin dan nobiletin sebagai antiparkinson. Senyawa yang terkandung dalam ekstrak kulit jeruk nipis berpotensi dalam pencegahan dan pengobatan penyakit neurodegeneratif seperti penyakit Alzheimer dan Parkinson. Menurut Nakajima (2019) menyatakan bahwa nobiletin yang merupakan flavonoid polimetoksi memiliki aktivitas neuroprotektif. Nobiletin dapat memperbaiki defisit motorik dan kognitif pada model hewan *Parkinson disease* sehingga nobiletin berpotensi menjadi obat baru untuk pengobatan dan pencegahan

penyakit neurodegeneratif. Jeruk nipis mengandung flavonoid yang melimpah, antara lain hesperidin, naringin dan nobiletin. Flavonoid ini telah dilaporkan memiliki berbagai manfaat obat meliputi antioksidan, antimikroba, antiinflamasi, antikanker, aktivitas antidiabetes, dan juga digunakan untuk mengobati penyakit kardiovaskular. Senyawa flavonoid dari jeruk nipis akan menjadi potensi terapi untuk pengobatan kanker dan menghambat efek peradangan (Arulkumar, 2014).

Berdasarkan prinsip-prinsip dan tujuan dari sistem farmakologi, farmakologi jaringan menargetkan beberapa node pada sistem molekul yang saling berhubungan dan menimbulkan suatu keberhasilan efek yang lebih baik dengan efek samping yang sangat minimum dengan mengintegrasikan *in silico* farmakologi (Ochieng *et al.*, 2017). *Network pharmacology* adalah pengobatan farmakologis dimana terdapat dua atau lebih obat secara mekanisme menargetkan modul penyakit kausal yang sama atau 35 jaringan pensinyalan yang saling bergabung dan bekerja secara sinergis pada protein jaringan utama (Nogales *et al.*, 2022). Peneliti akan menguji dan menganalisis berbagai interaksi protein target pada anggur dan jeruk nipis terhadap Parkinson dengan metode *network pharmacology*.

*Network pharmacology* adalah suatu metode pendekatan baru yang digunakan untuk mengetahui interaksi antara tanaman herbal, kandungan senyawa kimia tanaman, protein target, dan penyakit. Pada penelitian yang dilakukan Shen *et al.* (2022) menyatakan bahwa *network pharmacology* digunakan untuk mengeksplorasi mekanisme farmakodinamik pada ramuan Yiguanjian (YGJ) terhadap penyakit Parkinson melalui penggabungan spektrum hubungan saraf pusat (otak dalam) dan sistem periferal (otak luar). Hasil penelitian menunjukkan terdapat 79 komponen aktif dan 128 target potensial YGJ yang berpotensi cocok untuk pengobatan Parkinson. Ramuan YGJ memiliki efek potensial pada sistem perifer dan menghambat apoptosis neuron melalui pengaturan jalur PI3K-Akt.

## H. Keterangan Empiris

Pada penelitian ini keterangan empiris meliputi:

Pertama, terdapat 35 protein-protein target dan gen yang terlibat dalam patofisiologi Parkinson sesuai jalur KEGG *pathway*.

Kedua, terdapat protein-protein target yang diprediksi menjadi target kerja dari senyawa tanaman anggur dan senyawa tanaman jeruk

nipis sebagai antiparkinson yang diprediksi melalui *software* dan yang telah mempunyai interaksi melalui *Pubchem* pada senyawa tanaman anggur dan jeruk nipis.

Ketiga, terdapat profil *network pharmacology* dari kandungan senyawa kimia anggur dan jeruk nipis terhadap protein target Parkinson yang saling berikatan membentuk *network* dan diperoleh dari *software Cytoscape*.