

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sindrom ovarium polikistik atau *Polycystic ovary syndrome* (PCOS) adalah suatu gangguan hormonal yang lazim terjadi pada wanita usia reproduksi yang pada dasarnya merupakan interaksi disfungsi reproduksi dan gangguan metabolisme yang berdampak terhadap kesehatan.^{1,2}

PCOS merupakan gangguan metabolisme dan endokrin yang ditandai dengan anovulasi kronik (menstruasi tidak teratur), hiperandrogenisme, dan morfologi ovarium polikistik.^{3,4}

WHO melaporkan bahwa lebih dari 116 juta wanita (3,4%) di seluruh dunia terkena PCOS. Kondisi ini terjadi pada wanita usia reproduktif sekitar 8-13%, dan hingga 70% kasus tidak terdiagnosis.^{1,5} PCOS dapat terjadi mulai di usia menarche, namun sebagian besar kasus teridentifikasi antara usia 20 dan 30 tahun. Prevalensi PCOS lebih tinggi pada wanita dengan jerawat resisten dan hirsutisme, pasien yang datang dengan temuan ini harus diskruining untuk ketidakteraturan menstruasinya.^{6,7} Prevalensi PCOS dan fenotipenya dipengaruhi oleh kombinasi faktor genetik, lingkungan, dan demografi. Resistensi insulin dan hiperinsulinemia terjadi pada sekitar 65–95% wanita dengan PCOS, dimana resistensi insulin pada umumnya terjadi pada fenotipe A dan B,

diikuti oleh fenotipe C tipe ovulasi (65%) dan fenotipe D tipe non-hiperandrogenisme (38%).⁸

Penelitian Chiaffarino F, *et.al* (2022) menemukan bahwa berdasarkan kriteria diagnostik NIH1990, ESHRE/ASRM 2003, dan AES-PCOS bahwa fenotipe A "PCOS lengkap" paling tinggi (44,8%), diikuti oleh fenotipe D "PCOS non-hiperandrogenik" (19,5%), fenotipe C "PCOS ovulatorik" (16,2%), dan fenotipe B yang mirip dengan fenotipe A tetapi tidak memiliki morfologi ovarium polikistik (14,9%).⁹ Sedangkan Carmina E (2022) yang menggunakan kriteria Rotterdam menemukan prevalensi tertinggi pada fenotipe A (non obes) sekitar 31,2%, diikuti fenotipe C (non obes) 29,7%, fenotipe A (obes) 23,9% dan fenotipe B (obes) 5,9%, namun populasi obesitas memiliki risiko kardiometabolik yang lebih tinggi dibandingkan non obes.¹⁰

PCOS terutama berkaitan dengan ketidakseimbangan hormon, inflamasi kronik tingkat rendah, resistensi insulin, dan hiperandrogenisme, yang akan mengganggu folikulogenesis dan meningkatkan risiko komorbiditas seperti kanker endometrium dan diabetes melitus tipe II.¹¹

Beberapa faktor kunci diketahui mendasari patofisiologi PCOS seperti disregulasi jalur metabolisme glukosa dan asam lemak serta disregulasi hormonal. PCOS adalah penyakit endokrin yang sering dikaitkan dengan fungsi abnormal hormon estrogen dan reseptor estrogen (ESR). Estrogen telah dilaporkan memengaruhi beberapa fungsi ovarium melalui kerja autokrin atau parakrin, yang paling signifikan meningkatkan

efek FSH pada sel granulosa. ESR diekspresikan dalam sel granulosa dan sel theca dalam perkembangan folikel, dimana ESR ovarium yang berubah memiliki peran penting terhadap disfungsi ovulasi seperti pada PCOS.¹² *Peroxisome proliferator-activated receptors* (PPAR) diekspresikan dalam ovarium, berperan penting dalam sistem reproduksi wanita dan memengaruhi fertilitas. Pada PCOS, PPAR berpengaruh pada gangguan metabolisme glukosa-lipid. Isoform PPAR- γ menunjukkan ekspresi tertinggi dalam adiposit dan secara signifikan berkontribusi pada adipogenesis, biosintesis lipid, metabolisme lipoprotein, dan sensitivitas insulin. Sebagian besar peneliti telah menyelidiki tingkat ekspresi PPAR- γ dan koaktivatornya *Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 α* (PGC-1 α) pada wanita PCOS dan menemukan tingkat ekspresi yang jauh lebih rendah pada wanita PCOS dibandingkan dengan kontrol.^{13,14} Selain itu, beberapa penelitian membuktikan hubungan antara PCOS dan beberapa jalur mekanisme yang terjadi di dalam tubuh, meliputi jalur TGF β , jalur PI3K/ protein Kinase B (AKT)/mTOR, kaskade MAPK, dan jalur JNK/ERK yang mengatur banyak proses vital seperti pertumbuhan sel, kelangsungan hidup dan metabolisme.^{15,16}

Mengingat dampak komplikasi penyakit yang ditimbulkan dari PCOS seperti sindrom metabolik, gangguan toleransi glukosa, diabetes mellitus tipe 2, dislipidemia, depresi, penyakit hati, dan komplikasi obstetrik, kanker ovarium serta infertilitas, maka berbagai pendekatan penanganan PCOS telah banyak diteliti. Namun, penggunaan farmakologis ditemukan

memiliki banyak efek samping. Oleh karena itu, pendekatan strategi penemuan obat baru berbasis bahan alami untuk menghambat berbagai jalur pensinyalan pertumbuhan sel pada PCOS dapat menjadi terapi alternatif sebagai pencegahan maupun pengobatan pada PCOS yang lebih aman.^{5,7}

Anggur laut (*Caulerpa racemosa* (Forsskal) J. Agardh) atau lawi-lawi (istilah bahasa Indonesia setempat) adalah spesies ganggang hijau yang tergolong dalam *Caulerpaceae* famili yang ditemukan di perairan sekitar Sulawesi dan merupakan sumber makanan di Asia Timur dan Asia Tenggara, terutama di Korea, Jepang, Indonesia, Filipina dan Vietnam. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa anggur laut mengandung beberapa komponen bioaktif, seperti peptida bioaktif, polisakarida, polifenol, flavonoid, dan antioksidan. Selain itu, anggur laut mengandung tingkat antioksidan yang tinggi dan berpotensi sebagai makanan fungsional atau *nutraceuticals*.¹⁷¹⁸

Beberapa penelitian sebelumnya tentang *Caulerpa racemosa* telah dibuktikan memiliki efek antiobesitas dan efek antipenuaan melalui modulasi glukosa darah dan profil lipid. Penelitian oleh Nurkholis F, dkk (2022) pada pria obesitas menunjukkan penurunan yang signifikan pada glukosa darah, kolesterol total, LDL, trigliserida, lingkar pinggang, rasio lingkar pinggang-pinggul dan berat badan ($p < 0,05$) setelah intervensi *C.racemosa* selama 4 minggu.¹⁹ Kemudian penelitian oleh Mayulu N, dkk (2023) pada tikus putih dapat memperbaiki profil lipid, biomarker inflamasi,

kadar enzim serum terkait sindrom metabolik (PRMT1-DDAH-ADMA dengan jalur mTOR-SIRT1-AMPK) dan dapat memodulasi mikrobiota usus.²⁰

Network pharmacology dan *Molecular Docking* (penambatan molekuler) adalah paradigma baru dan komprehensif dalam penelitian farmasi yang bertujuan untuk memahami aksi dan interaksi obat dengan berbagai target, yang bergeser dari pendekatan tradisional 'satu target satu obat' menjadi strategi 'obat multi-target'.²¹ Pendekatan ini menganalisis jaringan target senyawa obat untuk memprediksi efektivitas dan mekanisme yang terkait dengan target obat, yang sangat bermanfaat dalam studi penyakit dan pengembangan obat herbal dan produk alami.²²

Penelitian terhadap beberapa jalur mekanisme tersebut pada PCOS dapat membantu dalam merancang strategi terapi untuk penyakit yang melibatkan PPAR- γ , *Estrogen receptor 1* (ESR1), PIK3CA, Src maupun mTOR pada PCOS. Dengan mengidentifikasi senyawa protein yang berperan pada PCOS dianggap sebagai target yang efektif dengan mengembangkan molekul baru yang memodulasi target protein tersebut dalam jaringan metabolik selektif untuk pencegahan maupun pengobatan pada PCOS.¹²

Namun sampai saat ini belum ada penelitian yang mengungkapkan potensi anggur laut (*C. racemosa*) terhadap target protein tersebut pada PCOS. Oleh karena itu, penulis tertarik untuk meneliti potensi anggur laut

Caulerpa racemosa (Forsskal) J. Agardh sebagai terapi novel pada PCOS berdasarkan uji metabolomik, insiliko dan penambatan molekuler.

1.1 Rumusan Masalah

1. Apakah hasil eksplorasi senyawa bioaktif dari ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) melalui uji metabolomik ?
2. Apakah target protein yang berperan dalam patofisiologi PCOS melalui pendekatan *Network Pharmacology* ?
3. Bagaimana prediksi aktivitas senyawa bioaktif dari ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) pada PCOS melalui pendekatan *Network Pharmacology* ?
4. Bagaimana analisis toksisitas dan kemiripan obat dari senyawa bioaktif dari ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) melalui pendekatan *Network Pharmacology* ?
5. Bagaimana afinitas dan interaksi antara senyawa bioaktif *Caulerpa racemosa*, Simvastatin (kontrol positif 1) dan Orlistat (kontrol positif 2) dengan target protein (PPAR- γ , ESR1, Src, PIK3CA, dan mTOR) pada PCOS menggunakan simulasi penambatan molekuler ?
6. Bagaimana potensi senyawa bioaktif dari ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) terhadap target protein pada PCOS ?

1.2 Tujuan Penelitian

1.2.1 Tujuan Umum

Mengetahui potensi anggur laut *Caulerpa racemosa* sebagai terapi novel pada Sindrom Polikistik Ovarium (PCOS) berdasarkan uji metabolomik, insiliko dan penambatan molekuler.

1.2.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui hasil eksplorasi senyawa dari ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) melalui uji metabolomik dengan teknik *Liquid Chromatography-High Resolution Mass Spectrometry* (LC-HRMS).
2. Mengetahui target protein yang berperan pada PCOS menggunakan melalui pendekatan *Network Pharmacology*.
3. Mengetahui prediksi aktivitas senyawa bioaktif dari ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) pada PCOS melalui pendekatan *Network Pharmacology*.
4. Mengetahui analisis toksisitas dan kemiripan obat dari senyawa bioaktif dari ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) melalui pendekatan *Network Pharmacology*.
5. Mengetahui afinitas dan interaksi antara senyawa bioaktif *Caulerpa racemosa*, Simvastatin (kontrol positif 1) dan Orlistat (kontrol positif 2) dengan target protein (PPAR- γ , ESR1, Src, PIK3CA, dan mTOR) pada PCOS menggunakan simulasi penambatan molekuler.

6. Mengetahui potensi senyawa bioaktif dari ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) terhadap target protein pada PCOS.

1.3 Manfaat Penelitian

1.3.1. Pengembangan ilmu

Dapat menambah pemahaman bukti ilmiah mengenai potensi anggur laut (*Caulerpa racemosa*) sebagai terapi novel pada PCOS melalui uji metabolomik, insiliko berdasarkan pendekatan *network pharmacology* dan penambatan molekuler.

1.3.2. Aplikasi klinik

Dengan mengetahui adanya potensi Anggur laut (*Caulerpa racemosa*) pada PCOS, maka diharapkan *Caulerpa racemosa* bermanfaat untuk pengembangan obat baru dari bahan alami sebagai terapi alternatif pada PCOS maupun dijadikan sebagai makanan fungsional untuk terapi nutrisi dalam pencegahan dan penanganan PCOS.

1.4 Luaran Penelitian

Publikasi ilmiah dalam jurnal ilmiah bereputasi internasional.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Polycystic Ovary Syndrome (PCOS)*

2.1.1 Definisi PCOS

Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) atau sindrom polikistik ovarium adalah suatu gangguan hormonal yang umum terjadi pada wanita usia reproduktif. Biasanya dimulai pada masa remaja, tetapi gejalanya dapat berfluktuasi dari waktu ke waktu. PCOS dapat menyebabkan ketidakseimbangan hormon, menstruasi yang tidak teratur, kelebihan kadar androgen dan kista dalam ovarium. Menstruasi yang tidak teratur, biasanya disertai dengan kurangnya ovulasi, sehingga PCOS merupakan penyebab utama infertilitas.¹

2.1.2. Epidemiologi PCOS

PCOS merupakan masalah kesehatan masyarakat yang signifikan yang paling memengaruhi wanita usia reproduksi sekitar 8-13% dan hingga 70% kasus tidak terdiagnosis.¹ Menurut WHO, lebih dari 116 juta wanita (3,4%) terkena PCOS di seluruh dunia.⁵ Meskipun PCOS dapat terjadi pada usia berapa pun, dimulai pada usia menarche, sebagian besar kasus diidentifikasi antara usia 20 dan 30 tahun. Tingkat kejadian PCOS berdasarkan usia pada wanita usia reproduksi adalah 82,44 per 100.000 pada tahun 2017, 1,45% lebih tinggi dari tahun 2007.⁶ Pada

tahun 2019, prevalensi titik standar usia sebesar 1677,8 per 100.000 dan insiden tahunan sebesar 59,8 per 100.000 penduduk dilaporkan berdasarkan data dari 204 negara, yang mewakili peningkatan 30,4% dan 29,5%, masing-masing, sejak tahun 1990.²³

Prevalensi PCOS dan fenotipenya dipengaruhi oleh kombinasi faktor genetik, lingkungan, dan demografi. Prevalensi PCOS lebih tinggi di antara beberapa etnis dan kelompok-kelompok ini sering mengalami lebih banyak komplikasi, khususnya yang berkaitan dengan masalah metabolisme.¹ Sebuah revidi sistematis oleh Dong J, *et.al* (2023) terhadap 13 penelitian menemukan perkiraan prevalensi yang sedikit lebih tinggi pada kulit hitam dan Timur Tengah dibandingkan dengan populasi kulit putih Cina dan populasi kulit putih.²³ Sedangkan prevalensi dan fenotipe PCOS di Eropa dan Amerika Serikat pada tinjauan sistematis dan meta-analisis oleh Chiaffarino F, *et.al* (2022) menemukan bahwa berdasarkan kriteria diagnostik NIH1990, ESHRE/ASRM 2003, dan AES-PCOS, prevalensi PCOS umumnya fenotipe A atau "PCOS lengkap" (44,8%), diikuti oleh fenotipe D atau "PCOS non-hiperandrogenik" (19,5%), fenotipe C atau "PCOS ovulatorik" (16,2%), dan fenotipe B yang mirip dengan fenotipe A tetapi tidak memiliki morfologi ovarium polikistik. (14,9%).²⁴

Hasil berbeda pada penelitian yang menggunakan kriteria Rotterdam oleh Carmina E (2022) pada populasi Mediterania di Sisilia (Italia), dimana prevalensi tertinggi pada fenotipe A (non obes) sekitar 31,2%, diikuti fenotipe C (non obes) 29,7%, fenotipe A (obes) 23,9% dan

fenotipe B (obes) 5,9%. Temuan ini menunjukkan bahwa setiap fenotipe PCOS sesuai kriteria Rotterdam terdiri dari dua populasi yang sangat berbeda. Satu populasi non obes dengan fenotipe A atau B (dengan anovulasi) atau fenotipe C (dengan ovulasi), dengan sedikit atau tanpa risiko metabolik dan kardiovaskuler; sedangkan yang lain adalah populasi obesitas yang menunjukkan risiko metabolik dan kardiovaskuler yang lebih tinggi terlepas dari status ovulasinya.¹⁰

Kondisi resistensi insulin dan kompensasi hiperinsulinemia terjadi pada sekitar 65–95% wanita dengan PCOS, termasuk sebagian besar wanita yang kelebihan berat badan dan obesitas serta lebih dari setengah wanita dengan berat badan normal. Resistensi insulin pada umumnya terjadi pada fenotipe A dan B, diikuti oleh fenotipe C tipe ovulasi (65%) dan fenotipe tipe D non-hiperandrogenisme (38%).⁸ Penelitian oleh Sobti S, *et al* (2017) di India juga menemukan fenotipe A merupakan fenotipe yang paling banyak (45,5%). Prevalensi resistensi insulin pada penelitian ini sekitar 31% menggunakan HOMA-IR dengan prevalensi tertinggi adalah fenotipe A dan terendah adalah fenotipe D. Prevalensi sindrom metabolik sekitar 36% dengan 2-6 kali prevalensi fenotipe hiperandrogenik dibandingkan dengan fenotipe non-hiperandrogenik.²⁵

Hasil ini sejalan dengan penelitian oleh Azar MA, *et al* (2022) di Iran menemukan fenotipe klasik A dan B sangat umum pada wanita usia reproduksi yang menderita PCOS. Wanita dengan hiperandrogenisme memiliki profil lipid yang paling buruk, dan wanita dengan semua tiga

kriteria sindrom ini menunjukkan tingkat sindrom metabolik yang lebih tinggi. Namun, wanita dengan hanya disfungsi ovulasi saja dan morfologi polikistik ovarium saja memiliki karakteristik kardiometabolik yang serupa.

26

Penelitian oleh Elasm A.N, *et.al* (2022) di Sudan menemukan sebagian besar wanita sekitar 87,2% mengalami oligo/anovulasi. Pada pemeriksaan USG, struktur ovarium polikistik ditemukan pada 64,1% wanita; jerawat 46,5%, acanthosis nigricans 22,0%, dan hirsutisme 27,4%. Kondisi infertil lebih banyak pada fenotipe D (51,6%), diikuti oleh fenotipe B (22,6%), fenotipe C (18,2%), dan fenotipe A (7,6%). Indeks massa tubuh dan profil hormonal keempat fenotipe tersebut tidak berbeda secara statistik. Wanita dengan fenotipe A lebih tua dan memiliki tekanan darah rata-rata yang tinggi, sedangkan wanita dengan fenotipe D memiliki rasio pinggang/pinggul yang lebih tinggi.²⁷

2.1.3. Etiologi PCOS

Penyebab PCOS bersifat multifaktorial yang melibatkan faktor genetik, lingkungan, dan hormonal yang saling berinteraksi dalam perkembangan PCOS yang menyebabkan disfungsi ovarium dan sindrom metabolik.^{4,6}

1. Genetik

Komponen genetik PCOS terbukti dari *family clustering* dan studi asosiasi seluruh genom, yang telah mengidentifikasi varian gen yang terkait dengan pelepasan gonadotropin, massa lemak, dan jalur steroid, meskipun sebagian besar heritabilitas tetap sulit dipahami dan mungkin melibatkan modifikasi epigenetik seperti mikro-RNA (miRNA) dan pola metilasi DNA.^{28,29} Gen yang terlibat pada steroidogenesis ovarium dan adrenal seperti gen aromatase CYP11a, CYP21, CYP17 dan CYP19. Beberapa gen yang mengkode *Androgen Receptor (AR)*, *Anti Mullerian Hormone (AMH)*, *Follicular Stimulating Hormone Receptor (FSHR)*, *Insulin Receptor Substrate Proteins (IRS)*, *Calpain10* dan *Fat Mass Obesity (FTO)*.^{30,31} *Luteinizing hormone/chorionic gonadotropic receptors (LHCGR)* ditemukan di sel theca dan sel granulosa dari ovarium dengan polimorfisme terkait yang mendorong produksi androgen berlebih. *DENND1A* mengkode untuk protein DENN dengan ekspresi berlebih juga mendorong steroidogenesis ovarium berlebih. Perubahan dalam ekspresi gen *thyroid adenoma-associated (THADA)* mengubah sekresi insulin dan resistensi insulin. Saat terjadi perubahan epigenetik, maka transkripsi DNA akan *down-regulated* atau *up-regulated*, seperti melalui regulasi metilasi gen yaitu LHCGR, PPAR- γ , ESR1, miRNA dan *Insulin receptor (INS)*.³²

2. Diet/gaya hidup

Diet tinggi kalori dan *sedentary lifestyle* dapat menjadi penyebab obesitas yang mungkin memperburuk PCOS. Diet tinggi gula dapat

berkontribusi pada PCOS dengan mengubah flora usus, menginduksi inflamasi kronis, meningkatkan resistensi insulin, dan meningkatkan produksi androgen. Obesitas dan gaya hidup secara signifikan berkontribusi pada perkembangan PCOS dengan memperburuk resistensi insulin dan hiperandrogenisme, yang merupakan pusat patofisiologi PCOS. Resistensi insulin, khususnya, merupakan faktor penting yang tidak hanya berkontribusi terhadap kelainan metabolisme seperti obesitas, hipertensi, dan dislipidemia tetapi juga memengaruhi morfologi dan fungsi ovarium, yang menyebabkan anovulasi kronis dan morfologi ovarium polikistik.^{4,6,27}

3. Dysbiosis usus

Sejumlah penelitian dalam beberapa tahun terakhir telah meneliti hubungan antara PCOS dan perubahan komposisi mikrobiota usus dan metabolitnya. Studi menunjukkan bahwa keragaman dan struktur mikrobiota usus pada penderita PCOS mungkin dipengaruhi oleh resistensi insulin, kadar hormon seks, dan obesitas. Perbedaan yang signifikan antara PCOS dan kelompok kontrol ditemukan pada jumlah spesies dan metabolit yang dihasilkan, yaitu penurunan bakteri non patogen (*Lactobacilli* dan *Bifidobacteria*) dan peningkatan bakteri patogen (*Escherichia* dan *Shigella*). Mikrobiota usus memetabolisme substrat yang masuk ke dalam usus melalui makanan dan menghasilkan metabolit yang dapat bekerja langsung ke usus atau memasuki sirkulasi sistemik dan memengaruhi berbagai jaringan

seperti ovarium, hati, otot rangka, dan jaringan adiposa. Menurut teori *dysbiosis of gut microbiota* (DOGMA) bahwa dysbiosis mikrobiota usus yang diinduksi oleh pola makan yang buruk dapat menyebabkan peningkatan permeabilitas mukosa usus, yang pada gilirannya meningkatkan lipopolisakarida (LPS) dari bakteri kolon Gram negatif ke dalam aliran darah selanjutnya reaksi sistem imun akan mengganggu fungsi reseptor insulin, meningkatkan kadar insulin, meningkatkan produksi androgen dalam ovarium, dan mengganggu pembentukan folikel normal.⁶

4. Lingkungan (toksin)

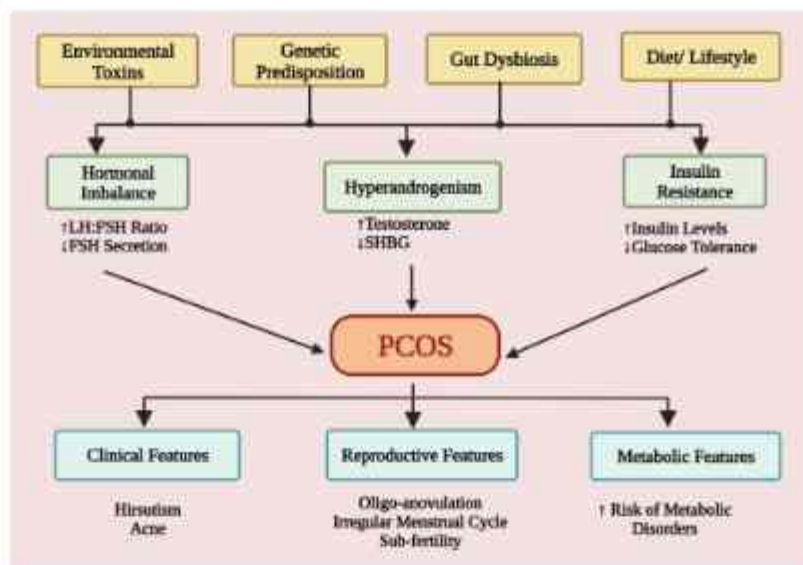
Berbagai penelitian telah menunjukkan bahwa polutan lingkungan, seperti logam berat, insektisida, dan bahan kimia yang mengganggu endokrin/*Endocrine Disrupting Chemicals* (EDC), secara signifikan memengaruhi kesehatan manusia dan reproduksi.⁶

2.1.4 Patofisiologi PCOS

Etiologi PCOS melibatkan interaksi yang kompleks dari berbagai faktor seperti gaya hidup, genetika, dysbiosis usus, polutan lingkungan, dan obesitas. Faktor-faktor ini berkontribusi pada sindrom metabolik yang menyebabkan hiperinsulinemia, stres oksidatif, hiperandrogenisme, gangguan folikulogenesis, dan siklus menstruasi yang tidak teratur. Selain itu, perubahan steroidogenesis, folikulogenesis ovarium, fungsi neuroendokrin, metabolisme, produksi insulin, sensitivitas insulin, aktivitas

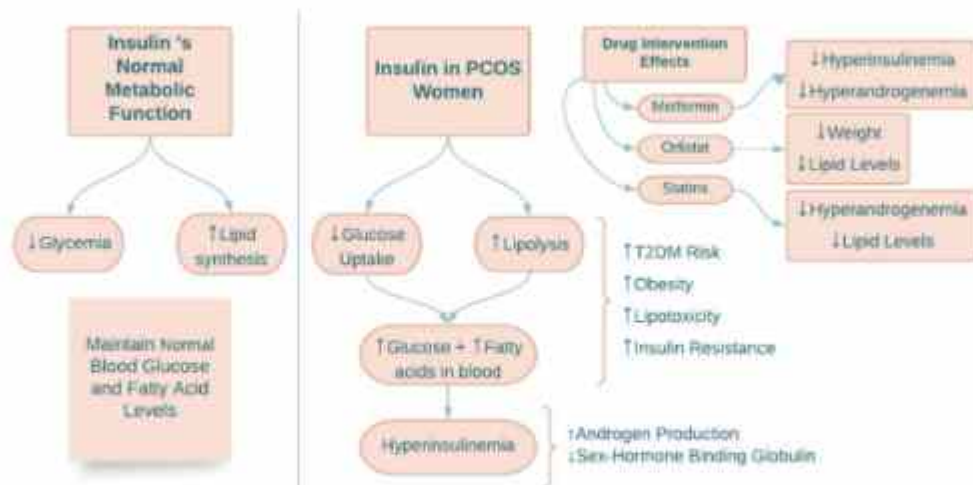
sel adiposa, faktor inflamasi, dan fungsi saraf simpatis berperan dalam patofisiologi PCOS.^{4,6,33}

Patofisiologi PCOS terutama berkaitan dengan ketidakseimbangan hormon, inflamasi tingkat rendah, resistensi insulin, dan hiperandrogenisme, yang mengganggu folikulogenesis dan meningkatkan risiko komorbiditas terkait, seperti kanker endometrium dan Diabetes Mellitus tipe II.⁶



Gambar 2.1. Patofisiologi dan gambaran klinik PCOS⁶

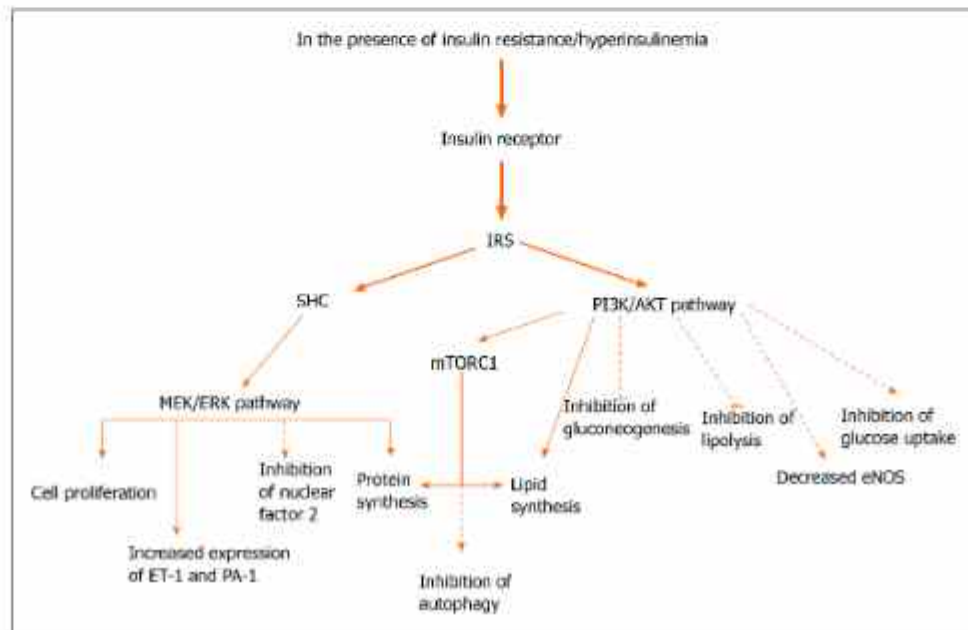
Berikut gambar 2.2 menunjukkan pengaruh resistensi insulin pada PCOS yang menyebabkan penurunan ambilan glukosa dan peningkatan lipolysis sehingga kadar glukosa dan asam lemak dalam darah meningkat. Kondisi ini meningkatkan kadar insulin (hiperinsulinemia) yang menyebabkan peningkatan produksi androgen dan penurunan Sex-Hormone Binding Globulin (SHBG).⁶



Gambar 2.2. Kerja insulin pada PCOS¹²

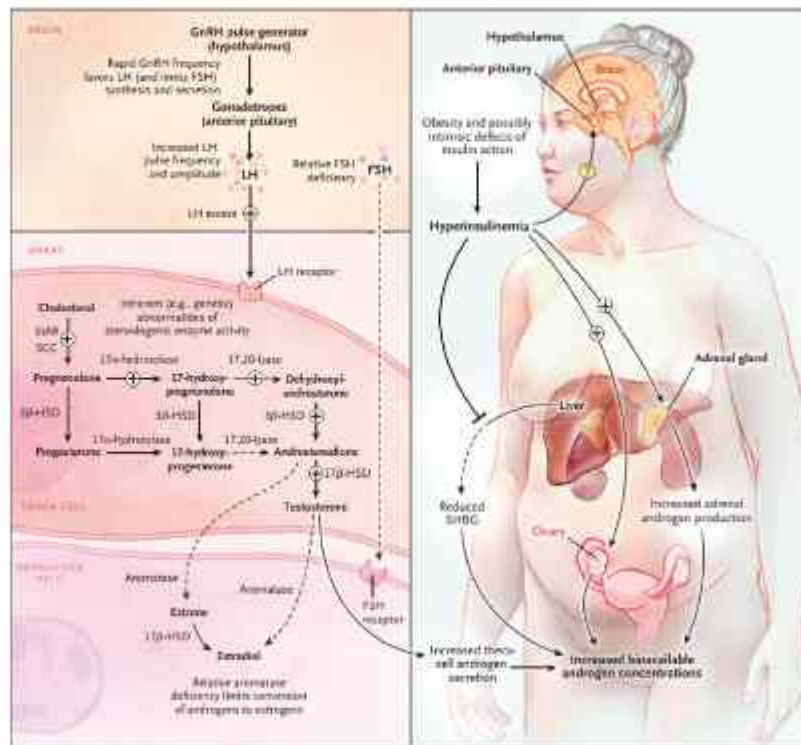
Pada kondisi resistensi insulin dan hiperinsulinemia yang berkepanjangan/kronis, tidak semua jalur pensinyalan terpengaruh secara sama, dan jalur yang relatif sensitif terhadap insulin dari kaskade pensinyalan insulin mengakibatkan disfungsi metabolik, vaskular, dan reproduksi. Resistensi (parsial) pada jalur *protein kinase B fosfatidilinositol-3-kinase/serin/threonin-spesifik protein kinase B* mengakibatkan penurunan penyerapan glukosa yang dimediasi oleh translokasi transporter glukosa-4 yang tidak mencukupi dan penurunan penghambatan lipolisis dan glukoneogenesis. Selain itu, aktivasi sintase oksida nitrat endotel (eNOS) yang kurang juga diamati. Hiperinsulinemia terkait resistensi insulin meningkatkan aktivitas sel anabolik melalui jalur protein kinase yang diaktifkan mitogen (MEK)/jalur kinase terkait sinyal ekstraseluler (ERK) dan melalui target mekanistik kompleks rapamycin-1. Selain aksi anabolik pensinyalan melalui jalur MEK/ERK, juga terjadi

peningkatan ekspresi plasminogen-1 dan endotelin-1. Penghambatan *nuclear factor-2* menyebabkan mekanisme pertahanan sel terhadap stres radikal bebas (Gambar 2.3).³⁴



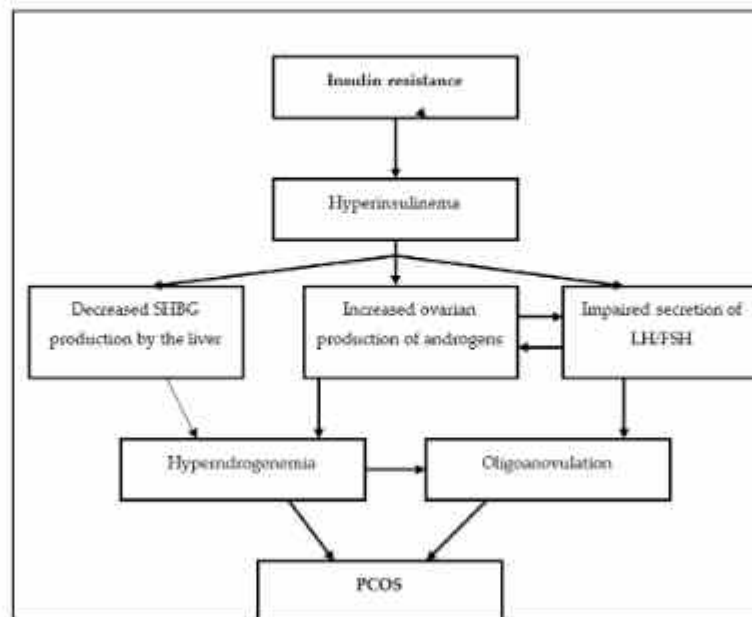
Gambar 2.3. Skema jalur sinyal insulin pada kondisi resistensi insulin³²

IRS: Insulin receptor substrate; SHC: Src homology 2 domain-containing transforming proteins; MEK: Mitogen-activated protein kinase; ERK: Extracellular signal-related kinase; PI3K: Phosphatidylinositol-3-kinase; AKT: Serine/threonine-specific protein kinase B; mTORC: Mechanistic target of rapamycin complex 1; GLUT4: Glucose transporter 4; ET-1: Endothelin 1; eNOS: endothelial nitric oxide synthase; PAI: Plasminogen activator inhibitor. Garis putus-putus menunjukkan penghambatan, dan garis padat menunjukkan stimulasi/aktivasi.



Gambar 2.4. Mekanisme hiperinsulinemia dan hiperandrogenisme pada PCOS ³⁵

Penderita PCOS umumnya menunjukkan hiperandrogenisme dengan peningkatan androgen ovarium seperti pada gambar 2.4. Sel-sel theca adalah sel-sel ovarium yang bertanggung jawab atas produksi androgen; sel-sel ini mengeluarkan kadar androgen (androstenedion) yang meningkat dan 17-hidroksiprogesteron. Senyawa 17-Hidroksiprogesteron adalah zat antara steroid untuk biosintesis androgen dan glukokortikoid untuk melawan LH. Pelepasan gonadotropin pada PCOS terlihat memiliki sekresi LH yang jauh lebih banyak daripada FSH yang normal. Peningkatan sekresi LH pada PCOS mungkin disebabkan oleh peningkatan sekresi hormon pelepas gonadotropin (GnRH) secara *pulsatile*.³⁵



Gambar 2.5. Peran resistensi insulin dalam perkembangan PCOS³⁶

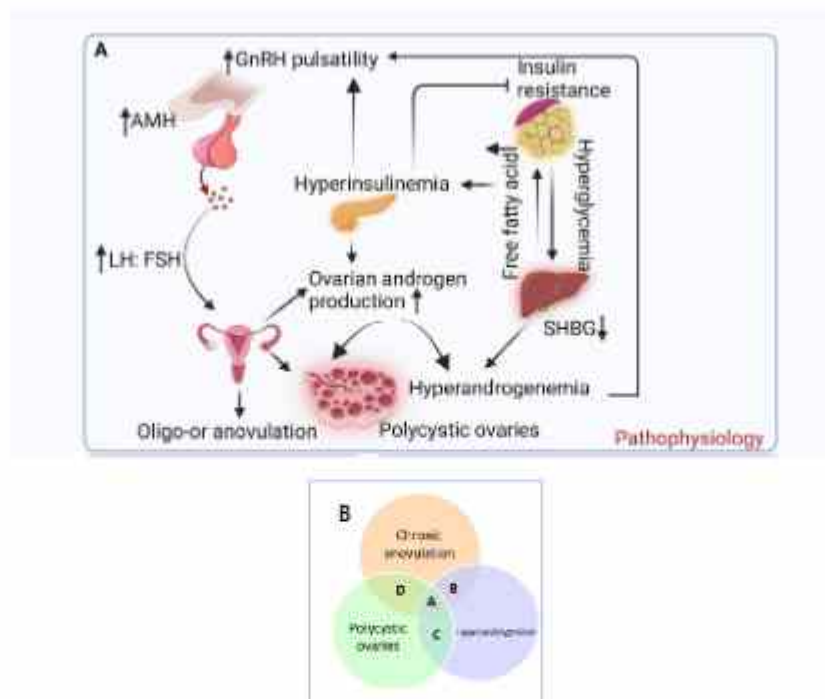
Pada gambar 2.5 menunjukkan bahwa resistensi insulin merupakan defek primer dan hiperandrogenemia adalah defek sekunder. Hiperinsulinemia memainkan peran patogenik penting dalam hiperandrogenisme dan anovulasi pada wanita gemuk dan kurus dengan PCOS. Insulin dapat secara langsung merangsang sekresi androgen dan/atau meningkatkan hormon LH yang diinduksi sekresi androgen dari sel theca, meningkatkan amplitudo pulsatile sekresi LH, dan menurunkan produksi globulin pengikat hormon seks (SHBG) di hati.³⁶

2.1.5 Kriteria Diagnostik PCOS

PCOS didiagnosis menggunakan kombinasi kriteria klinis, biokimia, dan ultrasonografi. Evaluasi pasien yang dicurigai menderita PCOS meliputi anamnesis dan pemeriksaan fisik secara menyeluruh, penilaian

adanya hirsutisme, ultrasonografi ovarium, dan pemeriksaan hormonal untuk memastikan hiperandrogenisme dan oligo-anovulasi serta menyingkirkan kelainan yang serupa atau yang menyerupai.^{31,37}

Hingga saat ini, tiga kelompok kriteria yang digunakan untuk diagnosis PCOS yaitu dari *National Institutes of Health* (NIH) pada tahun 1990-an, Rotterdam 2003, dan kriteria *The Androgen Excess Polycystic Ovary Syndrome* (AE-PCOS) 2009. Saat ini, kriteria yang paling banyak digunakan adalah kriteria Rotterdam 2003, yang memvalidasi diagnosis PCOS yaitu terdapat dua dari tiga kriteria yaitu hiperandrogenisme (klinis dan/atau biokimia), anovulasi kronis (siklus menstruasi yang tidak teratur), dan morfologi ovarium polikistik pada USG.^{10,37}



Gambar 2.6. Patofisiologi dan Kriteria Diagnostik PCOS menurut Kriteria Rotterdam³⁸

Empat fenotipe PCOS telah diidentifikasi sebagai varian PCOS berdasarkan tiga parameter utama PCOS, yaitu anovulasi kronik, hiperandrogenisme, dan ovarium polikistik (Tabel 2.1).⁶

Tabel 2.1. Klasifikasi berdasarkan fenotipe PCOS¹⁰

Phenotype	Chronic Anovulation	Hyperandrogenism	Polycystic Ovaries	Obesity
A-ob	+	+	+	+
A-l	+	+	+	–
B-ob	+	+	–	+
B-l	+	+	–	–
C-ob	–	+	+	+
C-l	–	+	+	–
D-ob	+	–	+	+
D-l	+	–	+	–

Fenotipe menurut kriteria Rotterdam (Fenotipe A : anovulasi kronik, hiperandrogenisme ovarium polikistik; Fenotipe B : anovulasi kronik, hiperandrogenisme tetapi ovarium normal; Fenotipe C : hiperandrogenisme ovarium polikistik tetapi siklus menstruasi normal; Fenotipe D : anovulasi kronik, ovarium polikistik tetapi androgen normal) dan obesitas (ob = *obese*) atau berat badan normal (l = *lean*)

Tabel 2.2. Prevalensi beberapa fenotipe PCOS pada populasi wanita Mediterania¹⁰

	Prevalence (%)
Phenotype A-ob	23.9
Phenotype A-l	31.2
Phenotype B-ob	5.9
Phenotype B-l	2.9
Phenotype C-ob	4.4
Phenotype C-l	29.7
Phenotype Dob	0.5
Phenotype D-l	1.5

In bold most common PCOS phenotypes according to the suggested new classification [23].

Saat ini, hormon anti-Müllerian dalam serum diperkenalkan sebagai pengganti jumlah folikel dan secara kontroversial muncul sebagai penanda morfologi ovarium polikistik. Pada remaja, dua faktor penting untuk

diagnosis PCOS adalah hiperandrogenisme dan siklus menstruasi yang tidak teratur.³⁹

Evaluasi ultrasonografi morfologi ovarium polikistik / *Polycystic Ovary Morfology* (PCOM) sangat penting, dengan jumlah folikel per ovarium/*follicle number per ovary* (FNPO) menjadi penanda yang paling akurat, meskipun volume ovarium/*ovarian volume* (OV) dan jumlah folikel per penampang tunggal/*follicle number per single cross-section* (FNPS) juga digunakan.⁴⁰

Sebuah revidi sistematis yang mengikuti pedoman berbasis bukti internasional, termasuk 11 penelitian dengan 2961 peserta, menganalisis ultrasonografi untuk kriteria jumlah folikel per ovarium untuk identifikasi PCOM dan menyimpulkan bahwa jumlah folikel optimal per ovarium yang akan digunakan adalah ≥ 20 folikel per ovarium setidaknya salah satu ovarium, dengan diameter maksimum 2-9 mm atau volume ovarium > 10 ml. Sementara itu, penyakit lain yang mungkin yang dapat menyebabkan hiperandrogenemia atau berkurangnya ovulasi juga harus disingkirkan, seperti hiperprolaktinemia dan hiperplasia adrenal kongenital, serta manifestasi klinis seperti resistensi insulin, oligomenore atau amenore.^{39,41}

2.1.6 Dampak PCOS

Wanita dengan PCOS memiliki fungsi reproduksi dan kehamilan yang buruk dan berisiko risiko lebih tinggi terhadap hiperplasia endometrium yang berkaitan dengan disfungsi ovulasi serta infertilitas.

Berbagai penelitian telah menunjukkan bahwa PCOS merupakan faktor pemicu paling konvensional dari faktor infertilitas wanita. Studi *cross-sectional* oleh Joham dkk. (2015) mendapatkan kejadian infertilitas pada 72% wanita dengan PCOS dibandingkan dengan 16% pada wanita tanpa PCOS. Sebuah metanalisis pada 63 studi menunjukkan bahwa PCOS berhubungan dengan abortus yang lebih tinggi, diabetes mellitus gestasional, hipertensi gestasional, pra-eklampsia, induksi persalinan, dan operasi caesar.^{39,42}

Wanita PCOS memiliki risiko lebih tinggi untuk mengalami intoleransi glukosa dan DM tipe 2, steatosis hepatik dan sindrom metabolik, hipertensi, dislipidemia, trombosis pembuluh darah, gangguan serebrovaskular, dan penyakit kardiovaskular, subfertilitas dan komplikasi obstetri, *endometrial atypia* atau karsinoma dan kemungkinan kanker ovarium serta gangguan *mood* dan psikoseksual.³³ Hubungan antara PCOS dengan luaran yang lebih buruk ditemukan pada fenotip PCOS hiperandrogenik.⁴²

2.2 Anggur Laut (*Caulerpa racemosa* (Forsskal) J. Agardh)

2.2.1 Definisi *Caulerpa racemosa*

Caulerpa racemosa yaitu sejenis ganggang hijau yang dikenal sebagai anggur laut, atau kaviar hijau atau lawi-lawi (istilah bahasa Indonesia setempat). *Caulerpa racemosa* ditemukan oleh J. Agardh pada

tahun 1873.^{14,43,44}

2.2.2 Taksonomi *Caulerpa racemosa*

Genus *Caulerpa* terdiri dari *Caulerpa racemosa* yang termasuk dalam famili *Caulerpaceae*, yang mencakup sekitar 85 spesies.⁴³

Tabel 2.3. Taksonomi *Caulerpa racemosa*^{45,46}

Regnum	<i>Plantae</i>
<i>Divisi</i>	<i>Thallophyta</i>
<i>Anak Divisi</i>	<i>Algae</i>
<i>Kelas</i>	<i>Chlorophyceae</i>
<i>Bangsa</i>	<i>Chlorosiphonales</i>
<i>Marga</i>	<i>Caulerpa</i>
<i>Suku</i>	<i>Caulerpaceae</i>
<i>Spesies</i>	<i>Caulerpa racemosa</i>

Kompleks *C. racemosa* terdiri dari anak cabang berbentuk bulat (*spherical*), berbentuk pentungan (*club-shaped*) atau berbentuk jamur hingga bentuk cakram dengan pelepah tegak (biasanya setinggi 11 cm) yang memiliki ramuli vesikula yang tersusun secara radial.⁴³



Gambar 2.7. Anggur laut (*Caulerpa racemosa*)⁴⁷

2.2.3 Kandungan *Caulerpa racemosa*

Beberapa penelitian membuktikan bahwa anggur laut mengandung beberapa komponen bioaktif, seperti peptida bioaktif, serat (polisakarida), polifenol, flavonoid, dan antioksidan. Selain itu, anggur laut mengandung tingkat antioksidan yang tinggi dan berpotensi sebagai makanan fungsional atau *nutraceuticals*.^{4,48} *Caulerpa* tidak hanya bergizi tinggi tetapi juga kaya akan senyawa penting sebagai sumber agen terapeutik yang potensial. Kandungan PUFA sekitar 60,8% dari total asam lemak yang didominasi oleh asam α -linolenat. Asam amino yang mendominasi dalam protein *Caulerpa* adalah asam aspartat dan glutamat, juga mengandung mineral dan vitamin, kaya akan pigmen *klorofil-a*, *klorofil-b*, β -karoten, dan *caulerpipin*. Polisakarida tersulfasi dan residu fucose dari *Caulerpa* dilaporkan memiliki aktivitas obat.⁴⁹

Telah banyak penelitian membuktikan bahwa *C. racemosa* kaya akan senyawa bioaktif seperti *caulerpipin*, *caulersin*, *caulerchlorin*, dan *racemosins A-C*. Karena aktivitas biologisnya yang luas, senyawa ini telah menarik perhatian, dimana memiliki efek anti-inflamasi, antioksidan, antibakteri, dan antidiabetes,⁴⁴ antikanker, antinosisseptik, dan antivirus.^{50–52} Penelitian oleh Cuomo P, *et.al* (2021) membuktikan *caulerpipin* dapat mengurangi inflamasi yang diinduksi *Helicobacter pylori* melalui reseptor *formyl peptide*.⁵³ Efek farmakologis *caulerpipin* tersebut dianggap dipengaruhi oleh strukturnya, yang ditunjukkan oleh kerangka bisindolnya yang berbeda.⁵⁴

Mayoritas metabolit sekunder yang diisolasi dari *Caulerpa* adalah seskuiterpenoid asetilenik, xantofil, triterpen, sterol, caulerpin, dan caulerpenyne. Untuk penggunaan farmasi, *Caulerpa* diidentifikasi memiliki senyawa bioprospeksi yang menunjukkan berbagai bioaktivitas seperti antikanker, insektisida, antibakteri, antiinflamasi, antidiabetes, dan antiplasmodial.⁴⁹

Berikut beberapa tabel di bawah ini adalah komposisi makronutrien, mikronutrien dan antioksidan dari *Caulerpa racemosa*.

Tabel 2.4. Komposisi proksimat makronutrien pada *Caulerpa racemosa* dan *Ulva lactuca* (mg/g)⁵⁵

	Moisture	Ash	Lipid	Protein	Carbohydrate
<i>Caulerpa racemosa</i>	14.66 ± 0.43	38.41 ± 1.90	0.71 ± 0.01	7.60 ± 0.01	38.62 ± 0.01
<i>Ulva lactuca</i>	10.18 ± 0.04	17.86 ± 0.87	0.13 ± 0.01	10.0 ± 0.01	61.83 ± 0.01

Tabel 2.5. Komposisi monosakarida pada *Caulerpa racemosa* dan *Ulva fasciata*⁵⁶

	<i>C. racemosa</i> HWE	<i>U. fasciata</i> Crude Ulvan
Monosaccharide	% of Total Sugars	
Fucose	1.30 ± 0.05	/
Rhamnose	1.07 ± 0.05	53.98 ± 1.5
Arabinose	0.29 ± 0.01	/
Glucosamine	0.95 ± 0.04	/
Galactose	15.62 ± 0.3	0.68 ± 0.01
Glucose	52.42 ± 1.3	26.64 ± 0.7
Mannose	12.61 ± 0.1	/
Xylose	8.21 ± 0.1	7.85 ± 0.2
Fructose	4.09 ± 0.7	/
Glucosylglycerol	0.26 ± 0.01	0.51 ± 0.02
Glucuronic acid	1.43 ± 0.02	1.38 ± 0.03
Others	1.75 ± 0.07	8.96 ± 2.5
Total (µg mg ⁻¹ dw)	198.13 ± 8.23	62.27 ± 1.61

Others represents the sum of non-identified monosaccharides; / = not detected. Data are means ± SD (n = 2). SD = standard deviation.

Tabel 2.6. Komposisi asam lemak pada *Caulerpa racemosa* dan *Ulva fasciata* ⁵⁶

Fatty Acid	<i>C. racemosa</i> (%)	<i>U. fasciata</i> (%)
C4:0 (Butyric)	5.3 ± 0.3	0.8 ± 0.0
C6:0 (Caproic)	0.2 ± 0.0	/
C11:0 (Undecanoic)	0.1 ± 0.1	/
C12:0 (Lauric)	1.2 ± 0.0	0.1 ± 0.0
C13:0 (Tridecanoic)	0.3 ± 0.0	/
C14:0 (Myristic)	0.6 ± 0.1	1.7 ± 0.0
C15:0 (Pentadecanoic)	0.4 ± 0.0	0.2 ± 0.0
C16:0 (Palmitic)	27.6 ± 0.6	59.9 ± 0.5
C17:0 (Heptadecanoic)	0.3 ± 0.2	0.2 ± 0.0
C18:0 (Stearic)	3.3 ± 0.0	3.2 ± 0.0
C20:0 (Arachidic)	0.4 ± 0.0	0.2 ± 0.0
C21:0 (Heneicosanoic)	0.1 ± 0.0	0.2 ± 0.0
C22:0 (Behenic)	1.00 ± 0.1	0.9 ± 0.0
C23:0 (Tricosanoic)	0.3 ± 0.0	nd
C24:0 (Tetracosic)	0.1 ± 0.0	4.6 ± 0.1
Total SFAs	41.3 ± 0.4	72.1 ± 0.4
C15:1	0.5 ± 0.0	/
C16:1 (Palmitoleic)	4.5 ± 0.1	3.0 ± 0.0
C17:1	1.0 ± 0.5	0.1 ± 0.0
C18:1ω9 (Oleic)	28.1 ± 0.0	5.9 ± 0.0
C20:1ω9 (cis-11-Eicosenoic)	0.4 ± 0.5	0.7 ± 0.0
C22:1ω9 (Erucic)	nd	1.7 ± 0.5
C24:1ω9 (Nervonic)	0.2 ± 0.0	1.2 ± 0.0
Total MUFAs	34.6 ± 0.7	12.7 ± 0.5
C18:2ω6 (Linoleic)	9.0 ± 0.1	5.3 ± 0.0
C18:3ω6 & ω3 (γ & α-Linolenic)	7.2 ± 0.1	4.0 ± 0.0
C20:2ω6 (cis-Eicosadienoic)	0.6 ± 0.0	0.1 ± 0.0
C20:3ω6 & ω3 (cis-Eicosatrienoic)	1.2 ± 0.0	0.3 ± 0.0
C20:4ω6 (Arachidonic)	0.7 ± 0.0	0.1 ± 0.0
C20:5ω3 (cis-Eicosapentaenoic)	0.7 ± 0.6	/
C22:2ω6 (cis-Docosadienoic)	0.4 ± 0.0	nd
C22:6ω3 (cis-Docosahexanoic)	1.8 ± 0.0	nd
Total PUFAs	21.6 ± 0.2	10.5 ± 0.0
Unidentified	2.5	4.7

Average reference values (% TFA ± SD); TFA = total fatty acids; SD = standard deviation; nd = not detected; / = detected at less than 0.1%. SFAs = saturated fatty acids; MUFAs = monounsaturated fatty acids; PUFAs = polyunsaturated fatty acids. C18:3ω6 and ω3 and C20:3ω6 and ω3 were found merged during GC analysis.

Tabel 2.7. Komposisi asam amino pada *Caulerpa racemosa* dan *Ulva fasciata* ⁵⁶

	<i>C. racemosa</i> (% of Total AAs)	<i>U. fasciata</i> (% of Total AAs)	Ovalbumin ^a (% of Total AAs)
Essential Amino Acids (EAAs)	Threonine	4.27 ± 0.10	3.12 ± 0.13
	Valine	8.63 ± 0.02	8.50 ± 0.07
	Lysine	5.96 ± 0.14	7.92 ± 0.44
	Isoleucine	6.14 ± 0.10	4.98 ± 0.17
	Leucine	9.64 ± 0.09	9.31 ± 0.28
	Phenylalanine	5.79 ± 0.07	6.07 ± 0.35
	Histidine	2.41 ± 0.00	1.41 ± 0.08
	Methionine	2.37 ± 0.07	0.86 ± 0.20
	Total EAAs	45.28 ± 0.12	42.17 ± 1.31
	Aspartic acid	11.33 ± 0.11	10.95 ± 0.46
Non-Essential Amino Acids (NEAAs)	Serine	3.34 ± 0.07	3.11 ± 0.46
	Glutamic acid	18.70 ± 0.17	15.49 ± 0.14
	Glycine	5.66 ± 0.04	6.87 ± 0.16
	Alanine	7.42 ± 0.12	10.85 ± 0.52
	Tyrosine	3.09 ± 0.14	4.04 ± 0.08
	Proline	4.39 ± 0.07	5.13 ± 0.07
	Hydroxyproline	0.39 ± 0.05	1.39 ± 0.00
	Total NEAAs	54.72 ± 0.12	57.83 ± 1.31
	EAA/NEAA ratio	0.83 ± 0.00	0.73 ± 0.04
			1.02

Values presented for *C. racemosa* and *U. fasciata* are means of duplicates ± SD. ^a Values for the ovalbumin composition in amino acids were adapted from Kazir et al. [38].

Tabel 2.8. Komposisi unsur makromineral dan unsur mikromineral (% dari berat kering)
Caulerpa racemosa dan *Ulva fasciata* ⁵⁶

Species	Macroelements				Microelements				
	Na	K	Ca	Mg	Na/K	Fe	Zn	Mn	Cu
RDI ^a (g/day)	2.0	3.8	0.84	0.350		0.006	0.012	0.0055	0.0017
Upper limit intake ^b (g/day)	2.3	/	2.5	0.35		0.045	0.040	/	0.01
<i>C. racemosa</i>	7.48 ± 0.00	5.30 ± 0.00	3.55 ± 0.02	0.50 ± 0.0	1.41	0.49 ± 0.02	0.42 ± 0.02	0.006 ± 0.0	0.11 ± 0.0
% RDI	29.9	11.2	33.8	11.4		653.3	280.0	8.7	517.6
RDA (g/day)	30.7	/	70.4	70.0		9.2	9.5	/	9.1
<i>U. fasciata</i>	4.71 ± 0.00	1.51 ± 0.00	4.80 ± 0.03	2.24 ± 0.00	3.12	1.77 ± 0.01	0.27 ± 0.01	0.003 ± 0.0	0.06 ± 0.0
% RDI	18.8	3.2	45.7	51.2		2360	180	4.4	282.3
RDA (g/day)	48.8	/	92.1	78.4		2.5	14.8	/	16.7

^a RDI = Recommended daily intake and upper limit intake values for a male adult with a bodyweight of 70 kg according to the World Health Organization (2002); ^b Upper limit intake according to National Health and Medical Research Council (2006); % RDI is based on a daily intake of 8 g dry weight of seaweed; RDA = recommended daily allowance. Data are means ± SD (n = 2). SD = standard deviation.

Tabel 2.9. Komposisi antioksidan pada *Caulerpa racemosa* ⁵⁷

<i>C. racemosa</i>	Total Phenolic Content (mg GAE g ⁻¹)	Total Flavonoid (mg QE g ⁻¹)	Extraction Yield (%)
Pond 1	17.23 ± 0.55	58.90 ± 3.22	31.8
Pond 2	17.52 ± 1.78	59.52 ± 1.58	25.7
Pond 3	18.89 ± 0.82	59.87 ± 2.55	22.3
Average	17.88 ± 0.78	59.43 ± 2.45	26.6

Tabel 2.10. Sifat farmakokinetik dari 36 senyawa dari *Caulerpa spp.*⁵⁸

Properties	Physicochemical properties								Lipophilicity	Water solubility	Pharmacokinetics	Drug likeness	Medicinal chemistry
Parameters	Molecular weight (g/mol)	Number of heavy atoms	Number of aromatic heavy atoms	Number of rotatable bonds	Number of H bond acceptors	Number of H bond donors	Molar refractivity	TPSA (Å)	Log P _{o/w}	LogS (ESOL)	GI absorption	Lipinski violation	Synthetic accessibility
Compound													
Caulerpa	396.41	30	22	4	4	2	114.34	84.16	2.96	-5.39	High	Yes	2.32
Caulerpepsin	374.43	37	9	16	6	6	103.18	78.90	3.78	-6.19	High	Yes	4.69
Caulerol	342.45	26	20	2	3	2	102.72	74.95	2.61	-6.97	High	Yes	2.34
6,11-epoxycaulerpepsin	396.41	34	9	16	7	6	103.67	91.45	3.96	-5.81	High	Yes	5.12
Fluorin	350.0	25	9	11	4	9	94.22	82.60	3.69	-6.31	High	Yes	3.98
Transphenol	286.33	21	9	12	1	1	95.94	20.22	4.71	-5.38	Low	Yes	4.91
Alpha isopropyl quinox.	440.71	32	9	15	3	1	100.65	54.37	3.33	-7.14	Low	Yes	5.74
Tanacetol	426.72	31	9	9	1	1	114.30	20.22	4.77	-6.31	Low	Yes	4.94
Isocaulerol	414.73	30	9	6	1	1	112.23	30.33	4.79	-6.96	Low	Yes	6.30
Palmitic acid	256.42	19	9	14	2	1	80.86	37.31	3.82	-6.82	High	Yes	2.31
Subglaucosylidic acidphenol	836.11	57	9	37	12	4	226.37	187.33	0	-7.12	Low	No	6.82
Compound													
Baccharin C	372.37	29	18	2	4	1	103.82	95.18	2.15	-4.81	High	Yes	3.73
Caulerolactin	370.42	27	22	2	2	2	110.27	87.38	2.97	-6.85	High	Yes	2.28
Baccharin A	340.33	26	12	2	4	2	101.16	81.34	2.97	-6.81	High	Yes	2.25
Baccharin B	334.34	18	28	2	1	1	96.45	97.88	2.74	-6.21	High	Yes	5.38
Caulerpenol B	340.36	18	4	3	2	2	72.88	48.46	2.92	-5.84	High	Yes	3.28
Caulerpenol A	338.36	19	4	0	1	1	88.88	88.86	2.91	-6.59	High	Yes	4.14
Androsone	920.88	67	9	3	18	12	239.68	218.81	3.76	-7.37	Low	No	11
Monoethyl caulerpepsin	384.48	29	22	3	4	3	112.22	95.18	2.11	-6.89	High	Yes	5.21
17	403.68	35	9	18	4	1	142.85	72.67	3.88	-6.81	High	Yes	5.28
Compound													
Isopropylcaulerpepsin A	384.5	22	9	11	2	0	96.86	28.38	4.63	-6.47	High	Yes	4.81
Baccharinolactin	380.5	27	9	11	2	0	96.86	28.38	4.63	-6.47	High	Yes	4.81
(1E)-11-hydroxy-2,2-dimethyl-2H-pyran-5-ol	426.67	31	9	3	2	1	112.22	87.31	4.54	-6.38	Low	Yes	6.81
(1E)-11-hydroxy-2,2-dimethyl-2H-pyran-5-ol	430.68	31	9	4	3	2	116.08	87.31	4.12	-6.01	High	Yes	6.81
(1E)-11-hydroxy-2,2-dimethyl-2H-pyran-5-ol	430.68	31	9	4	3	2	116.08	87.31	4.04	-6.01	High	Yes	6.81
(1E)-11-hydroxy-2,2-dimethyl-2H-pyran-5-ol	380.62	29	9	4	2	1	123.6	87.31	4.28	-6.12	High	Yes	5.82
Compound													
Baccharin	403.67	31	9	4	1	1	111.34	28.23	4.28	-6.12	High	Yes	5.82
2,6,10-trimethyl-2H-pyran-5-ol	426.67	31	9	4	2	1	112.52	87.31	4.87	-6.81	Low	Yes	6.81
2,6,10-trimethyl-2H-pyran-5-ol	426.67	31	9	4	2	1	112.52	87.31	4.87	-6.81	Low	Yes	6.81
(1E)-11-hydroxy-2,2-dimethyl-2H-pyran-5-ol	430.68	31	9	3	1	1	116.13	87.31	4.81	-6.78	High	Yes	6.81
Compound													
isocaulerpepsin	372.37	29	17	14	3	1	103.47	88.68	0	-10.15	Low	No	6.14
Caulerpepsin-17-C	372.37	29	9	15	3	1	86.14	41.73	1.74	1.36	High	Yes	4.81
isocaulerpepsin A	402.7	29	9	12	4	1	125.58	62.88	2.18	-6.52	Low	Yes	6.81
isocaulerpepsin	402.7	29	9	12	4	1	125.58	62.88	2.18	-6.52	Low	Yes	6.81
Baccharin	372.37	29	3	1	1	0	79.46	18.44	3.79	-4.16	High	Yes	4.81
Trifluorin	386.56	28	4	15	4	0	108.04	51.66	5.04	1.87	High	Yes	5.81
Caulerpepsin	422.68	44	9	20	3	2	203.38	45.33	6.37	-12.68	Low	No	9.81

*The bold values indicate the chemicals that fit Lipinski's Rule of 5.

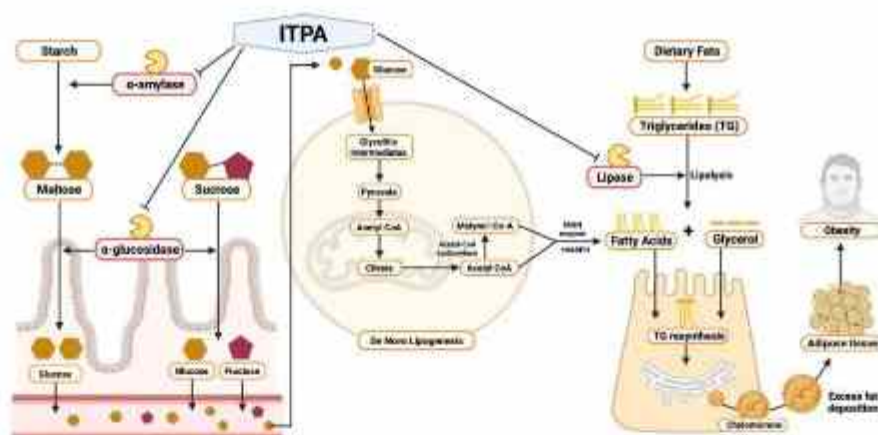
2.2.4 Manfaat *Caulerpa racemosa*

Telah diketahui bahwa negara-negara Asia terutama Jepang, Cina, dan Korea merupakan negara konsumen tertinggi rumput laut, diikuti Filipina, Indonesia, dan Malaysia. Hal ini telah dikaitkan dengan

manfaat kesehatan dari rumput laut yaitu memiliki efek kardioprotektif, neuroprotektif, dan antiinflamasi.⁵⁹

1. Antiobesitas dan *Antiaging*

Uji klinis oleh Permatasari H dkk (2022) menemukan enam senyawa utama yang diidentifikasi dari ekstrak *C. racemosa*. Salah satunya adalah 2-(1*H*-indol-3-yl)-3-[4-(trifluorometil)fenil]akrilonitril (ITPA) merupakan *the best-docked* yang menunjukkan aktivitas penghambatan untuk *lipase*, α -glukosidase dan α -amilase pada studi *in*

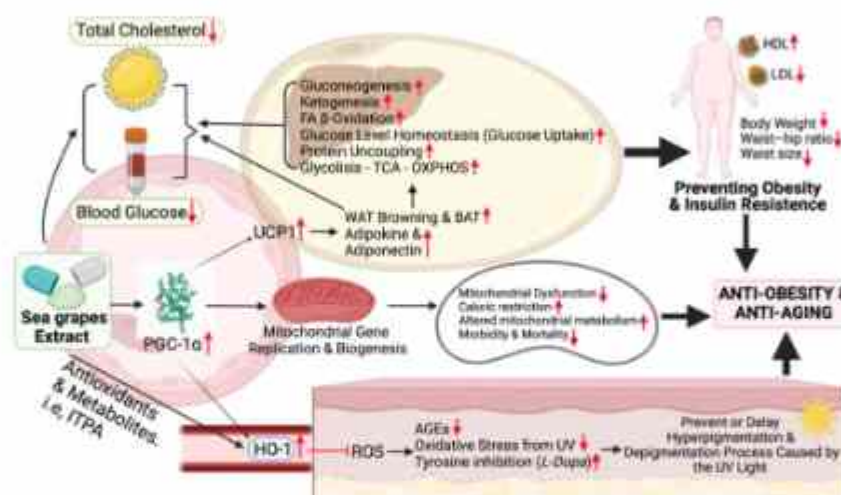


silico dan *in vitro*, seperti terlihat pada gambar 2.8.¹⁷

Gambar 2.8. Mekanisme farmakologi kandungan ITPA pada ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) sebagai antiobesitas secara studi *in silico* dan *in vitro*¹⁷

Pada gambar 2.8, dijelaskan bahwa PGC-1 α juga memiliki mekanisme untuk meningkatkan *uncoupling protein 1* (UCP1). UCP1 meningkatkan proses pencoklatan jaringan adiposit putih (*WAT Browning*) dan meningkatkan jaringan adiposit coklat (BAT), serta peningkatan

adipokin (adiponektin). PGC-1 α –UCP-1 berkontribusi pada kontrol pengambilan glukosa (homeostasis glukosa), glikolisis, β -oksidasi asam lemak, siklus asam trikarboksilat, fosforilasi oksidatif (OXPHOS), biogenesis mitokondria, glukoneogenesis, ketogenesis, dan pelepasan protein. Hal ini sejalan dengan penelitian uji klinis oleh Permatasari H, dkk (2022) bahwa pemberian ekstrak anggur laut pada (dosis 1,68 g/ 70 kgBB/hari) dapat menurunkan kolesterol total, glukosa darah, kolesterol LDL, trigliserida, berat badan, *waist hip ratio* (WHR), dan lingk pinggang serta terjadi peningkatan PGC-1 α pada subjek laki-laki obesitas (secara signifikan). Serum PGC-1 α juga akan menyebabkan peningkatan replikasi dan biogenesis gen mitokondria. Oleh karena itu, perbaikan mitokondria meningkat, pembatasan kalori meningkat dan perubahan metabolisme mitokondria meningkat, dan dengan demikian menurunkan risiko morbiditas dan mortalitas.¹⁷



Gambar 2.9. Kemungkinan skema efek antiobesitas dan *antiaging* dari ekstrak anggur laut¹⁷

Selanjutnya, penelitian oleh Mayulu N, *et al.* (2023) membuktikan efek *C. racemosa* terhadap mikrobiota usus pada tikus yang diberi diet tinggi lemak dapat mengubah komposisi *Firmicutes* dan *Bacteroidetes*.⁶⁰

2. Antikanker

Anggur laut *Caulerpa racemosa* telah menunjukkan potensi yang signifikan dalam pengobatan kanker melalui berbagai mekanisme, termasuk penghambatan protein kunci dan jalur yang terlibat dalam pertumbuhan tumor dan metastasis. Penelitian telah menunjukkan bahwa ekstrak dari *C. racemosa* menunjukkan efek sitotoksik terhadap sel kanker payudara, terutama melalui penghambatan protein HER2, yang sangat penting dalam perkembangan jenis kanker payudara tertentu.⁶¹

Penelitian oleh Permatasari H, dkk (2022) menunjukkan bahwa *Caulerpa racemosa* secara signifikan menghambat migrasi penyembuhan luka sel kanker HeLa secara *in vitro*. Selain itu didapatkan pula efek *Caulerpa racemosa* dalam menurunkan regulasi ekspresi protein Snail dan Vimentin serta meningkatkan regulasi ekspresi protein *E-Cadherin*.⁶²

3. Antioksidan dan Antibakterial

Anggur laut mendapatkan banyak perhatian karena sifat antioksidan dan antibakterinya. Penelitian oleh Fai-Yap M, dkk (2019) menunjukkan bahwa *C. racemosa* terbukti memiliki potensi antioksidan dan efek antibakteri yang menjanjikan terhadap bakteri Gram positif. Selain itu, terdapat korelasi positif antara *Total Phenol Content* (TPC)

sebagai antioksidan dan aktivitas antibakteri dari *C. racemosa* menunjukkan bahwa kedua sifat ini dapat dikontribusikan oleh fenolik tetapi bukan flavonoid, karena perbedaan tren dalam hasil TFC.⁶³

2.3 Senyawa Target Protein

Berikut adalah beberapa target protein yang merupakan jalur mekanisme molekular yang berperan dalam patofisiologi PCOS sehingga dapat menjadi target strategi terapeutik dalam penanganan PCOS.

2.3.1 Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ (PPAR- γ)

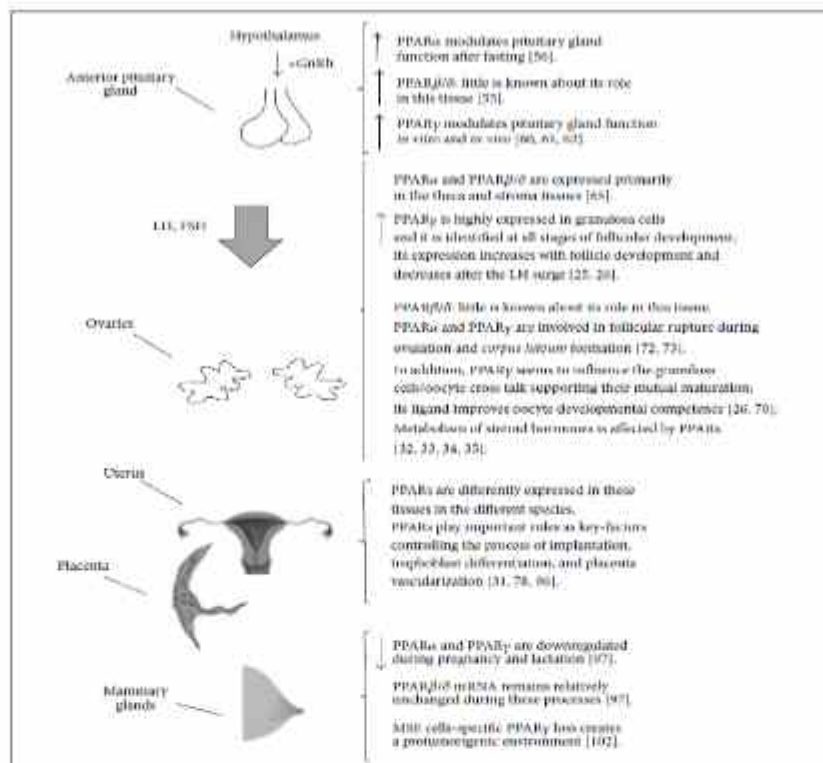
PPAR- γ adalah faktor transkripsi yang diaktifkan ligan dan anggota superfamili *nuclear receptor* yang mengatur ekspresi gen protein yang terlibat dalam metabolisme glukosa, metabolisme lipid, proliferasi dan diferensiasi jaringan adiposa serta sensitivitas insulin.⁶⁴

Tabel 2.11. Gambaran umum tentang fungsi metabolisme dasar isotype PPAR⁶⁵

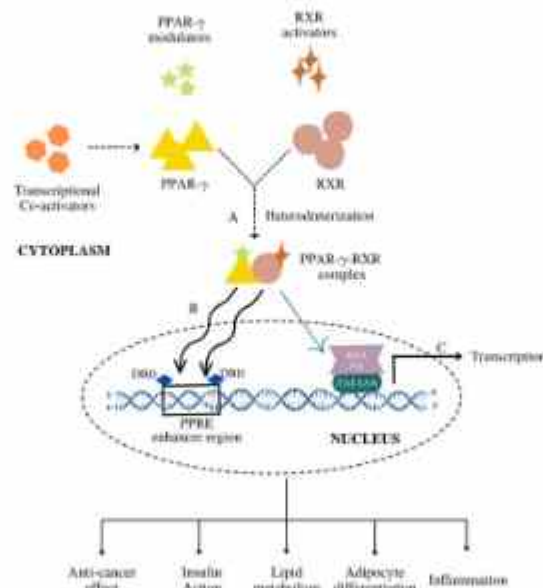
PPAR Isotype	Site of Elevated Expression	Cellular Mechanisms Initiated	Biological Function	Genes Targeted
PPAR- α	Heart, liver and kidney	β -oxidation of fatty acids, synthesis of lipoprotein and regulating metabolic pathways of amino acids	Complementation of metabolic reaction to fasting	Hydroxymethylglutaryl CoA synthase 2 (HMG-CoA S2)
PPAR- β/δ	Adipocytes and macrophages	Differentiation pathways of adipocytes and production of triglycerides	Differentiation pathways of adipocytes and fatty acid trapping	Fatty acid binding protein 4 (FABP4)
PPAR- γ	Adipocytes, skin and brain	β -oxidation of fatty acids	Coordination of muscle fibers and determination of its types	Acyl CoA Oxidase (AOX)

PPAR- α mRNA terutama diekspresikan di sel theca dan stroma ovarium, PPAR- β mRNA terdeteksi di seluruh ovarium, sedangkan

PPAR- γ mRNA terbatas terutama pada sel granulosa dalam folikel yang sedang berkembang selama kehamilan semu dan siklus menstruasi. Lebih tepatnya, ekspresi PPAR diaktifkan pada saat folikulogenesis selama tahap folikel awal, mengarah ke tahap folikel besar, dan terjadi downregulasi setelah lonjakan LH. Penelitian oleh Giangalia dkk (2018) menunjukkan bahwa varian PPAR- γ ekson 2 dan ekson 6 berkorelasi dengan hormon (17-estradiol, kadar testosteron bebas) dan / atau profil metabolik wanita dengan PCOS, dengan demikian menunjukkan efek protektifnya terhadap resistensi insulin dan fungsi sel β .¹¹



Gambar 2.10. Ekspresi dan peran PPAR pada sistem reproduksi wanita ⁸⁶



Gambar 2.11. Mekanisme aktivasi PPAR- γ yang diikuti oleh transkripsi gen dan peran PPAR- γ ⁶⁵

(A) PPAR-setelah berikatan dengan modulornya (endogen, alami, sintetis) heterodimerisasi dengan RXR menjadi membentuk kompleks heterodimerisasi PPAR-RXR. (B) Kompleks ini ditranslokasi ke dalam nucleus dan berikatan dengan domain pengikat DNA (DBD) dari PPAR *response elements* (PPRE) *enhancer region*. (PPRE). (C) Pengikatan semacam itu mengarah pada aktivasi transkripsi gen target yang menghasilkan berbagai metabolisme kaskade seperti aksi insulin, metabolisme lipid dan efek anti-kanker.

PPAR- γ telah menjadi target terapi yang penting. ERR- α juga terkait erat dengan berbagai penyakit metabolik. Saat ini, sebagai ligand sintetis yaitu thiazolidinediones, sebagai agonis PPAR- γ , telah digunakan dalam pengobatan klinis sindrom metabolik, dan diharapkan dapat memainkan peran penting dalam pengobatan inflamasi dan tumor. Namun sejumlah besar penelitian juga telah mengeksplorasi efek agen alami/fitofarmasi (ligand alami) yang berasal dari tumbuh-tumbuhan atau herbal terhadap ekspresi PPAR pada PCOS. Karena pengobatan farmasi standar saat ini untuk PCOS hanya bersifat simptomatik, tetapi tidak

menyembuhkan, agen alami dapat mewakili terapi alternatif yang lebih aman untuk penderita PCOS.^{11,65}

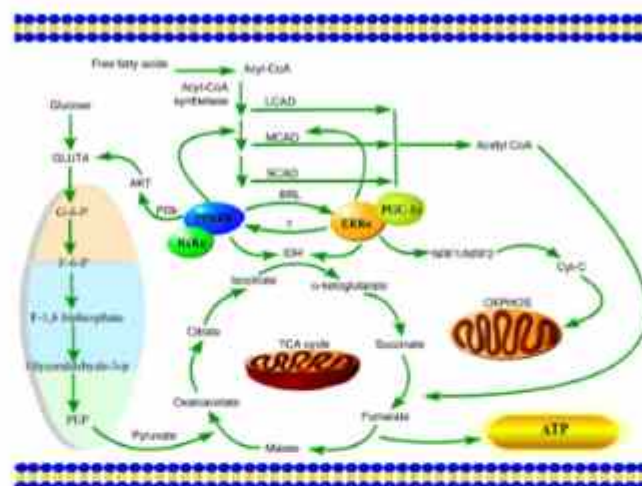
2.3.2 Estrogen Receptor 1 (ESR1)

PCOS merupakan gangguan endokrin umum yang ditandai dengan disfungsi ovulasi, hiperandrogenisme, dan gangguan metabolisme, dengan reseptor estrogen memainkan peran penting dalam patofisiologinya. Sekresi siklik estrogen dan interaksinya dengan reseptor terkait berperan penting dalam fungsi ovarium dan regulasi proliferasi dan diferensiasi endometrium. Jika kadar hormon secara konsisten terganggu pada wanita, hal ini akan memengaruhi ovarium yang mengarah pada pembentukan kista di ovarium. Demikian pula, kelainan endokrin dan metabolisme yang berhubungan dengan PCOS dapat meningkatkan risiko hiperplasia endometrium dan kanker pada wanita. Dengan demikian, infertilitas pada PCOS tidak hanya diakibatkan oleh anovulasi, tetapi juga oleh disfungsi endometrium.¹²

Kerja estrogen dimediasi melalui jalur genomik oleh ER α dan ER β jalur non-genomik melalui reseptor estrogen berpasangan G-protein (GPER), memengaruhi aktivitas seluler seperti ovulasi dan proliferasi sel. Selanjutnya, polimorfisme genetik dalam gen reseptor estrogen, seperti ESR1 PvuII-rs2234693, dan miRNA-146a telah dikaitkan dengan kerentanan PCOS, menyoroti dasar-dasar genetik dari disfungsi terkait ER pada sindrom ini.⁶⁷ Berdasarkan genomik fungsional PCOS, dengan fokus

pada kandidat lokus seperti FSHR, LHCGR, INSR, dan DENND1A. Gen-gen ini membentuk jaringan pensinyalan yang mengatur biosintesis androgen sel theca. Reseptor estrogen terlibat dalam jaringan ini yang berdampak pada ketidakseimbangan hormon yang terlihat pada PCOS.⁶⁸

PPAR- γ memengaruhi glikolisis melalui jalur pensinyalan PI3K/p-Akt. Piruvat yang dihasilkan oleh glikolisis memasuki mitokondria untuk menghasilkan ATP melalui siklus TCA. ERR α memengaruhi oksidasi asam lemak dengan mengatur MCAD dan juga memengaruhi OXPHOS melalui penargetan gen NRF1 / NRF2. Asetil KoA diproduksi melalui β -oksidasi asil-KoA dan berpartisipasi dalam siklus TCA untuk menghasilkan ATP. Rantai pernapasan mitokondria berpasangan dengan *ATP sintase* untuk menyelesaikan proses OXPHOS dan menghasilkan ATP (Gambar 2.12).⁶⁹



Gambar 2.12. ERR α dan PPAR γ dalam metabolisme energi⁶⁹

LCAD (long-chain acyl-CoA dehydrogenase); MCAD (medium-chain acyl-CoA dehydrogenase); SCAD (short-chain acyl-CoA dehydrogenase); TCA (tricarboxylic acid cycle); OXPHOS (oxidative phosphorylation); ATP (adenosine triphosphate); ERR α (estrogen receptor-associated receptor α); PPAR γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ); GLUT4 (glucose transporter type 4); G-6-P (glucose 6-phosphate); F-6-P (fructose 6-phosphate); PEP (phosphoenolpyruvate); RXR α (retinoid X receptor α); PGC-1 α (peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator-1 α); NRF (nuclear factor erythroid 2-related factor); Cyt-c (cytochrome-c); IDH (isocitrate dehydrogenase).

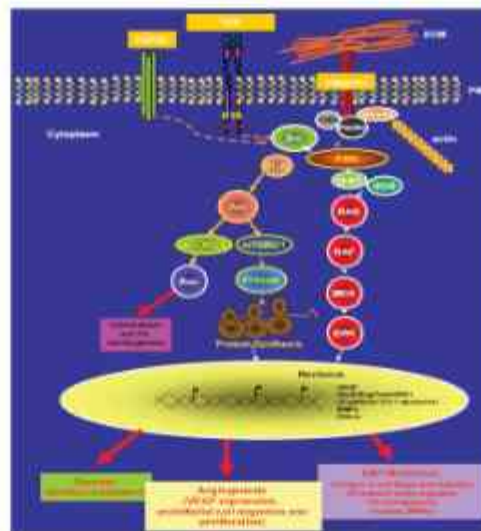
2.3.3 Src

The Src family kinases, terutama Src sendiri, memainkan peran penting dalam jalur pensinyalan insulin. Pada PCOS, perubahan dalam pensinyalan insulin dapat menyebabkan cacat pada fosforilasi otomatis reseptor insulin, yang sangat penting untuk aktivasi jalur pensinyalan hilir yang mengatur pengambilan glukosa dan steroidogenesis ovarium.^{70,71} Ekspresi protein substrat reseptor insulin yang menyimpang, seperti protein adaptor yang mengandung domain SH2 (Lnk), telah terlibat dalam penghambatan jalur pensinyalan kritis seperti *phosphatidylinositol 3-kinase* (PI3K) dan protein kinase yang diaktifkan oleh mitogen (MAPK), yang sangat penting untuk fungsi ovarium normal.^{71,72} Gangguan ini dapat menyebabkan gangguan perkembangan folikel dan peningkatan produksi androgen dari sel theca, yang semakin memperumit lingkungan hormonal pada PCOS.⁷³

Diperkirakan bahwa kemungkinan salah satu penyebab genetik resistensi insulin pada PCOS akibat ekspresi yang tinggi dari protein adaptor yang mengandung domain Src homology 2 (SH2) yang mengandung protein adaptor (Lnk) pada garis sel ovarium wanita PCOS, yang menghambat *fosfatidilinositol 3 kinase* (PI3K) dan pensinyalan protein kinase yang diaktifkan mitogen (MAPK) sebagai respons terhadap insulin.⁷²

Src adalah protein tirosin kinase non-reseptor yang awalnya diidentifikasi sebagai onkogen, dan diekspresikan dalam tumor manusia.

Src kinase terlibat dalam dalam regulasi kelangsungan hidup sel, berbagai proses seluler, termasuk proliferasi dan apoptosis serta motilitas, angiogenesis, dan pertumbuhan. *Src* merupakan proto-onkogen terkenal yang terlibat dalam biologi kanker. *Src* juga dapat memengaruhi metabolisme sel kanker, seperti glikolisis dan fosforilasi oksidatif, sehingga *Src* terlibat dalam pertumbuhan tumor dan metastasis yang memediasi pensinyalan intraseluler telah diusulkan sebagai pendekatan target terapeutik yang menjanjikan dalam pengobatan kanker.^{74,75}



Gambar 2.13. Jalur pensinyalan yang dimediasi kompleks FAK / Src⁷⁶

Kompleks FAK / Src mentransduksi sinyal dari berbagai reseptor membran seperti reseptor tirosin kinase dan integrin melalui aktivasi intraseluler jalur pensinyalan seperti PI3K-Akt dan Ras-MAPK untuk mencapai respons seluler

ERK, extracellular signal regulated kinase; FA, focal adhesions; MEK, mitogen-activated protein; FAK, focal adhesion kinase; VEGF, vascular endothelial growth factor; MMPs, matrix metalloproteinases

Karena peran sentral mTORC1 dalam mengendalikan pertumbuhan sel dan metabolisme, banyak penelitian telah menyelidiki regulasi mTORC1 oleh onkogen dan penekan tumor yang terlibat dalam

bentuk kanker familial atau sporadik. Di antaranya, *tirosin kinase* non-reseptor, Src, adalah onkogen sangat penting. Beberapa penelitian telah mengidentifikasi Src sebagai komponen penting dari jalur transduksi sinyal yang mengontrol pertumbuhan sel kanker.⁷⁷

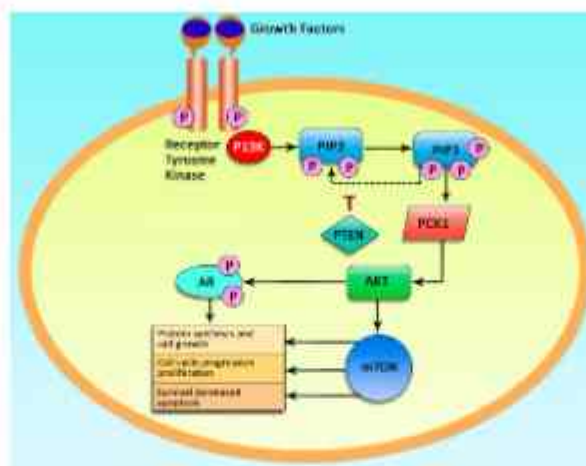
2.3.4 PIK3CA

Gen *phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic* subunit alpha (PIK3CA) mengkode protein p110- α , subunit katalitik *Phosphoinositide 3-kinase* (PI3K). Jalur PI3K / protein kinase B (AKT) / target mamalia dari pensinyalan rapamycin (mTOR) mengatur banyak proses vital seperti pertumbuhan sel, kelangsungan hidup dan metabolisme. Pensinyalan PI3K memainkan peran penting dalam proses seluler termasuk proliferasi sel, migrasi, transportasi di dalam sel dan yang paling penting, kelangsungan hidup sel. Aktivasi PI3K dan produksi PIP3 selanjutnya memediasi berbagai *downstream pathway* yang terlibat dalam beberapa fungsi seluler termasuk jalur perkembangan tumor.⁷⁸

PIK3CA mengkodekan komponen penting dari jalur pensinyalan PI3K-AKT dan umumnya mengalami mutasi pada banyak jenis kanker. Telah dilaporkan bahwa PI3K terlibat dalam proliferasi, diferensiasi, dan apoptosis sel. Gen PIK3CA mengkode subunit katalitik P110 α dari PI3K. Mutasi PIK3CA dapat secara tidak normal mengaktifkan jalur transduksi sinyal PI3K/ *protein kinase B* (AKT) / Target Mamalia Rapamycin (mTOR).^{13,79}

Penelitian telah menunjukkan adanya korelasi antara gejala-gejala PCOS dan respons inflamasi. Telah dibuktikan bahwa regulasi jalur pensinyalan PI3K/AKT dikaitkan dengan inflamasi dan stres oksidatif pada sel granulosa pasien PCOS.⁴¹

Mengingat bahwa PCOS adalah gangguan metabolisme dan endokrin yang ditandai dengan disfungsi ovarium, resistensi insulin, dan hiperandrogenisme, keterlibatan jalur PI3K/AKT bisa menjadi signifikan. Peran jalur dalam kelangsungan hidup sel, pertumbuhan, dan metabolisme menunjukkan bahwa mutasi PIK3CA dapat memengaruhi patofisiologi PCOS serta berpotensi memengaruhi fungsi ovarium dan regulasi metabolisme.⁷⁹



Gambar 2.14. *The phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/AKT/mTOR pathway*¹³

Jalur pensinyalan utama diinisiasi oleh *Growth Factor* yang mengaktifkan tirosin kinase untuk memulai serangkaian *downstream reactions* yang memicu P13K untuk menghasilkan pembawa pesan kedua (PIP3). PIP3 mengaktifkan kaskade pensinyalan penting dalam proliferasi, migrasi, transportasi, dan kelangsungan hidup sel.

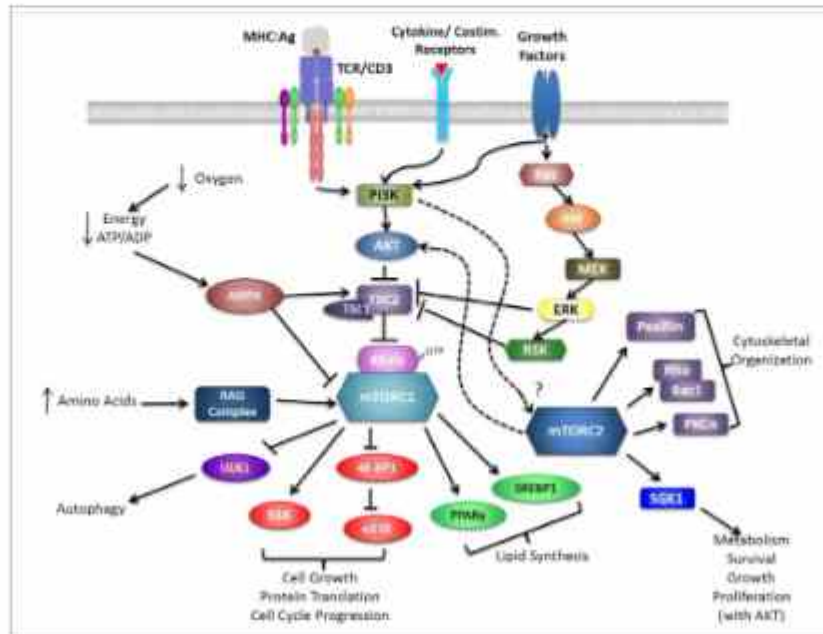
2.3.5 mTOR

Target mamalia rapamycin, mTOR, adalah protein kinase serin-treonin *downstream* PI3K-AKT. Jalur ini dapat mengatur pertumbuhan, proliferasi, dan kelangsungan hidup sel serta metabolisme dan *autophagy* dengan mengaktifkan kinase ribosom. Penelitian terbaru telah melibatkan jalur pensinyalan mTOR dalam neoplasma ovarium, PCOS dan kegagalan ovarium prematur.^{80,81}

Selama folikulogenesis, folikel primordial berkembang menjadi folikel primer, preantral, antral, dan preovulasi, dan akhirnya dapat melepaskan oosit untuk fertilisasi. Aktivasi folikel primordial, yang merupakan awal perkembangan folikel setelah pubertas, menentukan cadangan ovarium dan umur reproduksi. Pensinyalan mTOR terlibat dalam perubahan ini.⁸¹

Penelitian preklinik telah menunjukkan bahwa jalur PI3K/AKT/mTOR sering diaktifkan dalam mengendalikan berbagai fungsi ovarium. mTOR memungkinkan sel kanker keluar dari sistem biokimiawi normal dan mengatur keseimbangan antara apoptosis dan kelangsungan hidup. Beberapa penelitian terbaru menunjukkan bahwa keterlibatan sistem pensinyalan mTOR merupakan dasar patofisiologis yang penting dari PCOS. Ekspresi berlebih dari jalur mTOR dapat menyebabkan resistensi insulin dan memengaruhi pertumbuhan folikel secara langsung. Untuk meningkatkan pemahaman tentang peran jalur pensinyalan mTOR dalam patogenesis dan perkembangan penyakit ovarium terutama pada

PCOS, maka jalur pensinyalan mTOR dapat menjadi strategi terapeutik dengan menargetkan jalur ini.⁸²



Gambar 2.15. The mTOR signaling pathway⁸³

Gambar 2.15 menunjukkan mTOR kompleks 1 (mTORC1) diaktifkan oleh sinyal ekstraseluler seperti keterlibatan TCR dan stimulasi bersama CD28, insulin, dan faktor pertumbuhan melalui jalur PI3K / Akt dan Ras / RAF / MED / ERK / RSK. Secara intraseluler, asam amino yang cukup diperlukan untuk aktivasi mTORC1 dimana oksigen dan energi yang rendah menghambat mTORC1. Di bagian hilir (*downstream*), mTORC1 mengaktifkan pertumbuhan sel dan translasi protein melalui S6K dan eIF4E serta sintesis lipid melalui PPAR- γ dan SREBP1, sekaligus menghambat autophagy melalui ULK1. Jalur pensinyalan mTOR kompleks 2 (mTORC2) diperkirakan diaktifkan oleh faktor pertumbuhan melalui jalur PI3K yang berbeda dari mTORC1. Di bagian hilir (*downstream*), mTORC2

mengaktifkan Akt, menempatkannya di bagian hulu (*upstream*), pensinyalan mTORC1, dan SGK1, yang keduanya memengaruhi metabolisme, kelangsungan hidup, pertumbuhan, dan proliferasi. mTORC2 juga memengaruhi organisasi sitoskeletal melalui aktivasi Paxillin, PKC- α , Rho, dan Rac1.⁸³

2.4 Network Pharmacology

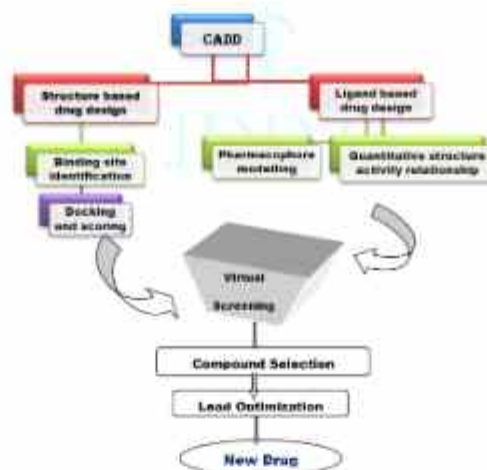
Proses penemuan dan pengembangan obat baru penuh dengan tantangan, membutuhkan waktu dan sumber daya yang besar, hingga seringkali kandidat obat tidak tepat karena berbagai faktor seperti afinitas pengikatan yang buruk, efek di luar target, atau sifat fisikokimia, seperti kelarutan atau stabilitas. Oleh karena itu, penemuan dan pengembangan obat secara klasik saat ini sudah banyak ditinggalkan karena memiliki banyak risiko, biaya dan waktu yang panjang. Saat ini, perangkat komputer telah banyak digunakan pada industri farmasi dan penelitian untuk meningkatkan efektivitas dan efikasi dari penemuan dan pengembangan sebuah obat, yang mengarah pada pendekatan rasional melalui komputasi (*in silico*).^{84–86}

Pendekatan desain obat berbasis komputer (*Computer Aided Drug Design/CADD*) secara luas digunakan untuk meningkatkan efisiensi pada langkah penemuan dan pengembangan obat baru. Pendekatan CADD terdiri dari pendekatan *structure-based drug design* dan *ligand-based drug*

design. Kedua metode ini dapat diaplikasikan dengan *Molecular Docking* untuk skrining virtual yang diawali identifikasi dan optimasi.⁸⁴



Gambar 2.16. Prinsip Umum untuk Desain Obat melalui CADD⁸⁴



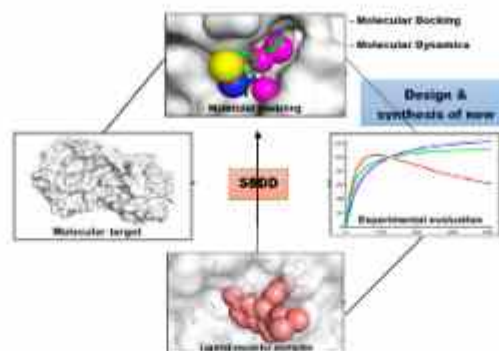
Gambar 2.17. Representasi umum alur kerja untuk CADD⁸⁴

Pendekatan rasional melalui komputasi dapat mempersingkat waktu penelitian yakni dengan mengidentifikasi target dan senyawa dari database yang telah tersedia (*Protein Data Bank, PubChem, PubMed, OMIM*, dsb). Proses penemuan obat melalui pendekatan komputasi identik dengan proses penemuan obat menggunakan teknologi *High throughput screening* (HTS) yang digunakan oleh industri farmasi.⁸⁷

2.5 Penambatan Molekuler

Molecular docking atau penambatan molekuler adalah metode insiliko yang memprediksi penempatan molekul kecil atau ligan di dalam situs aktif protein target (reseptor). Metode ini terutama digunakan untuk memperkirakan secara akurat mode pengikatan yang paling menguntungkan dan afinitas biologis ligan dengan reseptornya, yang saat ini telah diterapkan secara luas pada skrining virtual.⁸⁴

Metodologi terdiri dari tiga tujuan utama yang saling berhubungan satu sama lain seperti: prediksi pose pengikatan, afinitas biologis, dan skrining virtual. Dalam metode penambatan molekuler, alat dasar adalah algoritme pencarian dan fungsi penilaian (skoring) untuk membuat dan menganalisis konformasi.⁸⁴

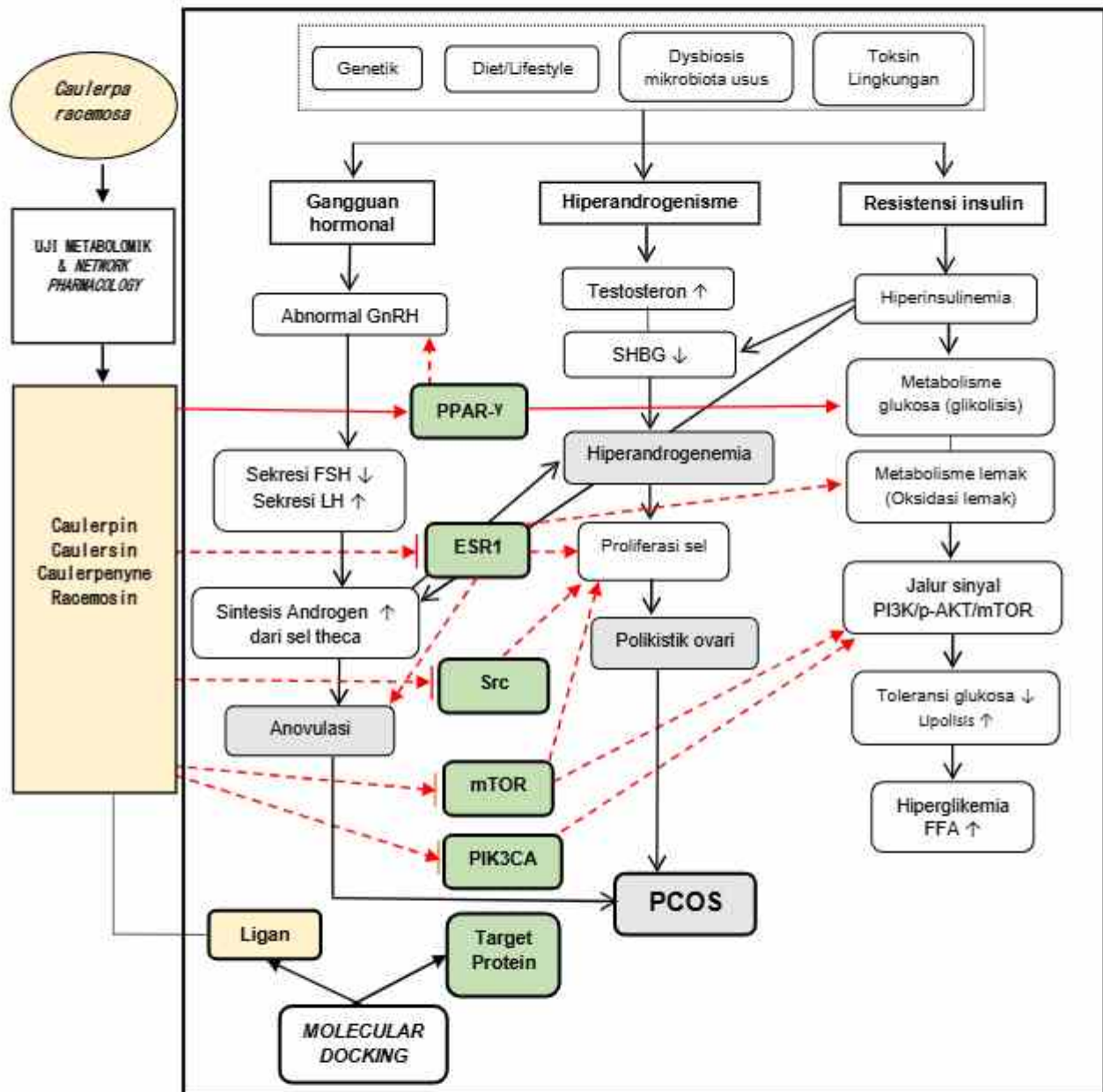


Gambar 2.18. Layout of SBDD⁸⁴



Gambar 2.19. Proses Penambatan Molekuler⁸⁴

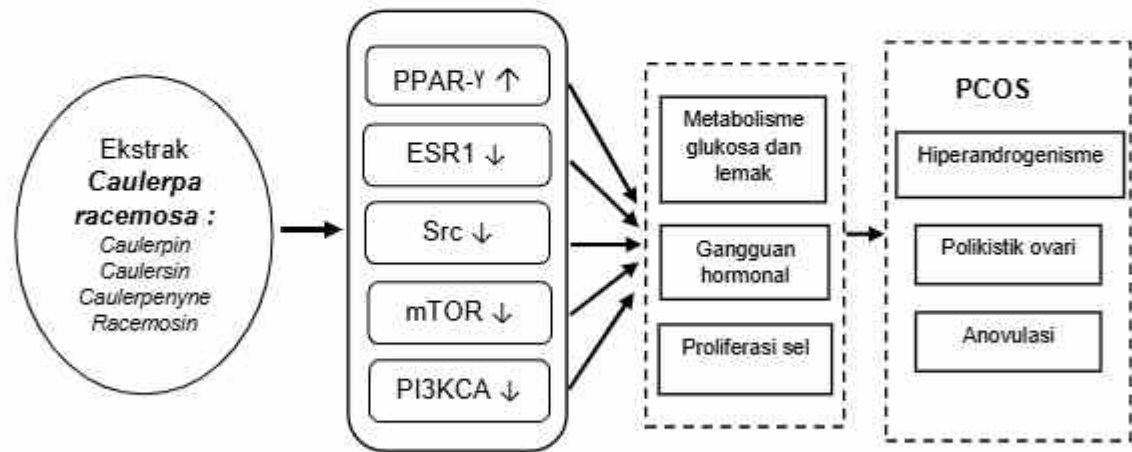
2.6 KERANGKA TEORI



Keterangan :

→ : Menstimulasi
 ---> : Menghambat

2.7 KERANGKA KONSEP



Keterangan :

-  : Variabel independen
-  : Variabel antara
-  : Variabel dependen
-  : Variabel diteliti
-  : Variabel tidak diteliti

2.8 HIPOTESIS PENELITIAN

1. Hasil eksplorasi senyawa bioaktif dari ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) adalah senyawa *caulerpipin*, *caulersin*, *caulerpipen* dan *racemosin*.
2. Target protein utama yang berperan pada patofisiologi PCOS adalah PPAR- γ , ESR1, Src, PIK3CA dan mTOR.
3. Senyawa bioaktif dari ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) memiliki afinitas tinggi terhadap target protein (PPAR- γ , ESR1, Src, PIK3CA dan mTOR) pada PCOS.
4. Simvastatin (kontrol positif 1) memiliki afinitas tinggi dengan target protein (PPAR- γ , ESR1, Src, PIK3CA, dan mTOR) pada PCOS.
5. Orlistat (kontrol positif 2) memiliki afinitas tinggi dengan target protein (PPAR- γ , ESR1, Src, PIK3CA, dan mTOR) pada PCOS.
6. Senyawa bioaktif dari ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) memiliki toksisitas yang lebih aman daripada obat kontrol.
7. Senyawa bioaktif dari ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) memiliki potensi anti-PCOS terhadap target protein (PPAR- γ , ESR1, Src, PIK3CA, dan mTOR).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang bertujuan untuk mengetahui potensi anggur laut (*Caulerpa racemosa*) sebagai terapi novel pada Sindrom Polikistik Ovarium (PCOS) berdasarkan uji metabolomik dan insiliko melalui pendekatan *network pharmacology* dan penambatan molekuler.

3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmasi Program Studi Sains Biomedis, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta dan Laboratorium Pusat Ilmu Hayati, Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia. Penelitian dilaksanakan pada November 2024 - Januari 2025 di Makassar, Sulawesi Selatan.

3.3 Variabel Penelitian

a. Variabel Independen

Variabel independen adalah anggur laut (*Caulerpa racemosa*)