

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Human Immunodeficiency Virus (HIV)

II.1.1 Definisi

Infeksi yang dikenal sebagai HIV menargetkan sistem kekebalan tubuh, khususnya sel CD4, yang merupakan sel darah putih. (WHO,2023). HIV adalah virus yang melemahkan sistem kekebalan tubuh manusia dengan menyerang sel darah putih. Virus HIV menyebabkan penurunan sistem kekebalan tubuh manusia, yang mengakibatkan AIDS, sekelompok gejala atau indikator penyakit. Setiap orang yang telah menerima diagnosis HIV/AIDS positif sering disebut sebagai ODHA. (Kemenkes, 2020)

Sel limfosit T (CD4), yang merupakan bagian dari sistem imun, adalah sel darah putih yang menjadi target HIV pada individu yang terinfeksi. HIV adalah jenis virus yang merupakan anggota famili retrovirus. HIV menghancurkan sel limfosit yang diinfeksi dan berkembang biak di sana, mengganggu sistem imun dan semakin mengurangi daya tahan tubuh. Di sisi lain, AIDS yang disebabkan HIV adalah penyakit immunosupresif yang dapat menyebabkan infeksi oportunistik dan kanker yang berpotensi fatal. Karena efek samping dan perkembangan resistansi obat, semakin banyak orang HIV-positif tidak dapat menggunakan obat anti-HIV yang saat ini disetujui, seperti inhibitor transkriptase balik dan protease. (Kemenkes, 2020)

Pada tahun 1983 Luc Montaner mendefinisikan Human Immunodeficiency Virus (HIV) adalah virus yang diklasifikasikan dalam:

Family	: Retroviridae,
Subfamily	: Lentivirinae,
Genus	: Lentivirus.

II.1.2 Epidemiologi HIV

Salah satu masalah kesehatan utama adalah HIV/AIDS, yang menjadi perhatian kesehatan global karena prevalensinya meningkat. Hingga akhir Juni 2020, sekitar 26 juta orang menerima pengobatan antiretroviral, menurut Laporan Program HIV/AIDS Perserikatan Bangsa-Bangsa. Selain itu, terdapat sekitar 38 juta orang yang positif HIV di dunia pada tahun 2019, 1,7 juta infeksi HIV baru, 690.000 kematian terkait AIDS, 75,7 juta infeksi HIV sejak dimulainya epidemi pada tahun 2019, dan 32,7 juta kematian terkait AIDS. (UNAIDS, 2019)

Di luar Afrika sub-Sahara, Asia dan Pasifik telah membuat langkah besar dalam memerangi epidemi regional ini. Pada tahun 2021, terdapat 6 juta orang yang positif HIV di Asia Pasifik (4,9 juta hingga 7,2 juta). Tingkat penekanan virus, pengujian, diagnosis, dan terapi semuanya membaik di wilayah tersebut. 76% orang yang hidup dengan HIV menyadari status mereka pada tahun 2021, dan 86% dari orang tersebut menerima perawatan (66% dari semua orang yang positif HIV). Profilaksis prapajanan oral (PrEP), tes HIV mandiri, dan intervensi virtual termasuk di antara strategi inovatif yang digunakan di seluruh wilayah; namun, upaya yang lebih besar kini diperlukan untuk meningkatkan skala strategi ini guna mengatasi kesenjangan yang signifikan dalam cakupan layanan di antara populasi kunci.

Kementerian Kesehatan Republik Indonesia merilis laporan pada tahun 2022 yang merinci perkembangan HIV/AIDS di negara ini selama kuartal kedua tahun tersebut. Hingga Juni 2022, 34 provinsi di Indonesia melaporkan 503 kasus HIV/AIDS dari 514 kabupaten dan kota. Dari jumlah tersebut, hanya 466 kabupaten/kota yang melaporkan kasus HIV/AIDS antara Januari dan Juni 2022. Hingga Juni 2022, 11 kabupaten dan kota belum melaporkan kasus HIV/AIDS. Menurut hasil tes HIV yang dilakukan terhadap 986.288 orang antara April dan Juni 2022, 8.972 orang menerima pengobatan ARV, sementara 11.100 orang dinyatakan positif HIV.

II.1.3 Terapi HIV

Terapi utama pada pengidap HIV adalah pemberian antiretroviral (ARV), tanpa terapi ARV, banyak orang yang terinfeksi dan hidup dengan HIV mengalami defisiensi imun yang progresif ditandai dengan berkurangnya jumlah CD4 yang menyebabkan AIDS hingga kematian. Tujuan dari terapi ARV adalah untuk mencegah infeksi dan kematian terkait HIV. (Kemenkes RI, 2019). Semua orang dengan HIV menerima pengobatan ARV, terlepas dari jumlah CD4 atau stadium klinis mereka. Dalam tujuh hari setelah diagnosis dan evaluasi klinis, pengobatan ARV akan dimulai bagi mereka yang tidak menunjukkan tanda-tanda infeksi oportunistik. Pengobatan, khususnya bagi wanita hamil, akan dimulai pada hari yang sama bagi individu yang sedang mempersiapkan diri untuk memulai ARV. Di sisi lain, pengobatan ARV akan dimulai setelah pengobatan bagi ODHA yang menderita penyakit oportunistik seperti TB atau meningitis kriptokokus. (Kemenkes RI, 2019).

Kombinasi terapi lini pertama adalah pilihan untuk remaja dan dewasa yaitu kombinasi TDF + 3TC (atau FTC) + EFV. Untuk orang dewasa kombinasi lini pertama terdiri dari 3 regimen antiretroviral, regimen tersebut harus terdiri dari 2 jenis NRTI + 1 jenis NNRTI yaitu: TDF + 3TC (atau FTC) + EFV dalam kombinasi dosisi tetap, adalah pilihan regimen terapi ARV lini pertama. (Kemenkes RI, 2019). Intensitas pada pemantauan klinis bervariasi berdasarkan tanggapan terhadap pengobatan ARV. Selama pengobatan ARV akan ada pemantauan klinis ada minggu kedua, keempat, kedelapan, keduabelas, dan kedua puluh empat sejak awal pengobatan ARV. Setelah pasien telah mencapai stabilitas maka pemantauan akan dilanjutkan setiap enam bulan. Pemantauan pada CD4 juga perlu dilakukan secara rutin setiap 3 atau 6 bulan, atau bisa lebih sering jika terdapat tanda-tanda klinis yang memerlukannya. Untuk pemeriksaan hemoglobin dan pemeriksaan kimia darah lainnya juga diperlukan jika terdapat gejala yang menunjukkan terjadi masalah dalam pengobatan, bukan sebagai pemeriksaan rutin. Pemantauan terhadap hemoglobin harus dilakukan sejak awal terapi ARV jika menggunakan AZT dengan kadar CD4 antara 250-350 sel/mm³. (Kemenkes RI, 2019)

II.1.4 Etiologi HIV

HIV adalah jenis virus retrovirus yang menyebabkan terjadinya AIDS. Karakteristik virus ini adalah menyebabkan imunosupresi dan memiliki masa inkubasi yang panjang dimana infeksi terjadinya sebelum munculnya gejala. (Klatt, 2020). Sistem kekebalan tubuh manusia diserang oleh virus HIV, membuat seseorang lebih rentan terhadap infeksi dan kurang mampu melawan penyakit. Tahap infeksi HIV AIDS yang paling menyebar adalah (WHO, 2020). HIV dapat menyebar selama menyusui dan dari ibu hamil ke janinnya. HIV juga dapat menyebar melalui penggunaan jarum suntik secara bergantian, transfusi darah, dan hubungan seks. (Ghosn et al., 2018)

HIV tergolong virus asam ribonukleat (RNA), sejenis retrovirus. Reverse transcriptase adalah enzim lain yang ditemukan dalam retrovirus yang memiliki kemampuan untuk mengubah kode RNA menjadi asam deoksiribonukleat (DNA). Sel manusia kemudian dapat menjadi pabrik HIV sebagai hasil dari integrasi DNA retrovirus ke dalamnya. Intinya, sistem imun dan subset sel manusia yang dikenal sebagai sel diferensial 4 (CD4) berfungsi sebagai sel inang. (French, 2015)

II.1.5 Patofisiologi

HIV dapat masuk ke dalam tubuh melalui tiga cara berbeda: transeksual, vertikal, dan horizontal. HIV dapat masuk ke dalam aliran darah secara langsung melalui dinding pembuluh darah yang tertusuk benda tajam atau secara tidak langsung melalui mukosa dan kulit. Karena sel CD4 merupakan target utama HIV, sel tersebut akan hancur total selama replikasi HIV. Seperti retrovirus lainnya, human immunodeficiency virus, atau HIV, dapat bertahan dalam jangka waktu lama di dalam sel yang tidak membelah secara aktif. HIV akan tumbuh di dalam limfosit atau bereplikasi menggunakan enzim reverse transcriptase. Karena HIV dapat aktif kapan saja dan menyebar saat seseorang masih hidup, virus yang tidak aktif yang ditemukan dalam sel tubuh pasien HIV dianggap menular. Diperlukan waktu lima hingga sepuluh tahun bagi orang yang positif HIV untuk mencapai tahap AIDS. Jumlah CD4 turun dari 200 sel/a setelah tahap AIDS. Orang yang memiliki kondisi ini lebih mungkin tertular virus, bakteri, protozoa, dan jamur lain,

mengembangkan kanker termasuk sarkoma Kaposi, dan mengalami penurunan berat badan kronis. Hal ini disebabkan oleh sistem kekebalan tubuh yang hilang atau rusak. (Klatt, 2020)

II.2 Kimia Komputasi

Pendekatan komputasional (*in silico*) merupakan dasar dari teknik pengembangan obat yang paling canggih. Untuk pembuatan dan pengujian hipotesis farmakologis, teknik kimia komputasional telah dikembangkan dan kini sering digunakan. (ekins dkk., 2007). Karena kimia komputasional memiliki keunggulan dibandingkan kimia eksperimental, ia dianggap sebagai ilmu yang menjembatani kesenjangan antara kimia teoretis dan eksperimental. (Kothandan, 2017). Masalah yang tidak dapat dipecahkan melalui eksperimen dapat dipecahkan menggunakan kimia komputasional. Kimia komputasional menguraikan berbagai macam sistem kimia. (pranowo,2002). Selain sederhana, terjangkau, dan aman, teknik kimia komputasional menghasilkan temuan pengujian yang jauh lebih akurat daripada prediksi teoritis. (rode dkk., 2007).

II.3 Sumber Dataset Dan Database

Tiga kumpulan data dan basis data utama senyawa set aktif, senyawa set umpan, dan basis data uji diperlukan untuk melakukan penyaringan virtual menggunakan metode pemodelan farmakofor. Data base merupakan kumpulan data yang dibuat berdasarkan kriteria tertentu sebelum digunakan dalam virtual skrining .data base merupakan kumpulan data yang digunakan secara utuh. (Hevener, 2009). Dataset adalah kumpulan senyawa aktif ataupun tidak aktif secara biologis yang digunakan dalam virtual skrining. Dataset yang mengandung molekul aktif dan tidak aktif digunakan untuk menilai kualitas model yang dikembangkan. Senyawa set aktif, senyawa umpan, dan basis data uji yang dalam studi ini akan digunakan sebagai basis data ZINC produk alami adalah tiga kumpulan data dan basis data utama yang diperlukan untuk melakukan penyaringan virtual menggunakan metode pemodelan farmakofor. (Mathur, 2017)

II.3.1 Active set compound

Senyawa set aktif adalah senyawa yang, berdasarkan data yang diinginkan, telah terbukti aktif dan memiliki aktivitas yang diperlukan dalam basis data lain. Senyawa ini dapat langsung dikirim ke ChEMBL untuk tujuan memilih senyawa set aktif. (Gaulton dkk., 2012). Sebagian besar data dalam basis data bioaktivitas terbuka yang ekstensif, ChEMBL, dikumpulkan secara manual dari literatur tentang kimia medisinal. Dengan memperoleh informasi terorganisasi tentang senyawa yang diteliti (termasuk strukturnya), uji biologis atau fisikokimia yang dilakukan terhadap senyawa tersebut, dan target uji, pengguna dapat mengajukan pertanyaan terkait penemuan obat. Berdasarkan data aktivitas dari dokumen tertentu yang dapat diperoleh dalam format *.xlsx dan dibaca menggunakan Microsoft Office Excel di kolom komentar aktivitas, sekelompok senyawa dengan aktivitas yang ditampilkan akan dipilih untuk ChEMBL. Sebanyak 50 senyawa dengan nilai IC50 antara 0 dan 40.000 nm yang terbukti berpotensi aktif menggunakan kolom tipe standar dipilih. (Kothandan. 2017)

II.3.2 Decoy set compound

Kumpulan data bahan kimia yang telah terbukti tidak aktif dan tidak memiliki aktivitas obat yang dimaksud dikenal sebagai "Decoy set compound". Decoy set compound dapat diunduh dari situs web atau diambil dengan bantuan perangkat lunak yang menyertainya, khususnya Decoyfinder. (cereto dkk.,2012)

II.3.3 Database uji

Basis data pengujian adalah kumpulan data yang telah disusun untuk analisis. Kumpulan data ini bersumber dari ZINC Natural Products, salah satu dari dua belas basis data produk alami. Kumpulan data ini dapat diunduh dalam berbagai format, termasuk format SMILES, *.mol2, 3D SDF, dan DOCK, dari <http://www.zinc.docking.org>. Setiap basis data produk alami berasal dari negara yang berbeda dan mencakup zat alami berbasis tanaman. (Irwin,2005).

II.4 Virtual screening

Teknik komputasi berperforma tinggi yang disebut penyaringan virtual digunakan untuk menemukan senyawa terapeutik potensial dengan memeriksa kumpulan basis data senyawa kimia. Dibandingkan dengan penyaringan

farmakologis, pendekatan komputasi ini dapat menurunkan biaya penelitian dan meningkatkan efisiensi waktu penelitian. (Tang & Marshall, 2011). Dengan menurunkan sejumlah besar senyawa kimia untuk mengamati interaksinya dengan protein target tertentu, penyaringan virtual, yang juga dikenal sebagai *in silico*, berupaya mengidentifikasi molekul pemandu. Penggunaannya dibatasi oleh sifat-sifat bahan kimia yang dapat dihitung secara komputasi. Oleh karena itu, lebih banyak pemikiran harus diberikan pada perhitungan untuk basis data yang sangat besar seperti mendekati satu juta senyawa. (Vyas dkk., 2008). Karena tidak memerlukan senyawa fisik, pengujian *in silico* memiliki kelebihan yaitu murah, proses cepat, dan memungkinkan pengujian dini. Pengujian ini juga membantu mengidentifikasi kegagalan obat, yang mengurangi kebutuhan pengujian *in vitro* atau hewan percobaan. Kekurangannya meliputi kebutuhan data dari penelitian tentang zat yang digunakan, kebutuhan keterampilan tambahan dalam bentuk transfer teknik informatika, dan kebutuhan pemilihan basis data yang cermat untuk referensi. (Kothandan, 2017)

II.4.1 Jenis-Jenis Dari Virtual Screening

- **Structure-based virtual screening (SBVS)**

Digunakan untuk memperkirakan pengikatan protein target menggunakan teknik matematika. memanfaatkan struktur tiga dimensi (3D) target yang diketahui yang telah diperoleh melalui pemodelan komputasi, NMR, atau analisis sinar-X. SBVS menggunakan docking molekuler untuk mengantisipasi lokasi pengikatan molekul kecil (ligan) dan memprediksi energi bebasnya (scoring). (Alvarez & Shoichet, 2005)

- **Ligand-based virtual screening**

Pendekatan komputasional yang dikenal sebagai "berbasis ligan" mendefinisikan bagaimana suatu zat kimia berinteraksi dengan protein atau reseptor sebagai ligan. NMR, kristalografi sinar-X, dan pemodelan homologi adalah contoh hasil eksperimen yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi reseptor atau target dalam proses docking. Pemodelan

struktural dan prediksi aktivitas yang akurat adalah tujuan dari investigasi docking. (Reddy dkk., 2007)

II.5 Protein Data Bank (PDB)

Molekul biologis besar, termasuk protein dan asam nukleat, memiliki informasi struktural tiga dimensi yang tersimpan di Protein Data Bank (PDB). Informasi tersebut tersedia untuk umum di Internet melalui situs web organisasi anggotanya (PDBe, PDBj, RCSB, dan BMRB) dan biasanya dikumpulkan oleh para ahli biologi dan biokimia di seluruh dunia menggunakan teknik seperti kristalografi sinar-X, spektroskopi NMR, dan mikroskopi krio-elektron. World Protein Data Bank, atau [wwwPDB](http://www.pdb.org), adalah organisasi yang memproyeksikan PDB. (Consortium, 2018)

Untuk digunakan dengan repositori PDB, Bank Data Protein RCSB (<http://www.rcsb.org>) membuat alat deposisi, anotasi, kueri, analisis, dan visualisasi serta materi pengajaran. (Rose dkk., 2015). Terdapat parameter pada situs PDB, yaitu parameter organisme yang meliputi *Drosophila melanogaster*, *Ovis aries*, *Bos taurus*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Mus musculus*, *Rattus norvegicus*, dan *Homo sapiens*. Sinar-X, NMR, dan mikroskop elektron merupakan contoh parameter prosedur eksperimen. Akan tetapi, resolusi kurang dari 2Å umumnya merupakan resolusi terbaik untuk struktur protein. (Hevener, 2009)

II.6 Model Farmakofor

Pemodelan farmakofor adalah metode penyaringan virtual yang menyaring jutaan bahan kimia di komputer untuk menemukan karakteristik interaksi ligan-protein yang paling penting bagi aktivitas biologis dan pemeliharaannya. Metode ini menghubungkan sifat senyawa dengan temuan pengujian dengan menggunakan data dari pengujian molekuler dalam biokimia atau pengujian fungsional target yang disesuaikan secara empiris, daripada memerlukan informasi struktural tentang target (Liu et al., 2014). Banyak teknik telah dikembangkan untuk memperoleh model farmakofor berbasis ligan dan berbasis protein untuk digunakan dalam penyaringan virtual. (Hu dan Lill, 2014).

Dengan menggunakan alat komputer, penyaringan berbasis farmakofor akan menganalisis jutaan molekul untuk mengekstraksi struktur baru dari basis data. Ketika struktur protein tidak diketahui, pemodelan farmakofor menawarkan fungsi seleksi yang berguna dalam penyaringan virtual. Menemukan zat yang aktif secara fisiologis adalah tujuan dari pemodelan farmakofor 3D. Struktur kristal kompleks protein-ligan dapat digunakan untuk membuat struktur molekul 3D untuk pemodelan farmakofor bioaktif. Tiga langkah terlibat dalam menentukan fitur farmakofor: pertama, basis data konformasi dibuat menggunakan serangkaian senyawa yang dioptimalkan; kedua, kueri farmakofor dibuat dengan memilih titik anotasi berdasarkan peningkatan ligan protein dari hasil analisis PLIF; dan ketiga, struktur kueri disempurnakan sehingga dapat dihitung menggunakan konformasi senyawa aktif. (Hamzah, 2013)

II.7 Validasi Virtual Screening

Dengan memeriksa nilai AUC dan EF yang sesuai dengan hasil rasio antara kelompok senyawa aktif dan kelompok umpan yang ditunjukkan dalam kurva ROC—yang menawarkan ringkasan numerik dan visual dari berbagai prediktor dengan indeks kerja yang dapat diterima secara langsung—metode pemodelan farmakofor dengan ligandscout 4.3 divalidasi. Karena skor senyawa kimia yang aktif dan yang tidak aktif tidak saling tumpang tindih, kurva ROC merupakan distribusi yang ideal. Kurva ROC optimal, yang menggabungkan semua bahan kimia aktif dan inert menurut spesifisitas dan sensitivitasnya, adalah garis lurus horizontal yang mengarah ke sudut kanan atas. Dengan menggunakan informasi dasar bahan kimia uji, proses penyaringan dapat dilanjutkan setelah temuan kurva ROC menunjukkan model farmakofor yang baik. Kurva ROC akan menunjukkan sejumlah karakteristik yang berbeda, termasuk nilai AUC, kurva plot hasil validasi, % hasil EF, dan jumlah senyawa yang dapat diidentifikasi oleh perangkat lunak sebagai senyawa yang biasanya berhasil. (Braga, 2013)

Parameter yang relevan dengan ligandscout 4.3, yang meliputi faktor pengayaan (EF), sensitivitas (SE), spesifisitas (SP), akurasi (ACC), hasil akhir (Ya), dan

kebaikan hitlist (GH), menunjukkan validasi yang dilakukan pada penyaringan virtual berbasis farmakofor. (Braga dkk., 2013)

1. Faktor Pengayaan (EF)

Daftar yang diurutkan secara acak lebih rendah kualitasnya daripada metode penilaian faktor pengayaan. Pengayaan pada persentase tertentu dari basis data yang difilter merupakan metode perhitungan yang paling populer dan mudah. Nilai EF, yang terlihat jelas pada kurva ROC, dapat ditentukan secara otomatis di ligandscout 4.3. Jika $EF > 1,0$, nilai EF dianggap valid dan memenuhi persyaratan. (Braga, 2013)

2. Sensitivitas (SE)

Sensitivitas adalah persentase senyawa aktif yang dipilih selama penyaringan. Sensitivitas didefinisikan sebagai rasio senyawa positif sejati yang diambil (TP) terhadap semua bahan kimia aktif dalam basis data, yang merupakan jumlah senyawa TP dan senyawa negatif palsu (FN).

Sensitivitas adalah persentase dengan klasifikasi pengamatan positif yang akurat. Nilai sensitivitas berada di antara 0 dan 1. $Se = 1$ berarti semua bahan kimia aktif ada dalam basis data, sedangkan $Se = 0$ berarti tidak ada.

$$Se = \frac{TP}{TP+FN}$$

3. Spesifisitas (SP)

Spesifisitas adalah proporsi senyawa yang benar-benar tidak aktif yang dihilangkan secara tepat selama penyaringan virtual. Jumlah senyawa positif palsu (FP) dan negatif yang ditolak (TN) dibagi dengan jumlah total TN untuk memperoleh angka ini. Spesifisitas, yang berkisar dari 0 hingga 1, menunjukkan persentase senyawa yang benar-benar tidak aktif. Spesifisitas berkisar dari 0 hingga 1. $Sp = 0$ menunjukkan skenario terburuk, di mana semua senyawa yang tidak aktif secara tidak sengaja dipilih sebagai senyawa aktif, sedangkan $Sp = 1$ menunjukkan bahwa semua senyawa yang tidak aktif telah ditolak dengan tepat selama prosedur penyaringan.

$$Sp = \frac{TN}{TN+FP}$$

4. Accuracy (ACC)

Persentase molekul yang diklasifikasikan dengan benar dikenal sebagai akurasi (ACC).

$$ACC = \frac{TP+TN}{P+N}$$

5. Yield of actives (Ya)

Salah satu deskriptor yang paling banyak digunakan untuk menyirikan teknik penyaringan virtual adalah hasil aktif (Ya). Deskriptor ukuran menunjukkan berapa banyak senyawa aktif yang benar-benar diambil (TP) dibandingkan dengan ukuran daftar sasaran.

$$Ya = \frac{TP}{n}$$

6. Goodness of hit-list (GH)

GH menggabungkan hasil aktif, spesifisitas, dan sensitivitas. Karena model farmakofor menyiratkan rasio aktif dan tidak aktif, model ini merupakan metrik yang relevan untuk penilaian. Menurut Braga dan Andrade (2013), jumlah senyawa aktif biasanya diberi bobot lebih tinggi daripada senyawa aktif dalam daftar sasaran. Misalnya, Se hanya menggunakan 1/4 dan Yes menggunakan 3/2. Oleh karena itu, nilai aktif yang tinggi dan rasio negatif palsu yang rendah harus ada secara bersamaan untuk menghasilkan nilai GH yang tinggi.

$$GH = \frac{3}{4} Ya + \frac{1}{4} Se \times Sp$$

7. Area under curve (AUC)

Jumlah semua persegi panjang yang dibuat oleh sensitivitas dan spesifisitas dengan nilai hingga berbagai ambang batas dapat digunakan untuk menghitung AUC. Kategorisasi yang lebih baik ditunjukkan dengan nilai AUC yang tinggi. AUC yang baik dihasilkan melalui penyaringan komputasi yang sempurna jika nilai AUC berada di antara 0,50 dan 1,0. Jika hasil AUC kurang dari 0,50, berarti ada lebih banyak senyawa tidak aktif daripada senyawa aktif yang dikenali perangkat lunak. (Andrase, 2013)