

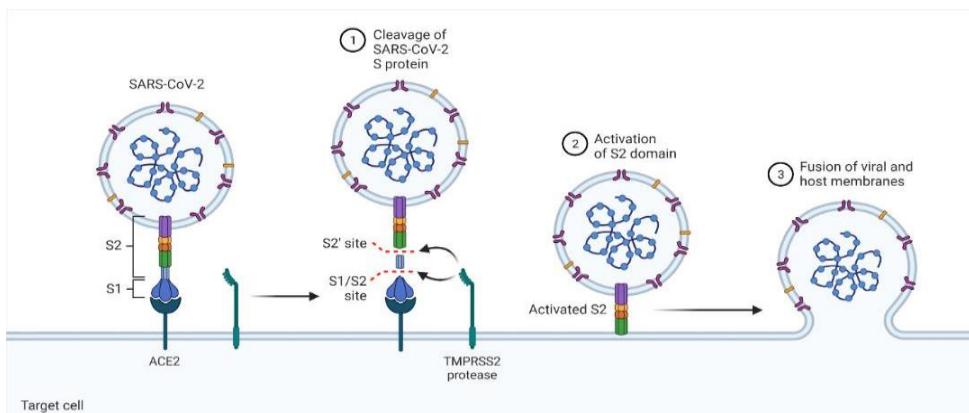
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Virus SARS-CoV-2

SARS-CoV-2 milik keluarga Coronaviridae, dan panjang genomnya bervariasi antara 26 - 32 kilobase (Singh dkk., 2020). Virus ini termasuk dalam kelas betacoronavirus dan memiliki amplop dan RNA untai tunggal untai positif (Hartenian dkk., 2020). Analisis sekuens genomik virus SARS-CoV-2 lengkap menunjukkan 96 % kemiripan identitas dengan virus corona kelelawar. Coronavirus juga ada pada beberapa spesies burung dan mamalia yang teridentifikasi (Lu dkk., 2020). Virus dari COVID-19 penyebarannya lebih cepat, meningkatkan kejadian masuk rumah sakit atau kematian, dapat mengurangi efektivitas antibodi secara signifikan (CenterDC, 2021). Virus ini ditularkan terutama dari orang ke orang, atau melalui tetesan yang dikeluarkan dari hidung atau mulut ketika orang yang terinfeksi batuk, bersin, atau berbicara (Tay, Poh, Rénia, MacAry, & Ng, 2020; Zhou dkk., 2020). Gejala bervariasi, tetapi termasuk demam, pilek, batuk, kesulitan bernapas, kelelahan, dan hilangnya indera perasa dan penciuman. Namun, beberapa pasien tidak memiliki gejala apapun, yang membuat penyakit ini lebih mudah menyebar (Boopathi, Poma, & Kolandaivel, 2020; Udugama dkk., 2020).

2.1.1 Proses replikasi Virus SARS-CoV-2

Cara virus menginfeksi yaitu SARS-CoV-2 memakai protein *spike* untuk berikatan dengan reseptor (ACE2). Reseptor ini kebanyakan ditemukan pada paru-paru, usus dan ginjal (Singh dkk., 2020). Setelah protein S berikatan dengan (ACE2), protein S ini dipotong oleh protease yang disebut TMPRSS2. Sehingga protein S menjadi aktif dan berdifusi ke dalam membran sel (Gambar 2.1).



Gambar 2.1 Proses masuknya Virus SARS-CoV-2 ke dalam sel target (Hartenian dkk., 2020).

II.1.2 Protein spike

Protein Spike (S) Protein S SARS-CoV-2 sebagaimana pada SARS-CoV merupakan bagian struktur yang memperantara masuknya virus tersebut kedalam tubuh manusia (inang). Virus ini memasuki sel manusia dengan cara membentuk ikatan antara protein S dengan angiotensin converting enzyme 2 (ACE2). Afinitas ikatan SARS-CoV-2 pada ACE2 hampir sama dengan SARS-CoV. Protein ini memiliki 2 subunit fungsional, yaitu: S1 dan S2. S1 berperan membentuk ikatan dengan reseptor ACE2 pada sel inang, S2 kemudian menggabungkan virus dengan membran sel inang. Pada umumnya, S membelah diantara subunit S1 dan S2. Diperkirakan SARS-CoV-2 berinteraksi dengan ACE2 lebih lemah dibanding SARS-CoV protein S merupakan bagian CoV yang berperan mengantarkan masuknya virus ke dalam tubuh inang, maka protein ini dapat menjadi target utama dalam netralisasi antibodi (Abs) infeksi, terapi dan desain vaksin. Protein S merupakan trimer yang dilengkapi sejumlah glikan yang terhubung pada -N yang berperan dalam pelipatan protein (Wan dkk., 2020).

2.1.3 Angiotensin converting enzyme 2 (ACE2)

ACE2 setidaknya memiliki 3 fungsi fisiologis, yaitu negative regulator pada sistem renin-angiotensin, fasilitator transport asam amino dan reseptor tempat terikatnya SARS-CoV maupun SARS-CoV-2. ACE2 tersebar luas dalam paru-paru, sistem kardiovaskuler, usus, ginjal, sistem saraf pusat dan jaringan adipose (Gheblawi dkk., 2020). Dalam sebuah studinya, Zhou dkk, menunjukkan bahwa over ekspresi sel dengan ACE2 manusia, babi dan musang menyebabkan terjadinya infeksi SARS-CoV-2. Hal ini membuktikan bahwa ACE2 merupakan target masuknya SARS-CoV-2 ke dalam sel (Zhou dkk., 2020). Situs pengikatan antara ACE2 dan SARS-CoV-2 telah teridentifikasi sehingga memungkinkan untuk mendesain molekul blokernya. Bloker ACE2 dapat berupa antibodi maupun molekul kecil (Zhang and Baker, 2017).

2.2. *Navicula salinicola*

Navicula salinicola merupakan salah satu jenis mikroalga laut yang termasuk dalam kelas Bacillariophyceae (Diatom). Diatom merupakan fitoplankton yang paling umum dijumpai di perairan (Markou dkk., 2012). Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa polisakarida mikroalga memiliki potensi besar sebagai antivirus.

Klasifikasi *Navicula salinicola*:

Kerajaan : *Chromista*

Divisi: *Bacillariophyta*

Kelas : *Bacillariophyceae* (Diatom)

Bangsa : *Pennales*

Suku : *Naviculaceae*

Marga : *Navicula*

Jenis : *Navicula salinicola*



Gambar 2.2 *Navicula salinicola* (Kurnia, 2020)

Kandungan dari mikroalga memiliki potensi besar sebagai antivirus. Adapun bukti kuat sifat menguntungkan omega 3 untuk nutrisi manusia yang menyebabkan peningkatan minat dalam omega 3 sebagai suplemen gizi (Merz & Main, 2015). Asam lemak tak jenuh yang bermanfaat, terutama omega 3 adalah salah satu senyawa yang bermanfaat dari mikroalga. Studi mengungkapkan bahwa omega 3 seperti asam eicosapentaenoic (EPA) dan asam docosahexaenoic (DHA) memiliki efek yang tepat pada kesehatan manusia (Dolecek & Granditis, 1991). *Navicula salinicola* mengandung cukup lipid dan tidak hanya cocok untuk 10 biofuel, melainkan di bidang kesehatan karena adanya sumber Omega 3 (Etesami dkk., 2017). Tabel Struktur 2D senyawa asam lemak tak jenuh (Lampiran 1) (Sterling & Irwin, 2015).

2.3 Computer Aided Drug Design (CADD)

Seiring kemajuan teknologi desain obat, pengembangan desain obat dapat dilakukan dengan bantuan komputer. *Computer Aided Drug Design* (CADD) dapat dibagi menjadi dua bagian dari : *Ligan Based Drug Desain* (LBDD) dan *Structure Based Drug Design* (SBDD). LBDD adalah desain obat berdasarkan informasi ligan yang diketahui. LBDD menggunakan informasi tentang sifat fisikokimia senyawa aktif sebagai dasar untuk desain senyawa baru seperti Hubungan Kuantitatif Struktur (HKSA) dan penyaringan virtual. Penapisan secara virtual dengan pemodelan farmakofor berbasis ligan (Sliwoski dkk., 2014).

SBDD adalah desain obat berdasarkan informasi target reseptor yang terlibat dalam aktivitas senyawa yang diketahui dalam tubuh. SBDD menggunakan informasi struktural dari reseptor target untuk mencari situs aktif protein yang dapat mengikat senyawa obat. Berdasarkan prediksi situs aktif protein, Anda dapat merancang senyawa yang berikatan dengan reseptor dan menunjukkan aktivitas biologis seperti penambatan molekul dan simulasi dinamika molekul (Sliwoski dkk., 2014).

2.4 Penambatan Molekul

Penambatan molekul adalah teknik yang digunakan untuk memprediksi mode pengikatan yang paling sesuai antara ligan dengan makromolekul (Salmaso & Moro, 2018). Metode estimasi energi bebas dari kompleks yang ditambatkan menggunakan medan gaya dan metode pencarian ruang konformasi ligan dan target makromolekul merupakan aspek yang penting dalam penambatan molekul (Cosconati dkk., 2010). Terdapat tiga bagian utama dalam proses penambatan molekul; 1) preparasi ligan dan makromolekul; 2) penentuan jenis penambatan: kaku atau fleksibel; 3) pengaturan strategi pencarian konformasi ligan.

Preparasi ligan dan protein dilakukan untuk mencari protein target yang beresolusi tinggi, dan penentuan situs pengikatan ligan-protein target. Kemudian, pemilihan jenis penambatan dilakukan untuk menentukan jenis penambatan yang dilakukan berupa penambatan fleksibel atau kaku. Semakin fleksibel proses penambatan maka semakin banyak konformasi ligan yang terbentuk. Proses terakhir adalah pengaturan strategi pencarian untuk konformasi ligan. Proses ini melibatkan pencarian konformasi dan pemilihan solusi yang optimal per fungsi penilaian. Fungsi penilaian digunakan untuk membedakan solusi yang baik dari yang buruk dengan mengevaluasi interaksi intermolekul, desolvasi, elektrostatik, dan efek entropi (Prieto-Martínez dkk., 2018).

2.4.1 AutoDock

Autodock merupakan program penambatan terotomatis, program ini digunakan untuk memprediksi interaksi yang terjadi dari penambatan molekul kecil pada reseptor. Autodock terdiri dari dua cara kerja utama yaitu dengan melakukan penambatan dari ligan dari suatu senyawa dengan grid set yang telah di kalkulasi oleh AutoGrid untuk penempatan dari ligan tersebut pada suatu protein. Autodock mengkombinasikan medan gaya energi bebas empiris dengan Lamarckian genetic Algorithm, yang dapat menghasilkan prediksi yang cepat dari ikatan dengan beragam konformasi atau bentuk namun juga dibarengi dengan prediksi dari energi bebasnya. Pada AutoDock, konsep algoritma genetik diaplikasikan untuk menganalogikan konformasi, orientasi, dan translasi dari ligan terhadap protein. Kondisi ligan ini disebut sebagai genotipe dan koordinat atom merupakan fenotipe (D. Zhang dkk., 2019). Hasil dari penambatan molekul menggunakan Autodock diperoleh konformasi dari interaksi ligan dan protein dengan menghitung jumlah energi yang dihasilkan dari berbagai macam interaksi yang tidak terikat seperti ikatan van der Waals, dan elektrostatika, selain itu juga energi dari ikatan hidrogen, ionik efek hidrofobik, dan entropi yang ada pada ikatan tersebut. Selain dari interaksi ikatan, dengan menggunakan AutoDock diperoleh Energi bebas gibbs (ΔG) dengan satuan kkal/mol, ΔG ini menyatakan kekuatan interaksi yang terjadi antara ligan dengan protein targetnya, semakin rendah nilai ΔG maka semakin baik afinitas yang terjadi antara ligan dan reseptor pada protein target kerjanya (Romano T. Kroemer, 2007). Dan terakhir diperoleh nilai konstanta inhibisi (Ki) yang menyatakan afinitas dari ligan dengan reseptor pada protein. Semakin kecil nilai Ki maka semakin baik efek inhibisi yang dihasilkan ligan tersebut terhadap suatu protein (Romano T. Kroemer, 2007).

2.4.2 Grid box

Grid box merupakan tempat atau lokasi ligan untuk berinteraksi dengan reseptor target seperti protein atau enzim target, pada proses docking Grid box merupakan salah satu parameter yang diperlukan. Grid box terdiri dari center dan size grid box yang dapat ditentukan dengan melihat koordinat sisi aktif dari suatu protein target, penentuan grid box ini dapat dilakukan salah satunya dengan menggunakan aplikasi AutoDock Tools (Wardani, 2012).

2.4.3 Search Algorithm

Search algorithms atau algoritma pencarian adalah salah satu metode sistematis untuk memprediksi konformasi ikatan dari ligan dan protein, pada molekuler docking sendiri search algorithm dikombinasikan dengan scoring function untuk memprediksi afinitas ikatan dari interaksi antara ligan dan protein. Penggunaan dari search algorithm dapat dan harus

menghasilkan konfigurasi – konfigurasi, pose dan orientasi pengikatan target yang ditentukan secara eksperimental yang optimal (Naga Madhavilatha & Rama Mohan Babu, 2019). Search algorithm ini cukup beragam dan banyak jenisnya bergantung pada aplikasi docking, salah satunya pada aplikasi Autodock digunakan algoritma dari Lamarckian Genetic Algorithm (LGA). LGA sendiri merupakan gabungan dari Genetic Algorithms dengan Local Search adaptive method, gabungan dari kedua ini dapat meningkatkan kinerja dari annealing dan Genetic algorithm dalam mencapai kondisi optimum untuk interaksi ligan dan protein (Morris, Huey, & Olson, 2008).

2.4.4 Validasi Penambatan Molekul

Validasi penambatan molekul bertujuan untuk mendapatkan parameterisasi metode yang valid. Pada validasi penambatan molekul dalam aplikasi Autodock dengan mengikat kembali ligan asli ke protein target. Bentuk dan tempat ligan berinteraksi ditentukan oleh tata letak. Validasi dianggap valid jika hasil rekoneksi pada pose alignment terbaik adalah *root mean square deviation* (RMSD) $< 2 \text{ \AA}$. Selain itu, tata letak gridbox digunakan dalam metode penambatan senyawa uji (López-Camacho, García-Godoy, García-Nieto, Nebro, & Aldana-Montes, 2016).

2.4.5 Parameter Penambatan Molekul

1. Ketika ligan berinteraksi dengan protein, interaksi pengikatan terbentuk. Dalam intramolekul melibatkan banyak energi seperti hidrofobisitas, gaya van der Waals, ikatan hidrogen, dan elektrostatik. Pemodelan interaksi intramolekul kompleks ligan-protein sangat sulit karena banyak derajat kebebasan dan pengetahuan yang tidak memadai tentang efek pelarut dari senyawa pengikat.
2. Energi bebas Gibbs (ΔG) didefinisikan sebagai energi yang dihasilkan dari interaksi protein dengan ligan. Energi bebas Gibbs (ΔG) yang dihasilkan oleh simulasi penambatan molekul menghitung energi ikat antara ligan dan reseptor. Semakin rendah nilai G , semakin tinggi afinitas yang berkembang antara ligan dan reseptor (Romano T. Kroemer, 2007). Konstanta inhibisi (K_i) didefinisikan sebagai inhibisi konstan protein oleh ligan. Dalam simulasi penambatan molekul, konstanta inhibisi sering digunakan sebagai parameter untuk menentukan pengikatan suatu ligan ke protein. Semakin kecil nilai konstanta penghambatan, semakin baik ligan dapat menghambat protein (Romano T. Kroemer, 2007).

2.6 Dinamika Molekul

Dinamika molekul adalah teknik simulasi menggunakan komputer untuk mengetahui pergerakan dan perangkaian struktur atom dalam sistem biologi di level mikroskopis selama

periode waktu tertentu. Prosedur simulasi dinamika molekul meliputi inisialisasi, perhitungan medan gaya, perhitungan integrasi persamaan gerak (Gupta & Varadwaj, 2018). persiapan berkas masukan ligan dan reseptor, pembuatan topologi dan koordinat ligan dan reseptor, solvasi, minimisasi, ekuilibrasi, produksi, dan interpretasi hasil simulasi dinamika molekul (Case dkk., 2018).

2.6.1 Topologi

Topologi merupakan kata yang berasal dari bahasa yunani yang terdiri dari dua kata yaitu, Topo yaitu tempat dan logos adalah ilmu, dalam kimia medisinal sendiri indeks topologi sering digunakan karena dengan indeks topologi dapat dilakukan pengukuran cabang molekul, bentuk, ukuran, siklisitas, simetri, sentrisitas, dan kompleksitas (Hu, Liang, & Fang, 2003). Topologi sendiri dalam dunia kimia medisinal merupakan salah satu tahapan yang ada pada dinamika molekuler, pada tahapan ini dilakukan pembentukan lingkungan dari ligan, makromolekul, dan kompleks antara ligan-makromolekul untuk nanti nya disimulasikan. Pada pembuatan topologi ini, kompleks ligan-makromolekul dilakukan penetralan sistem dengan penambahan ion seperti ion natrium, lalu seluruh sistem dalam bentuk geometri dilarutkan dengan air dalam bentuk geometri tempat kompleks itu dapat bereaksi.

2.6.2 Produksi

Pada tahapan produksi dari simulasi dinamika molekuler terdapat proses utama dari dinamika molekuler yaitu menghitung besaran gaya yang ditimbulkan, memprediksi pergerakan dari atom. Menganalisis statistik dari data yang dihasilkan untuk setiap konfigurasi atom, tiga hal tersebut terjadi berulang terus menerus dalam proses dinamika molekuler. Amber merupakan salah satu aplikasi yang dapat digunakan untuk melakukan dinamika molekuler. Aplikasi amber ini mulai dikembangkan dari tahun 1970an oleh salah satu penemu dan pengembangnya yaitu Professor Peter A. Kollman di University of California. Amber sendiri merujuk pada dua hal yaitu mekanika molekuler yang berkaitan dengan force field pada simulasi biomolekul, dan yang kedua merujuk pada satu kesatuan dari berbagai program yang berkaitan dengan simulasi dinamika molekuler. Namun dari bermacam-macam program yang ada pada amber sendiri dalam teknis penggunaan atau penggerjaanya digunakan secara bersama sama dengan berkesinambungan Dalam pelaksanaan dinamika molekuler aplikasi amber ini terbagi menjadi dua yaitu AmberTools dan Amber. AmberTools merupakan serangkaian program yang digunakan untuk simulasi dan analisis, dan dengan di kombinasi menggunakan amber simulasi dapat dilakukan simulasi yang lebih luas (Case dkk.,2021).

2.6.3 RMSD (Root Mean Square Deviation)

RMSD merupakan singkatan dari Root Mean Square Deviation yang dapat diartikan sebagai deviasi rata-rata akar kuadrat dari posisi atom. RMSD ini merupakan ukuran jarak antara protein dan rata-rata atom. RMSD sering digunakan untuk menganalisis pada tahapan dinamika molekuler untuk menetapkan periode ekuilibrasi dan kualitas simulasi biomolekuler. RMSD juga digunakan untuk menilai kecocokan hasil prediksi struktur protein dengan hasil kristalografi nya. Semakin kecil nilai RMSD maka semakin baik karena posisi ligan yang diperkirakan semakin mendekati konformasi semula (Rahmadi, Andika, & Nashihah, 2021; Sargsyan, Grauffel, & Lim, 2017).

2.6.4 RMSF (Root Mean Square Fluctuation)

merupakan ukuran deviasi dari posisi partikel dan beberapa posisi referensi nya. Nilai RMSF ini diperoleh saat energi potensial dengan fluktuasi terkecil, yaitu ketika simulasi biomolekuler dimulai hingga simulasi berakhir. RMSF merupakan perhitungan dari residu penyusun protein. Nilai dari RMSF digunakan untuk dilihat sejauh mana fluktuasi dari pergerakan residu selama simulasi biomolekuler. Ikatan kuat yang terbentuk antara residu asam amino dengan ligan akan memiliki fleksibilitas dan fluktuasi yang rendah. Dengan begitu dapat dilihat mobilitas dan fleksibilitas dari protein dan dinamik korelasi dari residu (Chu, Min, Zhang, Shen, & Li, 2013; Meduru, Wang, Tsai, & Chen, 2016).

2.6.5 MMGBSA

MMGBSA (*Molecular Mechanics Generalized Born Surface Area*) adalah metode dengan pelarut yang dapat diakses untuk memperoleh energi bebas dari informasi struktural, menghindari kompleksitas komputasi simulasi energi bebas. Pendekatan MMGBSA adalah parameter estimasi aditif, dan perubahan energi bebas bersih diperlakukan sebagai jumlah komprehensif komponen energi individu, masing-masing dengan basis fisik. Metode simulasi dinamika molekul memperkirakan energi bebas ikatan dan konstanta inhibisi (Ylilauri & Pentikäinen, 2013).