

BAB II

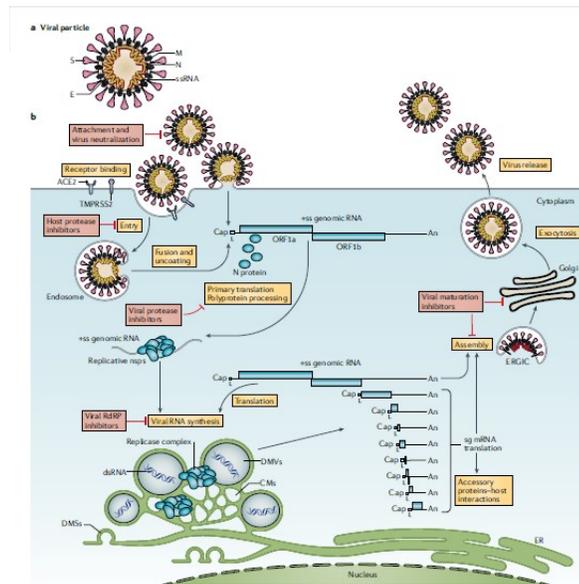
TINJAUAN PUSTAKA

II.1 SARS-CoV-2

Berdasarkan analisis filogenetik, SARS CoV-2 termasuk dalam ordo *Nidovirales*, famili *Coronaviridae*, genus *Betacoronavirus*, dan subgenus *Sarbecovirus* (Helmy dkk., 2020). SARS-CoV-2 merupakan virus yang memiliki kemiripan 79% identitas urutan genom dengan SARS-CoV dan 50% dengan MERS-CoV. Dari empat gen struktural, SARS-CoV-2 memiliki 90% kemiripan identitas asam amino dengan SARS-CoV kecuali untuk gen S. Sedangkan sebagian besar protein non-struktural SARS-CoV memiliki lebih dari kemiripan 85% identitas urutan asam amino dengan SARS-CoV (Hu dkk., 2020). Setelah kesamaan antara SARS-CoV-2 dan SARS-CoV ditemukan, eksperimen permodelan molekuler untuk menemukan potensi kandidat terhadap virus baru ini banyak dilakukan yang mengarah pada pengembangan kandidat obat. Beberapa target potensial untuk desain obat antara lain protein spike, selubung protein, protein membran, protease, protein nukleokapsid, hemagglutinin esterase, dan helicase (Cheke, 2020).

SARS-CoV-2, SARS-CoV, dan MERS-CoV dapat memasuki sel menggunakan jalur awal atau jalur akhir, tergantung pada ketersediaan protease dan jenis sel. Secara umum, virus corona akan memanfaatkan jalur membran plasma dalam sel paru-paru karena *transmembrane serine proteases* (TMPRSSs) umumnya diekspresikan dalam sel paru-paru dan jalur endosome untuk semua jenis sel lainnya (Tang dkk., 2020). Virus corona ini memasuki sel yang diinfeksi melalui

reseptor *Angiotensin Converting Enzyme 2* (ACE2) di permukaan sel karena memiliki afinitas yang kuat berdasarkan interaksi dan analisis struktur kristal (Li dkk., 2005). Untuk ilustrasi pengikatan virus dengan reseptor ACE2 dan proses masuknya virus ke dalam sel dapat dilihat pada Gambar II.1.



Gambar II.1 Siklus Hidup Virus Corona (V'kovski dkk., 2020)

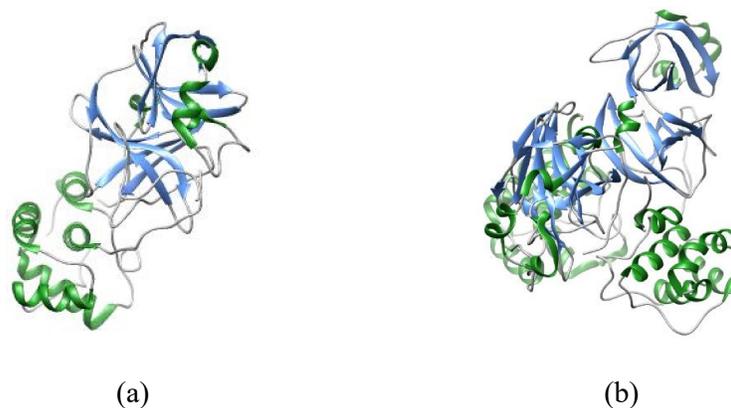
II.2 3-Chymotrypsin Like Protease

3-Chymotrypsin like protease (3CL Protease atau 3CLpro) adalah protease sistein yang menghidrolisis polyprotein virus pp1a dan pp1b untuk menghasilkan protein fungsional selama replikasi virus corona (Jo dkk., 2020). Kesamaan urutan sekuen 3CLpro dari SARS-CoV-2 dan SARS-CoV telah terbukti paling tinggi yaitu sebesar 96%. Dari 306 residu, hanya 12 residu yang berbeda yaitu T35(V), A46(S), S65(N), L86(V), R88(K), S94(A), H134(F), K180(N), L202(V), A267(S), T285(A) dan I286(L) untuk SARS-CoV dan SARS-CoV-2 (Chen dkk., 2020). Urutan residu dari 3CLpro SARS-CoV-3 dapat dilihat pada Tabel II.1.

Tabel II. 1: Sekuens 3CLpro SARS-CoV-2 degan PDB ID: 6LU7 (Jin dkk., 2020)

| Sekuens 3CLpro SARS-CoV-2 (PDB ID: 6LU7) |
|--|
| SGFRKMAFPSGKVEGCMVQVTCGTTTLNGLWLDDVVYCPRHVICTSEDML NPNYEDLLIRKSNHFLVQAGNVQLRVIGHSMQNCVLRKLVDTANPKTPK YKRVRIQPGQTFSVLACYNGSPSGVYQCAMRPNFTIKGSFLNGSCGSVGF NIDYDCVSFCYMHMELPTGVHAGTDLEGNFYGPVDRQTAQAAGTDTTI TVNVLAWLYAAVINGDRWFLNRFTTTLNDFNLVAMKYNYEPLTQDHVDIL GPLSAQTGIAVLDMCASLKELLQNGMNGRTILGSALLEDEFTPFDDVVRQC SGVTFQ |

Pada struktur 3D 3CLpro SARS-CoV-2, asam amino N-terminal 1 hingga 7 membentuk jari-N yang memainkan peran penting dalam pembentukan situs aktif 3CLpro. Situs pengikatan substrat terletak di celah antara domain I dan II. Sebuah *loop* dari residu 184 hingga 199 bergabung dengan domain terminal-N dan domain III, yang juga disebut domain terminal-C dan terdiri dari kluster anti-paralel dari lima α -heliks (Tahir ul Qamar dkk., 2020). Struktur 3D 3CLpro SARS-CoV-2 dengan PDB ID: 6LU7 (Jin dkk., 2020) konsisten dengan struktur kristal SARS-CoV (Anand dkk., 2003) yang dapat dilihat pada Gambar II.2.

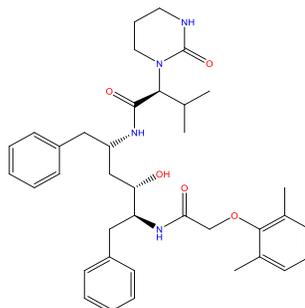
**Gambar II.2** Struktur 3D 3CLpro (a) SARS-CoV-2 (Jin dkk., 2020) dan (b) SARS-CoV (Anand dkk., 2003)

3CLpro berperan penting dalam proses replikasi partikel virus. 3CLpro berada di ujung dan menunjukkan variabilitas tinggi. Oleh karena itu, 3CLpro dapat menjadi target potensial untuk skrining penghambat virus corona (Tahir ul Qamar dkk., 2020). 3CLpro telah divalidasi sebagai target potensial untuk pengembangan obat SARS, MERS, dan Covid19 karena urutannya yang sangat terkonservasi dan memiliki sifat fungsional yang penting (Dong dkk., 2020). Hal ini menjadikan enzim ini target idel untuk agen antivirus.

II.3 Inhibitor 3CL Protease

II.3.1 Lopinavir

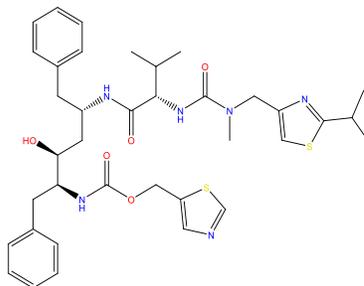
Lopinavir merupakan salah satu obat antiretroviral yang menunjukkan keefektifan melawan Covid19. Lopinavir yang bertindak melawan virus 3CL protease. Lopinavir memiliki kemampuan inhibisi replikasi, bukan supresi jumlah virus (Susilo dkk., 2020). Homologi urutan SARS-CoV-2 dengan SARS-CoV, dan MERS-CoV adalah 77,5% dan 50%, kemungkinan lopinavir digunakan sebagai obat antiretroviral SARS-CoV-2 besar (Kim dkk., 2020). Proses docking dapat digunakan untuk membuat desain beberapa obat antiretroviral yang menunjukkan keefektifan melawan Covid19, termasuk lopinavir (Cheke, 2020). Struktur Lopinavir dapat dilihat pada Gambar II.3



Gambar II.3 Struktur Lopinavir

II.3.2 Ritonavir

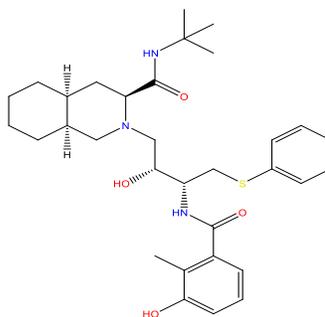
Ritonavir merupakan golongan protease inhibitor yang digunakan untuk terapi infeksi HIV. Selain itu ritonavir juga dapat berpotensi digunakan sebagai obat antikanker melalui mekanisme inhibisi berbagai jalur protein yang menstimulasi apoptosis sel kanker, meningkatkan sistem imun, serta meningkatkan konsentrasi obat antikanker lainnya. Sejak muncul Covid19, ritonavir menjadi salah satu kandidat obat yang efektif mengikat 3CLpro SARS-CoV-2. Ritonavir menunjukkan jumlah kontak atom dan efisiensi pengikatan, dan jumlah residu pengikatan kunci yang tinggi dengan aksesibilitas air yang lebih rendah di situs aktif 3CLpro. Hal ini yang menjadikan ritonavir dapat digunakan untuk memerangi Covid19 (Nutho dkk., 2020). Struktur ritonavir dapat dilihat pada Gambar II.4.



Gambar II.4 Struktur Ritonavir

II.3.3 Nelfinavir

Nelfinavir adalah protease inhibitor HIV-1 sebagai bagian dari terapi antiretroviral (ART). Pada SARS-CoV-2, nelfinavir secara kuat menghambat proses replikasi. Konsentrasi efektif untuk penghambatan 50% dan 90% (EC₅₀ dan EC₉₀) nelfinavir masing-masing adalah 1,13 μ M dan 1,76 μ M, terendah dari sembilan protease inhibitor HIV-1 (Yamamoto dkk., 2020). Nelfinavir menjadi potensial obat yang efektif untuk Covid19 karena pembentuk jaringan interaksi yang serupa dengan yang dijelaskan dalam kompleks kristalografi untuk senyawa peptidomimetik kovalen N3. Selain itu, gugus hidroksil Nelfinavir melakukan interaksi ikatan hidrogen dengan *backbone* karbonil Glu166, residu kunci yang ditemukan untuk menstabilkan sebagian besar fragmen non-kovalen. Aktivitas penghambatan ringan nelfinavir terhadap 3CL^{PRO} juga menjadikan nelfinavir kandidat obat yang efektif untuk menghambat SARS-CoV-2 (Bolcato dkk., 2020). Struktur nelfinavir disajikan dalam Gambar II.5.

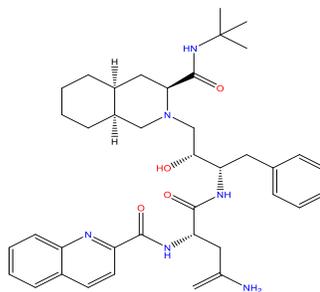


Gambar II.5 Struktur Nelfinavir

II.3.4 Saquinavir

Saquinavir adalah penghambat protease HIV-1 dan HIV-2 yang berperingkat tinggi dalam model aktivitas penghambatan 3CL^{pro} SARS-CoV-2.

Situs pengikatan sangat hidrofilik yang menyebabkan banyak interaksi elektrostatis (Yang dkk., 2020). Saquinavir meningkatkan afinitas untuk dimer SARS-CoV. Saquinavir memiliki afinitas yang lebih kuat untuk kedua subunit Mpro daripada yang ditentukan secara eksperimental untuk penghambat mirip peptida N3, yang menunjukkan efek antivirus yang kuat dalam kisaran konsentrasi mikromolar pada sel vero yang terinfeksi virus SARS-CoV-2. Selain itu, saquinavir diketahui memiliki aktivitas penghambat protease antivirus yang menjadikannya kandidat obat klinis Covid19 (Bello dkk., 2020). Struktur saquinavir tersaji pada Gambar II.6.



Gambar II.6 Struktur Saquinavir

II.4 Interaksi Protein-Ligan

Interaksi protein-ligan merupakan interaksi non kovalen yang dipengaruhi oleh beberapa interaksi kimia, seperti ikatan hidrogen, interaksi van der Waals, serta interaksi hidrofobik. Ikatan hidrogen merupakan jenis interaksi yang melibatkan tarikan dipol-dipol antara atom parsial positif hidrogen dan atom parsial negatif dari oksigen, nitrogen, dan flour yang sangat elektronegatif (Atkins dan de Paula, 2014). Ikatan hidrogen terjadi paling kuat ketika molekul berada dalam orientasi interaksi elektrostatis yang maksimum. Keadaan ini terjadi ketika atom hidrogen dan dua atom lain yang berikatan berada dalam satu garis, dimana atom

akseptor berada segaris dengan ikatan kovalen antara atom donor dan atom H (Nelson dan Cox, 2004). Parameter yang dapat digunakan untuk mengukur kekuatan ikatan hidrogen yaitu panjang ikatan dan energi interaksi yang ditunjukkan pada Tabel II.2.

Tabel II.2: Kekuatan ikatan hidrogen berdasarkan panjang ikatan dan energi interaksinya (Nelson dan Cox, 2004)

| Jenis Ikatan Hidrogen | Panjang Ikatan (Å) | Energi Interaksi (kJ/mol) |
|-----------------------|--------------------|---------------------------|
| Kuat | 1,2 – 1,5 | 58,576 – 167,360 |
| Sedang | 1,5 - 2,2 | 16,736 – 62,760 |
| Lemah | 2,2 - 3,2 | <16,736 |

Interaksi van der Waals adalah ikatan yang terbentuk ketika dua atom mendekat satu sama lain dan membentuk gaya tarik yang lemah dan non spesifik. Interaksi van der Waals bergantung pada jarak antara atom atau molekul. Kekuatan interaksi van der Waals akan berkurang ketika jarak atom atau molekul semakin jauh, sehingga interaksi ini hanya terbentuk ketika atom-atom berdekatan. Energi interaksi van der Waals sekitar 1 kkal/mol, lebih lemah dibandingkan ikatan hidrogen yang memiliki energi antara 1-2 kkal/mol dalam larutan encer (Lodish dkk., 2000).

Interaksi hidrofobik berperan penting dalam pengikatan protein-ligan. Sebagian besar situs pengikatan ligan mengandung setidaknya satu wilayah hidrofobik (nonpolar). Interaksi hidrofobik berperan penting dalam menjaga protein stabil dan aktif secara biologis, karena memungkinkan protein untuk mengurangi permukannya dan mengurangi interaksi yang tidak diinginkan dengan air (Sahu dkk., 2008)

Interaksi non kovalen sangat berpengaruh terhadap protein, yaitu untuk mempertahankan struktur tiga dimensinya. Selain itu, interaksi non kovalen berperan penting dalam pengikatan molekul besar secara spesifik tetapi bersifat sementara. Interaksi ini sangat penting untuk penemuan dan pengembangan obat (Schalley, 2007).

II.5 Persamaan Kinetik Michaelis Menten

Persamaan Michaelis Menten merupakan persamaan yang mengatur kinetika enzim dan ditulis sebagai berikut:

$$r_A = \frac{v_{max}C_A}{K_m + C_A} \quad (II.1)$$

Dimana r_A merupakan laju reaksi terhadap reaktan A, C_A adalah konsentrasi A, V_{max} adalah laju reaksi maksimum, dan K_m merupakan konstanta Michelis. Jika rekasi A diganti sebagai substrat dan menggambarkan persamaan tersebut dengan menggunakan simbol dalam reaksi biologis, maka persamaannya dapat ditulis sebagai berikut:

$$v = \frac{v_{max}S}{K_m + S} \quad (II.2)$$

dimana v adalah laju reaksi dan S adalah konsentrasi substrat (Doran, 2013).

Urutan reaksi paling sederhana yang menjelaskan sifat kinetik dari enzim adalah:



dengan E adalah enzim, S merupakan substrat (inhibitor), P adalah produk, dan ES adalah kompleks substrat enzim (inhibitor enzim). Seperti yang diharapkan dalam reaksi katalitik, enzim diperoleh kembali di akhir reasi. Pengikatan substrata atau

inhibitor di awal dianggap reversible dengan konstanta laju k_1 dan konstanta reaksi balik k_{-1} . Dekomposisi kompleks inhibitor enzim untuk menghasilkan produk merupakan reaksi irreversible dengan konstanta laju k_2 . K_2 mendefinisikan jumlah molekul inhibitor yang diubah menjadi produk per satuan waktu oleh enzim yang jenuh dengan inhibitor (Doran, 2013).

Konstanta Michaelis didefinisikan sebagai konsentrasi inhibitor dimana setengah dari situs aktif enzim jenuh dengan inhibitor. K_m dianggap sebagai ukuran relative dari afinitas pengikatan inhibitor atau stabilitas kompleks enzim inhibitor. Nilai K_m yang rendah menunjukkan afinitas enzim yang kuat untuk inhibitor (Doran, 2013).

II.5 Stabilitas Termal Protein

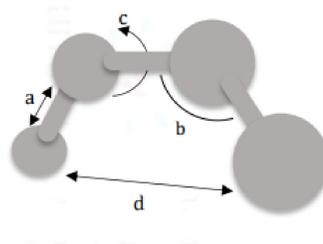
Stabilitas termal protein merupakan ketahanan suatu protein terhadap energi termal (temperatur tinggi) untuk tetap dalam *folded state* sehingga tetap dapat menjalankan fungsinya (Zhang dkk., 2004). Faktor spesifik stabilitas termal umumnya meliputi komposisi asam amino, keberadaan residu prolin, area hidrofobik atau hidrofilik, penyisipan atau penghapusan, jembatan disulfida, pasangan ion, dan ikatan hidrogen (Pechkova dkk., 2007). Protein dapat mengalami *unfolding* karena ketidakstabilan keadaan protein sehingga energi yang dihasilkan lebih tinggi dari *folded state* (Hati, 2014).

II.6 Mekanika Molekul

Metode pemodelan struktur tiga dimensi, interaksi, dan reaksi kimia ada tiga, yaitu kuantum mekanik, mekanika molekular, dan kuantum mekanik mekanika molekular (KM-MM). Metode mekanika molekular menggunakan

pendekatan *Born-Oppenheimer*, yaitu berat inti atom melebihi elektron dan kecepatannya jauh lebih rendah dibanding elektron, sehingga efek elektron ditiadakan. Metode ini hanya mampu memodelkan struktur 3D molekul besar dan interaksinya, namun tidak dapat memodelkan reaksi yang terjadi karena efek elektron tidak diperhitungkan (Jensen, 2013).

Metode mekanika molekul memiliki empat komponen untuk perhitungan energinya, yaitu energi ikatan antar atom, energi sudut ikatan antar atom, energi rotasi torsi, dan interaksi antara atom-atom yang tidak berikatan yang meliputi interaksi elektrostatik dan van der Waals. Keempat komponen tersebut memiliki gambaran sebagai berikut:



Gambar II.7 Ilustrasi bentuk energi ikatan dan non-ikatan (a) regangan, (b) tekukan, (c) torsi, dan (d) non-ikatan (interaksi elektrostatik dan van der Waals)

Untuk persamaannya ditunjukkan pada persamaan II.1 dan II. 2 sebagai berikut.

$$E_{total} = E_{regangan} + E_{tekukan} + E_{torsi} + E_{elektrostatik} + E_{van\ der\ Waals} \quad (II.3)$$

$$E_{total} = \sum_{bonds} \frac{k_i}{2} (l_i - l_{i,0})^2 + \sum_{angels} \frac{k_i}{2} (\theta_i - \theta_{i,0})^2 + \sum_{torsion} \frac{V_n}{2} (1 + \cos(n\omega - \gamma)) + \sum_{i=1}^N \sum_{j=i+1}^N \left(4\epsilon_{ij} \left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] + \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0 r_{ij}} \right) \quad (II.4)$$

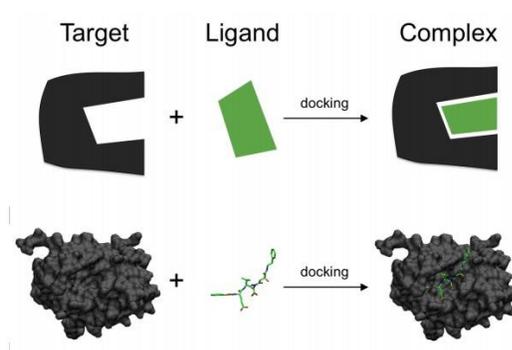
Pada persamaan II.2 terdapat lima persamaan, yaitu persamaan hukum hooke untuk persamaan persamaan regangan ikatan dengan k_i konstanta, l_i adalah jarak setelah regangan ikatan dan l_0 adalah jarak ikatan sebelum meregang. Persamaan kedua juga menggunakan persamaan hukum hooke untuk perubahan sudut ikatan dengan k_i konstanta, θ_i merupakan sudut setelah bengkakan dan θ_0 adalah sudut sebelum bengkakan. Persamaan ketiga menggunakan persamaan *cosine series expansion* dengan V_n adalah tinggi barrier yang menahan putaran torsi, ω adalah sudut torsi dan γ adalah faktor fasa. Persamaan keempat menggunakan persamaan *Lennard-Jones* untuk menggambarkan gaya tolakan van der Waals dan persamaan coloumb dengan q_i adalah muatan parsial dan k adalah konstanta *coulomb* (Leach, 2001).

II.6.1 *Molecular Docking*

Molecular docking merupakan metode komputasi yang digunakan untuk memodelkan interaksi dan memprediksi pengikatan non kovalen makromolekul (reseptor) dan molekul kecil (ligan) (McConkey dkk., 2002). Proses docking melibatkan dua langkah, yaitu prediksi konformasi ligan serta posisi dan orientasinya dalam situs ikatan (*pose*) dan penilaian afinitas pengikatan. Efisiensi docking dapat ditingkatkan dengan mengetahui lokasi situs pengikatan sebelum proses docking berlangsung. Informasi mengenai situs ikatan juga dapat digunakan untuk membandingkan protein target dengan ligan lain (Meng dkk., 2011).

Mekanisme docking protein-ligan sama dengan mekanisme kerja enzim, yaitu *lock and key*, dilaporkan oleh Fischer, dimana ligan yang cocok untuk reseptor akan berkerja seperti kunci dan gembok. Teori awal ini digunakan untuk protein

dan ligan yang bersifat *rigid* (Meng dkk., 2011). Saat ini, teori docking *induce fit* oleh Koshland menyatakan bahwa situs aktif protein terus menerus dibentuk kembali oleh interaksi dengan ligan. Dalam teori ini, protein dan ligan tidak lagi bersifat rigid, tetapi fleksibel selama docking berlangsung (Hammes, 2002). Mekanisme keseluruhan docking dapat dilihat pada Gambar II.8.



Gambar II.8 Ilustrasi mekanisme ligan dan protein target secara keseluruhan (Rakhshani dkk., 2019)

Molecular docking dibagi menjadi dua tahap, yaitu *sampling* dan *scoring*. Tahap *sampling* digunakan untuk mencari dan menentukan posisi energi terendah dari molekul target. Pada tahap ini akan diketahui prediksi konformasi yang terjadi ketika ligan dan protein terbentuk. Sedangkan tahap *scoring* memiliki dua fungsi, yaitu memperhitungkan kekuatan afinitas dan mengarahkan proses eksplorasi pose ligan ke pose dengan afinitas yang lebih kuat (Meng dkk., 2011). Pose pengikatan terbaik dianalisis dengan memilih energi pengikatan yang terendah dan konstanta inhibisi (K_i) terendah yang dihitung menggunakan persamaan di bawah ini (Du, 2016)

$$K_{i_{pred}} = \text{exponential}\left(\frac{\Delta G}{RT}\right) \quad (\text{II.5})$$

II.6.2 Simulasi Dinamika Molekul

Dinamika molekul adalah prosedur yang menggunakan prinsip fisika mekanik yang tidak melibatkan pergerakan electron dalam perhitungannya (fisika kuantum). Metode dinamika molekul memanfaatkan dinamika sistem yang melekat untuk pencarian mode deformasi energi rendah dan dapat digunakan untuk pengambilan sampel ruang konformasi dari sistem terbatas yang besar. Penggunaan alat bioinformatika dan metode komputasi menyebar melalui semua aspek penemuan obat dan membentuk inti desain obat berbasis struktur (G dkk., 2017).

Simulasi dinamika molekul didasarkan pada hukum ke-2 Newton seperti pada persamaan II.4 berikut:

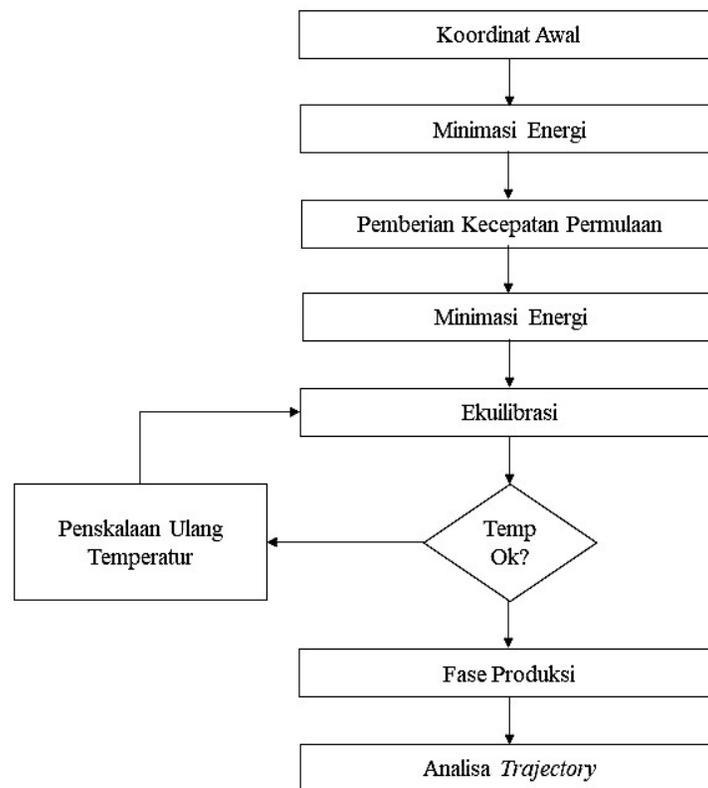
$$F = m \cdot a \quad (\text{II.6})$$

Dimana F adalah gaya yang ditentukan oleh massa (m) dan percepatan (a). Energi yang ada didistribusikan antara energi potensial dan energi kinetik, sehingga menghasilkan persamaan II.5 sebagai berikut:

$$\frac{\delta^2 x_i}{\delta t^2} = \frac{F_{x_i}}{m_i} \quad (\text{II.7})$$

Persamaan ini menjelaskan pergerakan partikel dengan massa m_i , terhadap satu koordinat (x_i) dengan gaya sebesar F_{x_i} (Leach, 2001). Dalam simulasi dinamika molekul, perilaku sistem molekul bergantung waktu diperoleh dengan mengintegrasikan persamaan Newton menggunakan *numerical integrators* dan persamaan energi potensial (Meller, 2001). Luaran dari simulasi adalah rangkaian konformasi yang disebut trayektori. Trayektori merupakan rangkaian koordinat

yang dilalui oleh tiap atom selama proses simulasi. Dalam metode *molecular Dynamics* (MD), lintasan (konfigurasi sebagai fungsi waktu) sistem molekuler dihasilkan oleh integrasi simultan persamaan gerak Newton untuk semua atom dalam sistem (Van Gunsteren dan Berendsen, 1990). Keseluruhan proses simulasi MD dapat dilihat pada Gambar II.9.



Gambar II.9 Diagram alir tahap dinamika molekuler (Sharma dkk., 2019)

II.6.3 Analisis Hasil Simulasi MD

II.6.3.1 Energi Potensial

Energi potensial merupakan energi interaksi internal yang disebut sebagai energi konformasi. Perhitungan total energi melibatkan empat komponen, yaitu

energi ikatan antar atom, energi sudut ikatan antar atom, energi rotasi torsi, dan interaksi antara atom-atom yang tidak berikatan yang meliputi interaksi elektrostatik dan van der Waals. Persamaan energi potensial terdapat dalam persamaan II.1 dan II.2 di atas (Leach, 2001).

II.6.3.2 *Root Mean Square Deviation (RMSD)*

Root Mean Square Deviation (RMSD) atau akar kuadrat rata-rata deviasi merupakan suatu ukuran rata-rata simpangan posisi atom selama waktu simulasi yang dibandingkan terhadap satu struktur. RMSD juga menggambarkan kemiripan antara dua struktur dan dapat digunakan untuk mengkarakterisasi kualitas simulasi biomolekuler, untuk konformasi cluster, dan sebagai koordinat reaksi untuk perubahan konformasi (Pitera, 2014). Persamaan RMSD dapat dilihat pada persamaan dibawah ini (Kufareva dan Abagyan, 2012).

$$\text{RMSD} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N m_i (r_i - r_{ref})^2}{\sum_{i=1}^N m_i}} \quad (\text{II.8})$$

II.6.3.3 *Radius Girasi*

Radius girasi (Rg) adalah jarak kuadrat rata-rata akar dari berbagai atom protein dari sumbu rotasi yang menggambarkan kekompakan struktural. Perubahan nilai Rg yang lebih besar dapat terjadi karena pelipatan atau perubahan konformasi struktur protein, sedangkan tingkat fluktuasi yang lebih rendah selama periode simulasi menunjukkan kekakuan dan kekompakan struktur yang lebih tinggi (Chikkerur dkk., 2018). Radius girasi (Rg) bertujuan untuk menilai kekompakan perubahan kompleks protein ligan. Radius girasi dihitung dengan persamaan di bawah ini (Ahmed dkk., 2020).

$$Rg = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N m_i r_i^2}{\sum_{i=1}^N m_i}} \quad (\text{II.9})$$

II.6.3.4 Root Mean Square Fluctuation (RMSF)

Root Mean Square Fluctuation (RMSF) atau akar kuadrat rata-rata fluktuasi merupakan standar deviasi yang menggambarkan fluktuasi posisi atom selama simulasi dengan membandingkannya terhadap suatu struktur (Kuzmanic dan Zagrovic, 2010). RMSF dihitung terhadap masing-masing residu penyusun protein dengan melihat sejauh mana fluktuasi pergerakan masing-masing residu asam amino yang memberikan fleksibilitas protein (Pitera, 2014). Persamaan RMSF ditulis seperti di bawah ini.

$$\text{RMSF} = \sqrt{\frac{1}{N_s} \sum_{i=1}^{N_s} \|\vec{r}_{ik} - \langle \vec{r} \rangle_k\|^2} \quad (\text{II.10})$$

II.6.3.5 Binding Free Energy

Binding free energy atau *binding affinity* adalah perubahan energi bebas yang terkait dengan proses pengikatan. Pendekatan *Molecular Mechanics Poisson-Boltzmann Surface Area* (MMPBSA) telah banyak diterapkan sebagai metode simulasi energi bebas yang efisien untuk memodelkan molekul, seperti untuk interaksi pengikatan protein-ligan. Persamaan metode MM/PBSA ditulis sebagai berikut (Wang dkk., 2019).

$$\Delta G_{bind} = \Delta G_{MM} + \Delta G_{PB} + \Delta G_{SA-T\Delta S} \quad (\text{II.11})$$

$$\Delta G_{bind} = \Delta G_{complex_{(minimized)}} - [\Delta G_{ligand_{(minimized)}} + \Delta G_{receptor_{(minimized)}}] \quad (\text{II.12})$$

II.7 YASARA

Bioinformatika struktural adalah disiplin penelitian yang bertujuan untuk memindahkan eksperimen dunia nyata ke computer, *ex vivo in silicum*, dimana harus dilakukan dengan cara cepat, mudah, murah, dan tidak membutuhkan hewan. Saat ini, pendekatan umum yang dilakukan adalah menghitung energi terendah yang paling realistis sama seperti di alam. Oleh karena itu, pengembangan YASARA difokuskan untuk meningkatkan fungsi-fungsi, yang disebut juga medan gaya, untuk mencapai prediksi yang lebih akurat (Krieger, 2017).

YASARA merupakan program komputer yang digunakan untuk pemodelan molekul sederhana hingga kompleks (Krieger dan Vriend, 2014). YASARA dapat dijalankan pada Linux, Microsoft Windows, dan MacOS. Program YASARA tersedia dalam empat paket, yaitu *YASARA View*, *YASARA Model*, *YASARA Dynamics*, dan *YASARA Structure*. *YASARA View* merupakan versi paling sederhana yang digunakan untuk grafik dan analisis molekuler. Untuk permodelan molekul dan simulasi dinamika molekul, paket yang digunakan adalah *YASARA Model* atau *YASARA Dynamics*. *YASARA Structure* dapat digunakan untuk permodelan homologi dan molecular docking. YASARA Structure merupakan paket yang paling banyak digunakan untuk mendapatkan informasi mengenai pemodelan molekul. Paket ini dapat digunakan untuk mendapatkan informasi enzim structural yang penting dalam penyelidikan biokatalitik. YASARA Structure berisi berbagai fitur yang sesuai untuk membantu pemodelan, seperti antarmuka grafis dan tutorial yang mudah digunakan (Bornscheuer dan Höhne, 2018).