

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Penyakit degeneratif menjadi penyumbang utama 63% kematian secara global, diperkirakan 36 juta orang meninggal dunia setiap tahun (Rejeki & Kartikawati, 2020). Data *World Health Organization* (WHO, 2020) menyebutkan bahwa 7 dari 10 penyebab utama kematian pada tahun 2019 adalah penyakit tidak menular (penyakit degeneratif). Di Indonesia sendiri, prevalensi penyakit-penyakit degeneratif terus mengalami peningkatan, khususnya dari data tahun 2013 ke 2018 (Riskesmas, 2018). Penyakit ini berkaitan dengan penurunan kinerja organ yang biasanya muncul seiring bertambahnya usia dan dapat digolongkan ke dalam beberapa kelompok, salah satunya adalah neurodegeneratif yang mempengaruhi neuron di otak dan sistem saraf pusat seperti penyakit Alzheimer dan Parkinson. (Rejeki & Kartikawati, 2020). Selain itu, penyakit degeneratif juga seringkali diakibatkan oleh gaya hidup yang tidak sehat yang dapat memicu stress oksidatif sehingga akhirnya berkontribusi signifikan terhadap pembentukan plak di dalam tubuh (Sharifi-Rad et al., 2020).

Akumulasi gaya hidup yang tidak sehat seperti mengonsumsi gula secara berlebihan berdampak pada pembentukan *Advanced Glycation End Products* (AGEs) melalui reaksi glikasi di dalam tubuh. Glikasi merupakan serangkaian reaksi non-enzimatik *irreversible* dari gula pereduksi dengan gugus amino protein yang mengakibatkan modifikasi struktur protein dan pembentukan AGEs (Haque et al., 2020; H. Liu et al., 2022). AGEs mempengaruhi kesalahan pelipatan protein (*misfolding*) atau penurunan stabilitas protein yang menyebabkan agregasi dan

pengendapan protein (Herczenik & Gebbink, 2008). Dalam kondisi normal, rantai polipeptida pada protein melipat dirinya sendiri dengan sedemikian rupa untuk mencapai keadaan asli yaitu struktur tiga dimensi yang merupakan keadaan paling stabil. Namun, dalam kondisi stres, polipeptida dapat menyimpang dari jalur pelipatan protein yang benar. Proses bergabungnya molekul-molekul protein *misfolded* satu sama lain sehingga menggumpal dan menghasilkan agregat yang tidak larut (amiloid) disebut agregasi protein (Abbasbeigi, 2021; Adamcik & Mezzenga, 2018; Ajmal, 2023). Agregasi protein membuat daerah hidrofobik yang sebelumnya tersembunyi menjadi terekspos dan dapat berinteraksi satu sama lain membentuk agregat besar atau plak amiloid (Rajan et al., 2021). Oleh karena itu, setidaknya terdapat tiga strategi untuk menyelesaikan masalah ini, diantaranya adalah (1) pencegahan *misfolding* dengan menstabilkan keadaan asli protein; (2) penguatan atau pemodifikasian protein seperti modifikasi pasca-translasi; atau (3) pembubaran agregat yang terbentuk. Pada penelitian ini, strategi pertama dipilih dengan cara menambahkan suatu senyawa bioaktif membentuk kompleks protein-bioaktif guna mengubah perilaku agregasinya.

Asam galat, asam askorbat, dan kuersetin merupakan senyawa bioaktif yang telah terbukti memiliki potensi sebagai agen anti agregasi (Alam et al., 2017; Azzam et al., 2018; Espargaró et al., 2017; Fang et al., 2023; Khan et al., 2019). Asam galat merupakan asam fenolik yang mampu menghambat agregasi A β fibrilar dewasa, α -syn, dan insulin (Jayamani & Shanmugam, 2014; Y. Liu et al., 2013; Martins et al., 2023). Kuersetin terbukti menjadi penghambat agregasi A β , α -syn, dan tau yang efektif dengan berinteraksi langsung dengan protein yang salah lipat

untuk menstabilisasi spesies oligomerik dan menghambat pertumbuhan fibril (Dhouafli et al., 2018; Jiang et al., 2016). Asam askorbat menunjukkan penghambatan agregasi peptida beta-amiloid ($A\beta_{42}$) dan insulin (Sampaio et al., 2022).

Ketiga agen tersebut khususnya dapat menghambat agregasi protein *Bovine Serum Albumin* (BSA). Albumin merupakan salah satu jenis protein terbanyak (kurang lebih 60%) yang terdapat di dalam plasma darah manusia yang diproduksi oleh organ hati (Ezra et al., 2017). Sementara BSA merupakan protein albumin dari sapi (*bovine*) yang banyak digunakan sebagai model untuk uji anti agregasi karena dianggap sebagai representasi protein *Human Serum Albumin* (HSA) (Chruszcz et al., 2013). Adapun studi *in silico* dan *in vitro* terkait potensi anti agregasi dari senyawa bioaktif asam askorbat, asam galat, dan kuersetin terhadap protein BSA sudah dilakukan oleh Rifai (2020). Dalam studi *in-siliconya*, agregasi BSA diinduksi melalui pemutusan ikatan disulfida. Ikatan disulfida telah lama diketahui mempengaruhi stabilitas termodinamika protein, sehingga pemutusan ikatan tersebut akan membuat protein teragregasi (Manteca et al., 2017). Studi tersebut menggunakan model interaksi I, yang mana pemutusan ikatan disulfida pada protein BSA dilakukan setelah bioaktif dimasukkan. Lebih lanjut, Rachman (2023) melakukan studi *in silico* dengan model interaksi II yaitu pemutusan ikatan disulfida pada protein BSA dilakukan sebelum bioaktif dimasukkan. Oleh karena itu, terdapat dua langkah simulasi. Pada simulasi pertama ada pemberian variasi waktu muat yakni 50 dan 100 ns kemudian pada simulasi selanjutnya semua sampel disimulasikan selama 20 ns.

Waktu simulasi *molecular dynamics* 20 ns yang terbilang singkat barangkali tidak cukup untuk mendapatkan hasil yang lebih representatif dan reliabel. Terlebih fase stabil yang didapatkan Rachman (2023) hanya sebanyak 2 ns di akhir simulasi. Perubahan konformasi yang terkait dengan peristiwa pengikatan ligan umumnya terjadi pada skala waktu lambat (Bronowska, 2011; Hollingsworth & Dror, 2018). Penelitian yang dilakukan Godwin et al (2016) memperlihatkan monomer kecil dengan 28 residu mengalami perubahan konformasi signifikan yang tidak ada dalam simulasi pendek tetapi muncul dalam simulasi yang lebih panjang. Selain itu, simulasi panjang menampilkan konfigurasi struktural yang stabil. Penelitian yang dilakukan Bowman (2016) juga menunjukkan simulasi yang lebih lama meningkatkan akurasi hasil (selaras dengan data eksperimen). Martin dan Frezza (2022) dalam penelitiannya memberikan waktu simulasi yang lebih lama untuk kompleks yang lebih besar.

Dengan demikian, mempertimbangkan aspek-aspek di atas, penelitian ini akan melanjutkan studi *in silico* Rachman (2023) dengan memperpanjang waktu muat bioaktif dari 20 ns menjadi 50 ns untuk melihat pengaruhnya terhadap kestabilan konformasi, kekuatan interaksi dan potensi anti agregasi agar diperoleh kepastian data. Diharapkan penelitian ini dapat berkontribusi untuk pengembangan obat atau terapi baru dalam mencegah penyakit yang berkaitan dengan agregasi protein.

I.2 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian “Studi *In-Silico* Pengaruh Perpanjangan Waktu Interaksi Bioaktif dengan Protein *Bovine Serum Albumin* (BSA) Termodifikasi terhadap Potensi Antiagregasi” adalah sebagai berikut:

- a. Memperoleh prediksi *in-silico* potensi anti agregasi yang lebih optimal
- b. Menentukan pengaruh perpanjangan waktu interaksi bioaktif ke sisi pengikatan protein BSA termodifikasi terhadap kestabilan konformasi dan kekuatan interaksi kompleks bioaktif-protein BSA termodifikasi
- c. Menentukan pengaruh perpanjangan waktu interaksi terhadap potensi anti agregasi bioaktif pada protein BSA termodifikasi melalui Aggrescan 3D.