

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Penelitian Terdahulu

Tabel 2. 1 Penelitian Terdahulu

Nama Peneliti	Judul Penelitian	Hasil Penelitian	Persamaan Dan Perbedaan
(Akbar,2022)	<i>Studi Penambatan Molekul Senyawa Rifampisin dan Isoniazid pada Mutasi RpoB dan KatG Mycobacterium tuberculosis dengan Metode In Silico.</i>	Hasil penambatan menunjukkan bahwa afinitas isolate molekul terhadap obat rifampisin pada beberapa mutan <i>RpoB RpoB</i> mengalami penurunan, yang dapat diamati dari kenaikan nilai binding affinity dan perubahan interaksi antara ligan dan protein mutan. Penelitian in silico ini mengindikasikan adanya pelemahan afinitas dan ikatan antara molekul senyawa rifampisin terhadap protein mutan <i>RpoB</i> dan senyawa isoniazid terhadap protein mutan katG. Hasil ini dapat diartikan sebagai tanda adanya resistensi terhadap obat-obatan tersebut pada level molekuler, menyoroti potensi perkembangan resistensi terhadap pengobatan tuberkulosis.	<p>Persamaan Gen yang diteliti <i>RpoB</i> dari bakteri <i>Mycobacterium tuberculosis</i>. Dan metode yang digunakan penambatan molekul pada penelitiannya dilakukannya homologi modeling.</p> <p>Perbedaan Metode penambatan molekul atau <i>moleculer docking</i> yang digunakan yaitu MOE. Penelitian sebelumnya Modeling dilakukan dengan menggunakan gen <i>rpoB</i> dan <i>KatG</i> sedangkan penelitian sekarang menggunakan gen <i>rpoB</i> saja.</p>
(Afifah et al., 2023)	<i>Skrining potensi senyawa aktif tanaman nanas kerang (Rheo Spathacea) sebagai inhibitor RpoB dalam kasus MDR-TB secara in silico.</i>	Penelitian yang dilakukan oleh Afifah menunjukkan bahwa tumbuhan Rheo spathacea memiliki afinitas yang lebih baik terhadap mutan <i>RpoB</i> dibandingkan dengan Rifampisin. Hasil ini menunjukkan potensi senyawa dari tumbuhan tersebut untuk memberikan respons yang lebih efektif terhadap mutasi pada gen <i>RpoB</i> , yang dapat menjadi informasi berharga dalam pengembangan strategi pengobatan tuberkulosis. Dengan afinitas yang lebih baik terhadap mutan <i>RpoB</i> , senyawa dari tumbuhan ini dapat menjadi alternatif atau tambahan potensial dalam	<p>Persamaan Senyawa aktif yang digunakan dari tanaman Nanas kerang (<i>Rheo spathacea</i>) menggunakan <i>rpoB</i> sebagai inhibitor dan metode yang digunakan <i>docking molekuler</i>.</p> <p>Perbedaan Penelitian terdahulu melakukan <i>docking molekuler</i> dengan menggunakan 25 senyawa nanas kerang (<i>Rheo spatachea</i>) sedangkan penelitian sekarang menggunakan 4 senyawa</p>

		upaya penanganan tuberkulosis, terutama dalam menghadapi resistensi terhadap obat-obatan konvensional seperti Rifampisin.	saja yang memiliki nilai <i>potencial activity</i> . Pada penelitian terdahulu menggunakan <i>PyRx</i> sedangkan ppada penelitian sekarang menggunakan MOE.
(Umar <i>et al.</i> , 2020)	<i>Molecular characterisation of mutations associated with resistance to firstand second-line drugs among Indonesian patients with tuberculosis</i>	Informasi tersebut menjelaskan bahwa mutasi gen <i>RpoB</i> terjadi di luar daerah hotspot, yaitu pada posisi kodon nomor 435, 445, 450, 491, 441, 432, dan 445. Mutasi pada daerah-daerah ini memiliki efek terhadap resistensi terhadap rifampisin. Sementara itu, mutasi gen <i>katG</i> terjadi pada posisi kodon nomor 315, 280, 279, 340, 271, 340, 373, dan 315. Mutasi ini memiliki potensi terhadap resistensi terhadap isoniazid. Pengetahuan tentang lokasi spesifik mutasi pada gen <i>RpoB</i> dan <i>katG</i> penting dalam konteks pengembangan strategi pengobatan tuberkulosis. Hal ini dapat membantu dalam pemahaman resistensi obat dan pengembangan terapi yang lebih efektif terhadap strain bakteri yang mengalami mutasi-gen tertentu.	Persamaan pada penelitian terdahulu dan sekarang menggunakan gen <i>rpoB</i> yang mengalami mutasi dari <i>Mycobacterium Tuberculosis</i> . Perbedaan Metode yang digunakan pada penelitian terdahul\ menggunakan penelitian secara langsung dengan pengambilan sampel pada pasien Tb, sedangkan penelitian sekarang menggunakan metode in silico dengan penambatan molekul untuk melihat <i>binding energy</i> .
(Indas ,2022)	<i>Analisis Mutasi Gen RpoB sebagai Penanda Resistensi Rifampisin pada Penderita Tuberkulosis Paru di BBKPM Makassar</i>	Informasi tersebut menyatakan bahwa terjadi mutasi pada gen <i>RpoB</i> sebanyak 85% dari 20 sampel sputum penderita tuberkulosis paru yang telah mengkonsumsi antibiotik lini pertama di BBKPM Makassar. Mutasi pada gen <i>RpoB</i> dapat berkontribusi pada resistensi terhadap antibiotik tertentu, terutama rifampisin, yang merupakan salah satu antibiotik lini pertama dalam pengobatan tuberkulosis. Penting untuk diingat bahwa mutasi-gen yang menyebabkan resistensi terhadap antibiotik merupakan tantangan serius	Persamaan Adanya mutasi sebagai resistensi obat rifampisin untuk penderita TBC Perbedaan Peneltian ini tidak Membahas tentang senyawa pada nanas kerrang terhadap mutasi mutan <i>RpoB</i> D435V

		dalam penanganan tuberkulosis. Ini dapat mempengaruhi keberhasilan pengobatan dan menekankan perlunya pendekatan yang lebih cermat dalam pemilihan dan manajemen antibiotik untuk mengatasi resistensi.	
(Zubair, 2020)	<i>Penambatan Molekuler dan Simulasi Dinamika Molekuler Senyawa Dari Genus Nigella Terhadap Penghambatan Aktivitas Enzim Protease HIV-1</i>	Informasi tersebut menyampaikan bahwa senyawa Nigellidine 4-O-sulfite, yang berasal dari spesies <i>Nigella sativa</i> , memiliki potensi aktivitas penghambatan terhadap enzim protease HIV-1. Penelitian ini menggunakan metode <i>in silico</i> , khususnya penambatan molekuler dengan program Autodock Vina, untuk menguji interaksi senyawa dengan enzim protease HIV-1.	<p>Persamaan Penambatan molekul dan Simulasi dinamika molekul senyawa merupakan metode yang digunakan</p> <p>Perbedaan Penelitian ini tidak Membahas Gen D435V yang terdapat pada penyakit Tuberkolosis</p>
		<p>Hasil simulasi dinamika molekuler menunjukkan bahwa senyawa Nigellidine 4-O-sulfite kurang stabil dalam berinteraksi dengan sisi katalitik enzim protease HIV-1. Ini dapat diartikan sebagai potensi kurangnya efektivitas senyawa ini dalam menghambat aktivitas enzim protease HIV-1.</p> <p>Dalam konteks penelitian obat, informasi ini memberikan wawasan awal tentang potensi senyawa tersebut sebagai agen penghambat enzim protease HIV-1. Namun, temuan ini perlu diverifikasi melalui penelitian lebih lanjut, termasuk pengujian secara <i>in vitro</i> dan <i>in vivo</i> untuk memahami lebih lanjut efektivitas dan keamanan senyawa tersebut sebagai kandidat obat potensial.</p>	

B. Landasan Teori

1. Tuberkulosis

Tuberkulosis (TB) disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis*, bakteri yang umumnya menyerang paru-paru tetapi juga dapat menyerang organ lain seperti ginjal, tulang belakang, dan otak. Infeksi TB dapat berada dalam dua kondisi, yaitu infeksi TB laten dan TB aktif. Penting untuk menangani infeksi TB laten dengan baik, karena jika tidak, dapat berkembang menjadi TB aktif yang berpotensi fatal (Setyaningrum, R. A Silvitasari & Others, 2023).

Pada pengobatan standar untuk terapi tuberkulosis yang sensitif terhadap obat, digunakan empat jenis antibiotik selama dua bulan, yaitu Isoniazid (H), Rifampisin (R), Pirazinamid (Z), dan Ethambutol (E). Dari keempat antibiotik tersebut, hanya Rifampisin yang menghambat RNA polimerase bakteri dan merupakan antimikroba spektrum luas yang juga digunakan untuk infeksi non-mikobakteri.

Meskipun antibiotik lini pertama yang digunakan dalam pengobatan tuberkulosis telah menyelamatkan banyak nyawa, resistensi antibiotik semakin meningkat dan menyebabkan peningkatan kasus Tuberkulosis yang Resistensi Antibiotik (TB-RO) secara global. Resistensi terjadi ketika *Mycobacterium tuberculosis* (*M.tuberculosis*) menjadi tahan terhadap setidaknya salah satu komponen Obat Anti Tuberkulosis (OAT). Resistensi ini mencerminkan kemampuan kuman TB untuk menahan agen sekitarnya, mengakibatkan sistem pertumbuhan dan perkembangannya tidak terpengaruh. TB-RO dianggap sebagai dampak dari interaksi manusia dengan penyakit ini, terutama karena terapi TB yang tidak adekuat. Hal ini mengakibatkan kuman TB yang rentan mati, sementara yang tidak rentan tetap hidup dan membentuk populasi yang resisten terhadap OAT, yang dapat terus menular dari satu individu ke individu lainnya (Artanti & Lisna, 2018).

Mutasi random pada kromosom bakteri, khususnya pada gen *RpoB* (RNA Polymerase β -Subunit), menjadi penyebab utama resistensi antibiotik, seperti yang terjadi pada *Mycobacterium tuberculosis* terhadap rifampisin. Penelitian oleh (Setiyowati et al., 2020) membahas deteksi resistensi rifampisin pada *Mycobacterium tuberculosis* melalui analisis yang mendalam, menggambarkan

kompleksitas peran mutasi gen dalam mengembangkan ketahanan terhadap antibiotik tersebut.

2. MDR-TB

Multidrug-Resistance (MDR) adalah tahap di mana *Mycobacterium tuberculosis* menjadi resisten minimal terhadap rifampisin dan INH (isonicotinylhydrazine) dengan atau tanpa Obat Anti TB (OAT) lainnya (Esa *et al.*, 2019). Pada tahun 2015, diperkirakan terdapat 480.000 kasus baru *Multidrug Resistant Tuberculosis* (MDR-TB), dengan tambahan 100.000 orang yang memiliki *Rifampicin-Resistant* (RR-TB) dan memenuhi syarat untuk pengobatan MDR-TB. Data resistensi obat menunjukkan bahwa sekitar 3,9% dari 21% kasus TB yang sebelumnya ditangani diperkirakan memiliki resistensi terhadap rifampisin dan MDR/RR-TB pada tahun 2015. MDR/RR-TB menyebabkan sekitar 250.000 kematian pada tahun tersebut, dengan sebagian besar kasus kematian terjadi di Asia. Sekitar 9,5% dari kasus MDR-TB juga memiliki resistensi obat tambahan, dikenal sebagai *extensively drug-resistant tuberculosis* (XDR-TB). Hingga saat ini, 117 negara di seluruh dunia telah melaporkan setidaknya satu kasus XDR-TB (WHO, 2016).

Ancaman *Multidrug-Resistant Tuberculosis* (MDR-TB) menghasilkan diskusi tentang perlunya regulasi yang lebih ketat terkait obat anti tuberkulosis, serta menyoroti kepentingan mendesak ketersediaan obat lini kedua. Kedua upaya ini membutuhkan dukungan untuk meningkatkan kapasitas dan melibatkan organisasi profesi. Isu utama yang semakin muncul adalah kepentingan mendesak untuk meningkatkan akses, terutama bagi masyarakat miskin dan terpencil. Upaya ini memerlukan fondasi yang kokoh, termasuk kemitraan yang kuat, pengembangan desa siaga peduli TB, pendelegasian wewenang ke bidan/perawat desa untuk membawa obat anti tuberkulosis lebih dekat kepada masyarakat miskin, peningkatan keterlibatan sektor terkait dengan tugas yang jelas, dan pelibatan sektor terkait dalam mengurangi faktor risiko. Indonesia, sebagai peringkat ke-8 dari 27 negara dengan beban MDR-TB/XDR-TB tinggi, menjadi salah satu prioritas. Beban MDR-TB di negara-negara ini menyumbang sekitar 85% dari total beban MDR-TB di seluruh dunia. Setidaknya, diperkirakan terdapat 4000 kasus MDR-TB

di negara-negara ini, mencapai sekurang-kurangnya 10% dari total kasus baru MDR-TB (Kemenkes RI, 2011).

3. RPOB

Mutasi pada sequeen gen *RpoB*, terutama pada daerah yang dikenal sebagai Rifampisin Resistance Determining Region (RRDR), menjadi penyebab umum kasus resistensi antibiotik rifampisin. Gen *RpoB* membentuk struktur sub unit- β RNA polymerase yang menjadi sasaran antibiotik rifampisin. Mutasi pada gen ini, terutama di bagian tengah gen, menghasilkan struktur rifampisin yang tidak dapat berikatan dengan subunit- β RNA polymerase. Akibatnya, transkripsi RNA terhambat, menyebabkan hambatan sintesis protein, dan ini menjadi penyebab utama ketidakberhasilan rifampisin dalam mengatasi infeksi (Latifah, 2018). Lebih dari 95% isolat *Mycobacterium tuberculosis* yang resisten terhadap rifampisin telah teridentifikasi mengalami mutasi pada gen *RpoB*. Oleh karena itu, dalam pemeriksaan molekuler, region yang mengalami mutasi ini, yaitu gen *RpoB*, menjadi target ideal untuk mendeteksi resistensi terhadap rifampisin (Rahman et al., 2022).

4. Nanas Kerang (*Rhoeo spathacea*)



Gambar 2. 1 Daun nanas kerang (Hariana, 2013)

Nanas kerang (*Tradescantia spathacea* Swartz), yang juga dikenal sebagai *Rhoeo spathacea*, berasal dari Teluk Meksiko, daerah Karibia, dan pesisir Amerika Tengah (Shinde et al., 2021). Daun nanas kerang telah lama digunakan secara tradisional dalam bentuk infus, rebusan, atau rendaman untuk pengobatan berbagai

penyakit, termasuk demam, batuk, asma, bronkhitis, tuberkulosis, bahkan kanker (Yasurin & Piya-Isarakul, 2015). Penelitian menunjukkan bahwa Nanas kerang memiliki empat senyawa yang memiliki afinitas yang lebih baik terhadap mutan *RpoB* dibandingkan dengan Rifampisin, memberikan potensi sebagai sumber bahan aktif baru dengan potensi penggunaan dalam pengobatan penyakit yang berkaitan dengan resistensi rifampisin, seperti tuberkulosis (Sassi et al., 2023).

Dalam ilmu tumbuhan, sistematika (Taksonomi) tanaman *R. discolor* Hance adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi : Spermatophyta (Tanaman berbiji)
Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Subdivisi : Angiospermae (Biji berada di dalam buah)
Kelas : Monocotyledonae (biji berkeping satu)
Ordo : Commelinales
Familia : Commelinaceae
Genus : *Rhoeo*
Species : *Rhoeo discolor* [L. Her.] hance (Giles et al., 2017)

5. Molecular Docking

Molecular docking, atau penambatan molekul, merupakan salah satu metode *in silico* yang paling populer dan sukses berbasis struktur. Tujuan utamanya adalah untuk memprediksi interaksi yang terjadi antara molekul dan target biologis. Metode ini bergantung pada informasi yang diperoleh dari pengetahuan tentang struktur 3D target, dan proses docking dilakukan tanpa mengetahui letak sisi aktif atau tempat penambatan dari reseptor (Fibriani et al., 2021).

Dalam penelitian ini, penambatan molekul digunakan sebagai metode komputasi untuk memprediksi posisi interaksi antara reseptor, biasanya berupa protein atau molekul asam nukleat (DNA atau RNA), dan ligan. Dengan memahami posisi terbaik, afinitas dan interaksi ikatan antara ligan dengan protein dapat diprediksi (Rasyid et al., 2019).

6. Dinamika Molekuler

Dinamika molekuler adalah suatu pendekatan ilmiah yang menganalisis gerak partikel pada tingkat atom dan molekul, menguraikan pergerakan partikel berdasarkan persamaan gerak klasik Newton. Penyelesaian persamaan gerak ini memerlukan pendekatan numerik yang diimplementasikan dalam algoritma komputer, mengingat kompleksitas sistem yang diamati. Dalam dinamika molekuler, potensial menjadi elemen kunci yang memegang peran sentral. Potensial ini menjadi dasar untuk menghitung gaya yang bekerja pada partikel. Gaya yang dihasilkan dari potensial membantu memahami interaksi antar partikel, memberikan landasan untuk pemahaman lebih lanjut tentang perilaku sistem pada tingkat molekuler. (Fathurrahman & Haryono, 2011)

Simulasi dinamika molekuler secara umum dikembangkan melalui program simulasi dibagi dalam tiga tahap, yaitu :

a. Tahap Inisialisasi

Pada fase awal simulasi dinamika molekuler, sejumlah parameter input menjadi perhatian kunci untuk memastikan eksekusi yang akurat. Konfigurasi sistem atau koordinat awal atom, potensial interaksi atom, timesize (dt), jumlah langkah integrasi numerik (nsteps), suhu sistem (T), dan parameter lainnya harus ditentukan dengan cermat. Sebelum simulasi dimulai, konfigurasi awal atom-atom diatur, seringkali diambil dalam bentuk kisi kristal dengan geometri kubik.

Pemilihan potensial yang memodelkan interaksi atom menjadi langkah kritis pada tahap awal ini. Dalam melaksanakan simulasi dinamika molekuler, di mana prosedur diskretisasi terlibat, pengaturan ukuran waktu (dt) biasanya ditetapkan pada nilai seperti 0.0001 ps, dan jumlah langkah integrasi numerik (nsteps) dapat mencapai 100,000 untuk memastikan resolusi yang memadai. Suhu sistem pada awal simulasi harus diberikan dan diatur sesuai kebutuhan.

b. Tahap Ekuilibrasi

Fase penyeimbangan menjadi tahap kritis dalam proses simulasi docking molekuler karena prosedur diskretisasi yang diterapkan memerlukan waktu untuk mencapai keseimbangan sistem sebelum dilakukan perhitungan besaran fisis. Durasi waktu ekuilibrasi dapat bervariasi tergantung pada kombinasi parameter dan

karakteristik sistem yang berbeda, sehingga penentuan waktu ekuilibrasi menjadi keputusan signifikan yang mempengaruhi hasil simulasi.

Untuk menentukan waktu ekuilibrasi, pemantauan konservasi energi total sistem dapat digunakan sebagai panduan. Keseimbangan energi total sistem mencerminkan bahwa sistem telah mencapai titik di mana propertinya stabil dan tidak berubah secara signifikan seiring waktu. Dengan memahami pola konservasi energi, peneliti dapat menetapkan kapan sistem telah mencapai keadaan ekuilibrasi yang diinginkan. Kejelasan mengenai waktu ekuilibrasi bukan hanya menjamin stabilitas sistem, tetapi juga menghasilkan hasil simulasi yang konsisten dan dapat diandalkan. Oleh karena itu, seleksi waktu ekuilibrasi yang teliti memegang peranan penting dalam perancangan dan evaluasi simulasi docking molekuler.

c. Tahap Produksi

Jika sistem telah melewati tahap ekuilibrasi dengan sukses, langkah berikutnya memungkinkan untuk dilakukannya perhitungan besaran fisis (Pantilu et al., 2012).

C. Perangkat Lunak

a. MOE (Molecular Operating Environment)

MOE (*Molecular Operating Environment*) adalah hasil karya Chemical Computing Group, menyediakan akses ke berbagai alat komputasi yang mencakup bioinformatika, pemodelan protein, desain berbasis struktur, hingga pemahaman farmakofor. Integrasi seluruh aplikasi ini dilakukan melalui Scientific Vector Language (SLV). Dalam konteks pemanfaatan komputasi, keberadaan aplikasi kimia yang komprehensif menjadi perhatian utama. MOE (Molecular Operating Environment) muncul sebagai solusi yang memadai dalam bidang kimia komputasi, khususnya untuk penemuan obat, dengan menyajikan berbagai fitur terintegrasi (Chemical Computing Group, 2017).

b. Protein Data Bank (PDB)

Protein Data Bank (PDB) merupakan repositori global tunggal yang menyimpan data struktur tiga dimensi (3D) yang diperoleh secara eksperimental dari makromolekul biologis. Sejak tahun 2003, PDB dikelola oleh Worldwide Protein Data Bank (wwPDB; wwpdb.org), sebuah konsorsium internasional yang

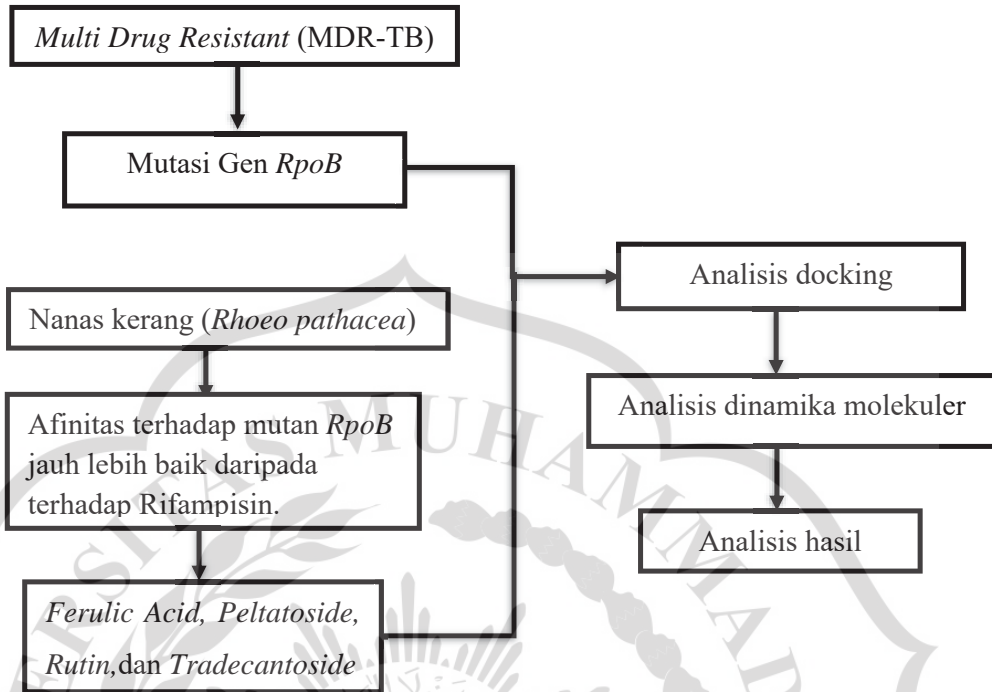
bekerja secara kolaboratif untuk mengawasi proses deposisi, validasi, biokurasi, dan penyebaran data struktur makromolekuler 3D secara terbuka. PDB Core Archive menyimpan koordinat atom 3D dari lebih dari 144.000 model struktural, termasuk protein, DNA/RNA, serta struktur kompleks dengan logam dan molekul kecil, bersama dengan data eksperimental dan metadata terkait. Struktur dan data/metadata eksperimental juga diarsipkan di PDB Core Archive menggunakan format data master PDBx/mmCIF wwPDB yang dapat diperluas. Arsip ini terus berkembang seiring dengan penggabungan data/metadata dari teknik eksperimental baru dan metode penentuan struktur oleh wwPDB (wwPDB Consortium, 2019). Akses ke PDB dapat diperoleh dengan mengunjungi situs web <http://www.rcsb.org/>.

c. PubChem

PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) adalah repositori publik yang menyediakan informasi mengenai zat kimia dan aktivitas biologisnya. Diluncurkan pada tahun 2004 sebagai bagian dari Inisiatif Peta Jalan Perpustakaan Molekuler oleh Institut Kesehatan Nasional AS (NIH), PubChem telah berkembang menjadi sistem besar yang berfungsi sebagai sumber informasi kimia untuk komunitas riset ilmiah selama lebih dari satu dekade. Database BioAssay di dalamnya menyimpan data aktivitas biologis dari zat kimia yang diuji dalam percobaan pengujian.

Makalah ini memberikan gambaran umum tentang database Substansi dan Senyawa PubChem. Ini mencakup sumber dan konten data, organisasi data, proses pengiriman data melalui PubChem Upload, standardisasi struktur kimia, antarmuka berbasis web untuk pencarian tekstual dan non-tekstual, serta metode akses terprogram. Selain itu, makalah ini memberikan penjelasan singkat tentang PubChem3D, sebuah sumber daya yang menyajikan struktur tiga dimensi teoritis senyawa di PubChem, dan PubChemRDF, data PubChem yang diformat dalam Resource Description Framework (RDF) untuk mendukung berbagi data, analisis, dan integrasi dengan informasi dari basis data lainnya (Rigden et al., 2016).

D. Kerangka konsep



Gambar 2. 2 Kerangka Konsep

E. Hipotesis

Senyawa dalam nanas kerang diprediksi memiliki afinitas dan interaksi yang baik terhadap protein *RpoB* mutan, serta memiliki kestabilan interaksi terhadap *RpoB* mutan D435V.