

TESIS

**SINTESIS DERIVAT REMDESIVIR DAN UJI
EFEKTIFITAS SEBAGAI ANTICOID-19**

*REMDESIVIR DERIVATE SYNTHESIS AND
ANTICOID-19 EFFECTIVENESS TEST*

ROSNIDAR SUMARDI

N012211019



PROGRAM STUDI MAGISTER FARMASI

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2023

**SINTESIS DERIVAT REMDESIVIR DAN UJI EFEKTIFITAS
SEBAGAI ANTICOVID-19**

Tesis

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar magister

Program Studi Ilmu Farmasi

Disusun dan diajukan oleh

ROSNIDAR SUMARDI

N012211019

Kepada

PROGRAM STUDI MAGISTER FARMASI

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2023

LEMBAR PENGESAHAN

SINTESIS DERIVAT REMDESIVIR DAN UJI EFEKTIFITAS SEBAGAI ANTICOID-19

Disusun dan diajukan oleh

ROSNIDAR SUMARDI

N012211019

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Magister Program Studi Magister Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin

Pada Tanggal 13 Juni 2023

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Mengetahui

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping



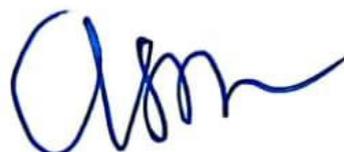
Yusnita Rifai, S.Si., M.Pharm., Ph.D., Apt
NIP. 19751117 200012 2 001



Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt
NIP. 19641231 199002 1 005

Ketua Program Studi
Magister Ilmu Farmasi

Dekan Fakultas Farmasi
Universitas Hasanuddin



Muhammad Aswad, S.Si., M.Si., Ph.D., Apt
NIP. 19800101 200312 1 004



Prof. Dr. rer.nat Marianti A. Manggau, Apt
NIP. 19670319 199203 2 002

**PERNYATAAN KEASLIAN TESIS
DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA**

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis berjudul "SINTESIS DERIVAT REMDESIVIR DAN UJI EFEKTIFITAS SEBAGAI ANTICOID-19" adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing (Yusnita Rifai, S.Si, M.Pharm, Ph.D., Apt sebagai Pembimbing Utama dan Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt sebagai Pembimbing Pendamping). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka tesis ini,

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya berupa tesis ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, Maret 2023



ROSNIDAR SUMARDI

(N012211019)

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah Subhanahu wa ta'ala berkat rahmat dan petunjuk-Nya sehingga tesis ini dapat diselesaikan. Dalam pembuatan Tesis, penulis tidak terlepas bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Untuk itu, penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ibu Yusnita Rifai, S.Si., M.Pharm., Ph.D., Apt selaku pembimbing utama dan dosen penasehat akademik yang telah membimbing, memberikan arahan dan motivasi, serta telah meluangkan waktu kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan masa studinya selama di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
2. Bapak Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt selaku pembimbing pendamping yang telah membimbing, memberikan masukan serta saran dan telah meluangkan waktu kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan tesis ini.
3. Bapak Muhammad Aswad, M.Si., Ph.D., Apt, Bapak Firzan Nainu, M.Biomed., Ph.D., Apt, dan Ibu Dr. Risfah Yulianty, M.Si., Apt selaku tim penguji yang telah meluangkan waktu untuk memberikan saran dan masukan yang membangun kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan tesis ini.
4. Dekan, Wakil Dekan, seluruh staf dosen dan pegawai Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin atas ilmu, bantuan, dan fasilitas yang diberikan kepada penulis selama menempuh studi hingga menyelesaikan tesis ini.
5. Kedua orang tua tercinta Ibu Misna dan Bapak Sumardi, Kakak Roslinda serta saudara saudari atas doa, perhatian, kasih sayang, dukungan baik secara moril ataupun materil.
6. Teman-teman Nurul, Nunung, Idda, Mus, JS, Wisda, Fifi, Nabiha, yang telah banyak membantu selama studi dan memberi banyak dukungan serta motivasi dalam menyelesaikan tesis ini.

7. Teman-teman Pascasarjana angkata 2021, yang telah memberikan banyak kenangan, dukungan, dan pengalaman yang tidak terlupakan selama menjadi mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
8. Semua pihak yang telah membantu dan tidak sempat disebutkan Namanya satu persatu.

Penulis menyadari bahwa penyusunan Tesis masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan saran dan masukan yang membangun dari berbagai pihak. Semoga karya ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan khususnya ilmu farmasi. Aamiin.

Makassar, Maret 2023

Rosnidar Sumardi

ABSTRAK

Rosnidar Sumardi. Sintesis Derivat Remdesivir dan Uji Efektifitas Sebagai Anticovid-19 (dibimbing oleh Yusnita Rifai dan Gemini Alam)

Remdesivir menjadi pilihan terapi anticovid-19 sebagai inhibitor kompetitif RNA yang tergantung pada RNA polimerase (RdRp) virus. Namun sifatnya yang tidak stabil dalam plasma menunjukkan kemanjuran terapeutik yang terbatas. Disamping itu, jalur aktivasi yang kompleks dapat mempengaruhi aktivitas antivirus yang bervariasi dalam sel yang terinfeksi SARS-CoV-2. Penelitian ini bertujuan melakukan pengembangan sintesis derivat remdesivir.

Metode sintesis derivat Remdesivir yakni remdesivir sebagai *lead compound* diasetilasi dengan reagen asetil klorida dalam pelarut diklorometana dan tetrahydrofuran pada suhu 30°C selama 6 jam. Senyawa hasil sintesis berupa serbuk kristal kuning kecokelatan yang kemudian diidentifikasi menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Produk yang diperoleh dikarakterisasi dengan metode spektroskopi meliputi spektrofotometer UV-VIS, FTIR, ¹H NMR, ¹³C NMR. Selanjutnya, dilakukan uji kualitatif aktivitas Anticovid-19 menggunakan *Agilent 2100 Bioanalyzer*.

Hasilnya diduga diperoleh senyawa derivat remdesivir (RDV-D2) atau 2-ethylbutyl (2S)-2-[[[(2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-cyano-3,4-diacetyloxyoxolan-2-yl]methoxyphenoxyphosphoryl]amino]propanoate (kristal kecokelatan 80,8%) dengan titik leleh pada suhu 117,8°C. Hasil KLT menunjukkan nilai R_f 0,54. Hasil karakterisasi dengan spektrofotometer UV-Vis yaitu λ_{maks} 275,1 nm. Hasil karakterisasi dengan FTIR diperoleh gugus fungsi pada bilangan gelombang 3449,50 cm⁻¹ (N-H), 2949,66 cm⁻¹ (C-H alifatik), 1638,45 cm⁻¹ (C=O), 1416,76 cm⁻¹ (CH₂), 1160,53 dan 1043,90 cm⁻¹ (C-O). Hasil karakterisasi dengan ¹H NMR δ_{2,5} ppm (3H, s) menunjukkan adanya proton pada struktur H-C-C=O sebagai hasil substitusi gugus asetil, dan data ¹³C NMR menandakan terdapat karbon gugus aromatic, alkena, C≡N, dan karbon yang berikatan dengan elektronegatif O. Hasil analisis *Agilent 2100 Bioanalyzer* menunjukkan nilai intensitas fluoresensi 100 FU pada sampel yang telah diberi pengobatan derivat remdesivir dan 200 FU pada wildtype SARS-CoV-2 tanpa pengobatan. Terjadinya penurunan nilai intensitas sinyal Fluoresence unit (FU) pada sampel yang telah diberi derivat remdesivir sintetik diduga menunjukkan derivat remdesivir berpotensi sebagai kandidat pengobatan covid-19.

Kata Kunci: Remdesivir, Derivat Remdesivir, Sintesis, Asetilasi, Anticovid-19

ABSTRACT

Rosnidar Sumardi. Remdesivir Derivate Synthesis and Anticovid-19 Effectiveness Test (supervised by Yusnita Rifai dan Gemini Alam)

Remdesivir, a competitive inhibitor of viral RNA-dependent RNA polymerase (RdRp), is the anti-COVID-19 treatment of choice. Their fragile nature in plasma, however, raises doubts about their therapeutic potency. Additionally, SARS-CoV-2-infected cells may exhibit different antiviral behaviors as a result of the intricate activation mechanism. The purpose of this research is to create a synthesis for remdesivir derivatives.

Remdesivir derivatives were synthesized as lead compounds by acetylating them using the acetyl chloride reagent in dichloromethane and tetrahydrofuran solvents at 30°C for 6 hours. Thin-layer chromatography (TLC) was used to identify the produced chemical, which was discovered as a brownish-yellow crystalline powder. The final step was to characterize the products using spectroscopic techniques such as FTIR, ¹H NMR, ¹³C NMR, and UV-VIS spectrophotometers. The Agilent 2100 Bioanalyzer was then used to conduct a qualitative test of anticovid-19 activity.

The resulting substance is predicted to be Remdesivir derivate (RDV-D2) or 2-ethylbutyl (2*S*)-2-[[[(2*R*,3*S*,4*R*,5*R*)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-*f*][1,2,4]triazin-7-yl)-5-cyano-3,4-diacetyloxyoxolan-2-yl]methoxyphenoxyphosphoryl]amino]propanoate (80,8% brown crystals). Melting point at 117.8°C and the R_f value for the TLC was 0.54. The maximum wavelength determined by a UV-Vis spectrophotometer is 275.1 nm. Functional groups were discovered using FTIR characterisation at wave numbers 3449.50 cm⁻¹ for N-H, 2949.66 cm⁻¹ for aliphatic C-H, 1638.45 cm⁻¹ for C=O, 1416.76 cm⁻¹ for CH₂, 1160.53, and 1043.90 cm⁻¹ for C-O. As a result of the replacement of acetyl groups, characterizing results with ¹H NMR at 2.5 ppm (3H, s) show the existence of protons in the H-C-C=O structure, while ¹³C NMR data show the presence of aromatic carbon, alkene, CN, and carbon bound electronegatively to O. According to the Agilent 2100 Bioanalyzer analysis, samples treated with remdesivir derivatives had a fluorescence intensity value of 100 FU, while samples of wild-type SARS-CoV-2 that had not been treated had a value of 200 FU. Remdesivir derivatives is predicted may be suitable for the treatment of COVID-19, as evidenced by the decrease in the fluorescence unit (FU) signal intensity value in samples that had received synthetic remdesivir derivatives.

Keywords: Remdesivire, Derivate Remdesivire, Synthesis, Acetylation, Anticovid19

DAFTAR ISI

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA	iv
UCAPAN TERIMA KASIH.....	v
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACK	viii
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	5
D. Manfaat Penelitian	5
E. Ruang Lingkup Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
A. COVID-19	7
1. Epidemiologi	7
2. Virologi.....	8
3. Patogenesis dan Patofisiologi	9
4. Manifestasi Klinis	11
5. Faktor Resiko.....	12
6. Tata Laksana	13
B. Sintesis Obat.....	13
1. Pengertian Sintesis	13
2. Langkah-langkah Perancangan Sintesis.....	15
3. Remdesivir.....	16
4. Sintesis Remdesivir	17

5. Mekanisme Aksi Remdesivir	19
6. Aktivitas Antivirus dari Remdesivir	21
C. Karakterisasi Menggunakan Instrumen Spektroskopi.....	24
1. Spektrofotometer UV-VIS	24
2. Spektrofotometer IR.....	25
3. Spektrofotometer Massa.....	27
4. Spektrofotometer NMR	29
D. Kerangka Teori	31
E. Kerangka Konsep.....	32
F. Definisi Operasional	33
BAB III METODE PENELITIAN.....	34
A. Rancangan Penelitian	34
B. Waktu dan Lokasi Penelitian	34
C. Alat dan Bahan	34
1. Alat	34
2. Bahan	34
3. Metode Kerja	35
a. Sintesis Derivat Remdesivir	35
b. Analisis Menggunakan KLT	35
c. Karakterisasi Senyawa Derivat Remdesivir	36
d. Uji Kualitatif Penentuan Ukuran Fragmen DNA menggunakan Agilent 2100 Bioanalyzer	38
e. Analisis Data	40
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	41
A. Hasil Penelitian	41
B. Pembahasan.....	45
1. Sintesis dan Analisis KLT Derivat Remdesivir.....	45
2. Karakterisasi Senyawa Derivat Remdesivir.....	48
3. Uji Kualitatif Senyawa Derivat Remdesivir	52
BAB V PENUTUP	55

A. Kesimpulan	55
B. Saran	56
DAFTAR PUSTAKA.....	57
LAMPIRAN I	60
LAMPIRAN II	62
LAMPIRAN III	68
LAMPIRAN IV.....	70

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Skema Reaksi Sintesis Senyawa Derivat Remdesivir	41
2. Pemerian Senyawa Remdesivir dan Senyawa Derivat Remdesivir	41
3. Rendamen Senyawa Derivat Remdesivir	42
4. Hasil KLT dan Spektrofotometri UV-VIS Senyawa Remdesivir dan Derivat Remdesivir	42
5. Hasil Pengukuran FTIR Senyawa Remdesivir	42
6. Hasil Pengukuran FTIR Senyawa Derivat Remdesivir	43
7. Hasil Pengukuran NMR Senyawa Derivat Remdesivir	43
8. Hasil Pengukuran Titik Leleh Senyawa Remdesivir dan Derivat Remdesivir	43
9. Data Base Pair dari Agilet 2100 Bioanalyzer	44

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur Kimia Remdesivir (GS-5734).....	16
2. Struktur Kimia Remdesiviri Nukleosida (GS-441524)	17
3. Skema Alur Sintesis Remdesivir	18
4. Mekanisme Aksi Remdesivir Menghambat SARS-COV-2	20
5. Skema Alat Spektrofotometri UV-VIS	25
6. Skema Alat Spektrofotometer IR	26
7. Skema Alat Spektrofotometer Massa	28
8. Skema Alat GC-MS	29
9. Skema Alat Spektrofotometer NMR.....	30
10. Mekanisme Reaksi Asetilasi pada Remdesivir.....	47
11. Senyawa Derivat Remdesivir.....	62
12. Senyawa Remdesivir.....	62
13. Hasil KLT senyawa Remdesivir dan Derivat Remdesivir	63
14. Hasil Panjang Gelombang Maksimum pada Spektrofotometer UV VIS senyawa Remdesivir	63
15. Hasil Panjang Gelombang Maksimum pada Spektrofotometer UV VIS senyawa Derivat Remdesivir	64
16. Hasil Spektra IR senyawa Remdesivir	64
17. Hasil Spektra IR senyawa Derivat Remdesivir.....	65
18. Hasil Spektra ¹ H NMR Senyawa Derivat Remdesivir	65
19. Hasil Spektra ¹³ C NMR Senyawa Derivat Remdesivir	66
20. Hasil Determinasi Ukuran Fragmen DNA Sampel Derivat Remdesivir	66
21. Hasil Determinasi Ukuran Fragmen DNA kontrol negative	67
22. Hasil Determinasi Ukuran Fragmen DNA Cv0-1	67
23. Instrumen Spektrofotometri UV-VIS.....	68
24. Instrumen FTIR	68
25. Instrumen NMR	68
26. Instrumen Melting Point Analyzer	69
27. Instrumen Agilent 2100 Bioanalyzer	69

DAFTAR SINGKATAN

COVID-19 (coronavirus disease 2019)

SARS-COV-2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2)

ACE 2 (angiotensin converting enzyme 2)

g (Gram)

mg (milligram)

ml (milliliter)

μ L (microliter)

cm (sentimeter)

nm (nanometer)

λ (Panjang gelombang)

S_N2 (Substitusi Nukleofilik 2)

KLT (Kromatografi Lapis Tipis)

UV VIS (Ultraviolet Visible)

FTIR (Fourier Transform Infrared)

NMR (Nuclear Magnetic Resonance)

DNA (Asam Deoksiribosanukleat)

ppm (part per million)

FU (fluorescence units)

pg (picogram)

ng (nanogram)

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Pada akhir Desember 2019, virus corona mulai menyebar di Wuhan, Cina. Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) secara resmi menamai penyakit ini *coronavirus disease 2019* (COVID-19) pada 11 Februari 2020. Pada saat yang sama, Komite Internasional untuk Taksonomi Virus (ICTV) mengumumkan bahwa virus corona baru itu dinamai *severe acute respiratory syndrome coronavirus 2* (SARS-CoV-2) (Gao dkk. 2021). COVID-19 telah membawa bahaya dan tantangan besar bagi lebih dari 200 negara dan wilayah di seluruh dunia. Sampai 9 Februari 2023, lebih dari 671 juta kasus telah dikonfirmasi di seluruh dunia dan kematian kumulatif telah melebihi 6 juta. Negara dengan kasus tertinggi yaitu Amerika Serikat dengan jumlah melebihi 102 juta kasus dan tingkat kematian telah melebihi 1 juta kasus. Di Indonesia kasus COVID-19 telah melebihi 6 juta kasus dengan tingkat kematian mencapai lebih dari 160 ribu kematian.

SARS-CoV-2 adalah virus RNA yang secara genetik terletak dalam genus Betacoronavirus yang menggunakan glikoprotein untuk mengikat reseptor *angiotensin converting enzyme 2* (ACE2) kemudian *serine protease* TGRBSS2 memfasilitasi masuknya virus ke dalam sel. SARS-CoV-2 menyebabkan sindrom pernapasan akut, hiperinflamasi, kerusakan pembuluh darah, mikroangiopati, angiogenesis, dan trombosis. Empat tahap virus COVID 19 menyerang tubuh yaitu tahap pertama ditandai dengan infeksi saluran pernapasan atas, kedua dengan timbulnya dispnea dan pneumonia, ketiga dengan kondisi klinis memburuk yang didominasi oleh badai sitokin dan menyebabkan hiperinflamasi, dan yang keempat dengan kematian atau kesembuhan (Stasi dkk. 2020).

Pandemi COVID-19 yang disebabkan oleh SARS-CoV-2 telah menciptakan krisis kesehatan dan untuk menanggulangi pandemi ini pengobatan yang efektif dan terjangkau masih terus dicari. Meskipun

beberapa vaksin telah dikembangkan dan menunjukkan efek yang bagus untuk mencegah penularan, tapi terapi antivirus terbukti memiliki peranan penting terhadap pasien rawat inap untuk mengurangi resiko perkembangan penyakit menjadi lebih parah dan untuk mempersingkat waktu rawat inap pada pasien COVID-19 (Liao dkk. 2021). Pada tahun 2020, FDA (*Food and Drug Administration*) menyetujui remdesivir sebagai obat pertama untuk pengobatan COVID-19 dan selanjutnya molekul terkait seperti galidesivir, sofosbuvir, dan molnupiravir, juga terbukti efektif. Remdesivir disetujui untuk digunakan pada orang dewasa atau anak-anak berusia 12 tahun atau lebih yang dirawat di rumah sakit untuk perawatan COVID-19 berdasarkan percepatan pemulihan klinis untuk pasien rawat inap dengan penyakit ini. (Kumar Palli dkk. 2022).

Hasil uji klinis terapi remdesivir di Amerika Serikat menunjukkan bahwa pada pasien rawat inap dengan gejala COVID-19 parah menunjukkan perbaikan klinis pada 36 dari 53 pasien (68%) (Grein dkk. 2020). Aktivitas antivirus remdesivir terhadap virus SARS-CoV-2 dilaporkan memiliki nilai EC_{50} 0.77 μ M yang berarti dalam konsentrasi terendah tersebut infeksi virus dapat dicegah (Wang dkk. 2020). Efektifitas remdesivir sebagai terapi antivirus untuk pasien COVID-19 juga memiliki tingkat kemanjuran dalam mengurangi resiko kematian dan meningkatkan peluang pemulihan diperkirakan masing-masing sebesar 31% (95% CI, 1-18%) dan 10% (95% CI, 1-18%) (Liao dkk. 2021). Tetapi obat ini harus diberikan secara intravena sehingga penggunaannya harus dibatasi pada pasien yang membutuhkan rawat inap untuk penyakit yang lebih serius. Remdesivir juga tidak stabil dalam plasma dan memiliki jalur aktivasi kompleks yang dapat mempengaruhi kemanjuran antivirus yang sangat bervariasi dalam sel yang terinfeksi SARS-CoV-2, sehingga pengembangan sintesis derivat remdesivir yang lebih efektif terus ditingkatkan (Schooley dkk. 2021)

Pengembangan sintesis derivat remdesivir terus dilakukan, penelitian yang dilakukan oleh Schooley (2021) mensintesis tiga produk lipofilik dari remdesivir nukleosida monofosfat yaitu HDP-P-RVn, ODE-P-

RVn, dan ODBG-P-RVn, dilaporkan bahwa produk tersebut memiliki aktivitas antiSARS-CoV 2 yang bagus dalam sel Vero E6. Kemudian El-Sayed (2021) mensintesis derivat remdesivir melalui penambahan gugus asil lemak pada gugus OH pada struktur remdesivir melalui reaksi konjugasi, karena pada posisi gugus tersebut tidak terlibat dalam interaksi utama remdesivir sehingga tepat untuk modifikasi guna meningkatkan permeabilitas dan potensi aktivitas antivirus remdesivir. Hasilnya diperoleh sebanyak 12 derivat dari 5 jenis asil lemak yang direaksikan dengan remdesivir. Aktivitas antivirus remdesivir ternyata menunjukkan indeks selektivitas yang tinggi (>588 hingga >833) dibandingkan dengan semua derivat remdesivir yang terkonjugasi oleh asil lemak yang telah disintesis (>109 hingga >208), hal ini dikaitkan dengan hidrolisis yang lemah pada derivat hasil sintesis tersebut karena rantai karbon yang panjang pada struktur sehingga proses hidrolisisnya lebih lama, maka pada penelitian ini akan dilakukan pengembangan dengan mengganti reagen asil lemak menjadi asetil klorida karena rantai karbonnya yang pendek kemudian dilakukan sintesis derivat remdesivir melalui metode asetilasi.

Dalam industri, reaksi asetilasi biasa digunakan pada pembuatan selulosa asetat dan pembuatan aspirin (asam asetil salisilat). Reaksi asetilasi adalah reaksi dengan memasukkan gugus asetil ($\text{CH}_3\text{CO}-$) ke dalam molekul organik seperti ($-\text{OH}$ dan $-\text{NH}_2$). Penelitian sebelumnya oleh Zettyana (2003) berhasil mensintesis senyawa turunan kuarsetin melalui reaksi asetilasi menggunakan pereaksi asetil klorida yang direaksikan dengan kuarsetin, dari reaksi tersebut didapatkan dua senyawa yang sulit dipisahkan yaitu triasetil klorida dan tetraasetil klorida. Asetil klorida (CH_3COCl) memiliki rantai karbon yang pendek, mudah larut, mudah didapatkan dan dapat terlibat reaksi dengan gugus OH pada remdesivir sehingga dari modifikasi ini diharapkan dapat meningkatkan potensi aktivitas antivirus pada derivat remdesivir yang didapatkan. Proses asetilasi ini bertujuan untuk mensubstitusi gugus hidroksil (OH) dari senyawa induk (Remdesivir) dengan gugus asetil ($\text{CH}_3\text{CO}-$) dari asetil klorida sehingga terbentuk derivat remdesivir 2-ethylbutyl (2S)-2-[[[(2R,3S,4R,5R)-5-(4-

aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-cyano-3,4-diacetyloxyoxolan-2-yl]methoxy-phenoxyphosphoryl]amino]propanoate. Reaksi asetilasi merupakan reaksi eksoterm sehingga suhu harus dijaga agar tetap rendah.

Uji aktivitas anticovid-19 dapat dilakukan melalui uji kualitatif untuk melihat perbedaan data elektroferogram senyawa sampel hasil sintesis dengan kontrol negatif dan *wildtype* SARSCOV2 menggunakan *Agilent 2100 Bioanalyzer*. Instrumen *Agilent 2100 Bioanalyzer* digunakan karena memberikan beberapa keuntungan seperti pada analisis fragmen DNA, termasuk persiapan chip, pemisahan, deteksi dan data analisis dapat dilakukan secara efektif. Kit yang dikemas sebelumnya, persiapan sampel standar dan analisis otomatis menghasilkan lebih banyak data yang akurat. Selain itu, bioanalyzer memiliki sensitivitas dan kinerja yang lebih baik meskipun menggunakan jumlah sampel minimum (Vitale 2016).

Berdasarkan masalah yang telah diuraikan maka peneliti tertarik untuk meneliti sintesis derivate remdesivir (RDV-D2) dengan nama IUPAC (2-ethylbutyl (2S)-2-[[[(2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-cyano-3,4-diacetyloxyoxolan-2-yl]methoxy-phenoxyphosphoryl]amino]propanoate) menggunakan metode asetilasi dengan reagen asetil klorida dan menguji efektifitasnya sebagai obat ANTICOVID-19 melalui uji kualitatif menggunakan *Agilent 2100 Bioanalyzer* sehingga dapat memberikan kontribusi terhadap pencarian dan pengembangan terapi obat antivirus yang efektif selama pandemi COVID-19.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu:

1. Bagaimana metode sintesis senyawa derivate remdesivir (RDV-D2) menggunakan reaksi asetilasi?
2. Bagaimana karakterisasi senyawa derivate remdesivir (RDV-D2)?
3. Bagaimana efektifitas derivate remdesivir (RDV-D2) sebagai ANTICOVID-19?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan yang akan dicapai dalam penelitian ini yaitu:

1. Untuk mengetahui metode sintesis senyawa derivat remdesivir (RDV-D2) menggunakan reaksi asetilasi.
2. Untuk mengetahui karakteristik senyawa derivat remdesivir (RDV-D2).
3. Untuk mengetahui efektifitas derivat remdesivir (RDV-D2) sebagai ANTICOVID-19.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini yaitu:

1. Manfaat Praktis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat terhadap efektifitas derivat remdesivir sebagai ANTICOVID-19.

2. Manfaat Ilmiah

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi ilmiah sehingga dapat dijadikan referensi dalam pengembangan obat COVID-19.

E. Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup penelitian ini meliputi sintesis derivat remdesivir menggunakan *starting material* remdesivir yang telah disintesis sebelumnya dan asetil klorida kemudian hasil sintesis yang didapatkan dilakukan karakterisasi senyawa menggunakan melting point, spektrofotometer UV-Vis, FTIR, NMR dan *Melting point analyzer*. Senyawa derivat remdesivir yang telah disintesis dan dikarakterisasi selanjutnya dilakukan uji kualitatif untuk melihat perbedaan data elektroferogram senyawa sampel hasil sintesis dengan data elektroferogram kontrol negatif dan *wildtype* SARSCOV2 menggunakan *Agilent 2100 Bioanalyzer*.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. COVID-19

1. Epidemiologi

Virus merupakan salah satu penyebab penyakit menular yang perlu diwaspadai. Dalam 20 tahun terakhir, beberapa penyakit virus menyebabkan epidemi seperti *severe acute respiratory syndrome coronavirus* (SARS-CoV) pada tahun 2002-2003, influenza H1N1 pada tahun 2009 dan *Middle East Respiratory Syndrome* (MERS-CoV) yang pertama kali teridentifikasi di Saudi Arabia pada tahun 2012 (Erlina Burhan 2020). Pada bulan Desember 2019 tepatnya pada tanggal 29 Desember 2019, ditemukan lima kasus pertama pasien pneumonia di Kota Wuhan Provinsi Hubei, China. Lima orang tersebut dirawat dirumah sakit dengan *acute respiratory distress syndrome* dan satu diantaranya meninggal dunia. Sekitar 66% penderita terpajan di pasar ikan atau pasar makanan laut (*Wet Market*) Huanan di kota Wuhan. Thailand adalah Negara pertama yang terkonfirmasi COVID-19 diluar Negara China pada tanggal 13 Januari 2020. Thailand terkonfirmasi positif COVID-19 sebanyak 3.135 kasus dan 58 kematian sejak tanggal 13 Januari 2020 hingga 15 Juni 2020 (Levani 2021).

Penderita COVID-19 meningkat pesat menjadi 7.734 kasus pada tanggal 30 Januari 2020 dan pada tanggal yang sama terkonfirmasi 90 kasus pasien positif COVID-19 yang berasal dari berbagai Negara baik di benua Asia, Eropa dan Australia. Pada tanggal 30 Januari 2020 pula, WHO membunyikan alarm darurat kesehatan masyarakat yang menjadi perhatian oleh seluruh dunia yaitu *Public Health Emergency of International Concern* (PHEIC). Penyebaran kasus pertama COVID-19 di Indonesia pada tanggal 02 Maret 2020 yang terkonfirmasi sebanyak 2 penderita yang berasal dari Jakarta. Tanggal 15 Juni 2020, sebanyak 38.277 kasus terkonfirmasi positif COVID-19 dan terkonfirmasi meninggal sebanyak 2.134 kasus (Levani 2021).

Hingga 6 april 2022 ini, jumlah kasus infeksi COVID-19 terkonfirmasi mencapai 494 juta kasus. Awalnya kasus terbanyak terdapat di Cina, namun saat ini kasus terbanyak terdapat di Amerika Serikat dengan jumlah 80 juta kasus, diikuti oleh India dengan 43 juta kasus dan Brasil 30 juta kasus. Virus ini telah menyebar hingga ke 199 negara. Kematian akibat virus ini telah mencapai 6 juta kasus. Kematian terbanyak terjadi pada kelompok usia di atas 65 tahun. Kasus di Indonesia juga terus bertambah, hingga tanggal 6 april 2022 telah terdapat 6 juta kasus dengan kematian mencapai 150 ribu jiwa.

Berdasarkan data yang ada umur pasien yang terinfeksi COVID-19 mulai dari usia 30 hari hingga 89 tahun. Menurut laporan 138 kasus di Kota Wuhan, didapatkan rentang usia 37–78 tahun dengan rata-rata 56 tahun (42-68 tahun) tetapi pasien rawat ICU lebih tua (median 66 tahun (57-78 tahun) dibandingkan rawat non-ICU (37-62 tahun) dan 54,3% laki-laki. Laporan 13 pasien terkonfirmasi COVID-19 di luar Kota Wuhan menunjukkan umur lebih muda dengan median 34 tahun (34-48 tahun) dan 77% (Diah Handayani 2020)

2. Virologi

Coronavirus termasuk virus yang menyerang saluran pernapasan. Virus yang berhubungan dengan infeksi pada saluran pernapasan akan menggunakan sel epitel dan mukosa saluran napas sebagai target awal dan menyebabkan infeksi pada saluran pernapasan atau kerusakan organ. Virus corona merupakan virus RNA rantai tunggal dan rantai positif yang masuk keluarga coronaviridae yang dibagi menjadi subfamili menurut serotip dan genotip karakteristik yang meliputi α , β , γ dan δ . Coronavirus pada umumnya menyerang hewan khususnya kelelawar dan unta. Coronavirus mempunyai sampul (enveloped), dengan partikel bulat dan seringkali berbentuk pleomorfik. Dinding coronavirus dilapisi oleh protein S sebagai protein antigenik utama yang dapat berikatan dengan reseptor yang ada di tubuh hostnya (Levani 2021).

Terdapat enam jenis coronavirus yang ditemukan di saluran napas pada manusia yaitu 229E, NL63 dari genus Polyonomum, OC43 dan HPU dari genus beta, *Middle East Respiratory Syndrome-associated Coronavirus* (MERS-CoV), dan *Severe Acute Respiratory Syndrome-associated Coronavirus* (SARS-CoV). Coronavirus jenis baru atau SARS-CoV2 penyebab COVID-19 dapat diklasifikasikan dalam kelompok betacoronavirus yang menyerupai SARS-CoV dan MERS-CoV tetapi tidak sama persis. Coronavirus pada kelelawar merupakan sumber utama yang menyebabkan *Middle East Respiratory Syndrome-associated Coronavirus* (MERS-CoV) dan *Severe Acute Respiratory Syndrome-associated Coronavirus*. Coronavirus sensitif terhadap panas, dengan suhu 56°C selama 30 menit dinding lipid dapat dihancurkan (Levani 2021).

3. Patogenesis dan Patofisiologi

Kebanyakan coronavirus menginfeksi hewan dan bersirkulasi di hewan. Coronavirus menyebabkan sejumlah besar penyakit pada hewan dan kemampuannya menyebabkan penyakit berat pada hewan seperti babi, sapi, kuda, kucing, dan ayam. Coronavirus disebut dengan virus zoonotic yaitu virus yang ditransmisikan dari hewan ke manusia. Banyak hewan liar yang dapat membawa pathogen dan bertindak sebagai vector untuk penyakit menular tertentu. Kelelawar, tikus bamboo, unta dan musang merupakan host yang bisa ditemukan untuk coronavirus (Yuliana 2020).

Patogenesis infeksi COVID-19 belum diketahui seutuhnya. Pada awalnya diketahui virus ini mungkin memiliki kesamaan dengan SARS dan MERS CoV, tetapi dari hasil evaluasi genomik isolasi dari 10 pasien, didapatkan kesamaan mencapai 99% yang menunjukkan suatu virus baru, dan menunjukkan kesamaan (identik 88%) dengan *batderived (SARS) like coronaviruses*, bat-SL-CoVZC45 dan bat-SLCoVZXC21, yang diambil pada tahun 2018 di Zhoushan, Cina bagian Timur, kedekatan dengan SARS-CoV adalah 79% dan lebih jauh lagi dengan MERS-CoV (50%) (Diah Handayani 2020).

Pada kasus COVID-19, trenggiling diduga sebagai perantaranya karena genomnya mirip dengan coronavirus pada kelelawar (90,5%) dan SARS-CoV2 (91%). Coronavirus disease 2019 (COVID-19) atau yang sebelumnya disebut SARS-CoV2. COVID-19 pada manusia menyerang saluran pernapasan khususnya pada sel yang melapisi alveoli. COVID-19 mempunyai glikoprotein pada enveloped spike atau protein S. Untuk dapat menginfeksi “manusia” protein S virus akan berikatan dengan reseptor ACE2 pada plasma membrane sel tubuh manusia. Di dalam sel, virus ini akan menduplikasi materi genetik dan protein yang dibutuhkan dan akan membentuk virion baru di permukaan sel. Sama halnya SARS-CoV setelah masuk ke dalam sel selanjutnya virus ini akan mengeluarkan genom RNA ke dalam sitoplasma dan sel golgi kemudian akan ditranslasikan membentuk dua lipoprotein dan protein struktural untuk dapat bereplikasi (Levani 2021).

Faktor virus dengan respon imun menentukan keparahan dari infeksi COVID-19. Efek sitopatik virus dan kemampuannya dalam mengalahkan respon imun merupakan faktor keparahan infeksi virus. Sistem imun yang tidak kuat dalam merespon infeksi juga menentukan tingkat keparahan, di sisi lain respon imun yang berlebihan juga ikut andil dalam kerusakan jaringan. Saat virus masuk ke dalam sel selanjutnya antigen virus akan dipresentasikan ke *Antigen Presentation Cell* (APC). Presentasi sel ke APC akan merespon sistem imun humoral dan seluler yang dimediasi oleh sel T dan sel B. IgM dan IgG terbentuk dari sistem imun humoral. Pada SARS-CoV, IgM akan hilang pada hari ke 12 dan IgG akan bertahan lebih lama. Virus dapat menghindar dari sistem imun dengan cara menginduksi vesikel membran ganda yang tidak mempunyai *pattern recognition receptors* (PRRs) dan dapat bereplikasi di dalam vesikel tersebut sehingga tidak dapat dikenali oleh sel imun (Levani 2021).

Pasien konfirmasi positif COVID-19 dengan gejala klinis ringan menunjukkan respon imun didapatkan peningkatan sel T terutama CD8 pada hari ke 7-9, selain itu ditemukan T helper folikular dan *Antibody Secreting Cells* (ASCs). Pada hari ke 7 hingga hari ke 20, ditemukan

peningkatan IgM dan IgG secara progresif. Jika dibandingkan dengan kontrol sehat, jumlah monosit CD14+ dan CD16+ mengalami penurunan. Namun pada orang konfirmasi positif COVID-19 dengan tanda dan gejala yang ringan tidak ditemukan peningkatan kemokin dan sitokin proinflamasi. Pada pasien konfirmasi positif COVID-19 dengan gejala klinis berat memberikan hasil profil imunologi yang berbeda dengan klinis ringan. Pada kasus klinis berat ditemukan hitung limfosit yang rendah, serta hasil monosit, basofil, dan eosinofil lebih rendah pada pasien COVID-19 dengan klinis berat. Terdapat pula peningkatan mediator proinflamasi (TNF- α , IL-1, IL-6 dan IL-8) namun pada sel T helper, T supresor dan T regulator mengalami penurunan pada kasus COVID-19 klinis berat. Pasien COVID-19 yang mengalami *Acute Distress Respiratory Syndrome* (ARDS) juga ditemukan sel T CD4 dan CD8 mengalami penurunan, limfosit CD4 dan CD8 mengalami hiperaktivasi. ARDS merupakan salah satu penyebab kematian pada kasus COVID-19 yang diakibatkan oleh peningkatan mediator proinflamasi (badai sitokin) yang tidak terkontrol. Hal itu akan mengakibatkan kerusakan paru terbentuknya jaringan fibrosis sehingga dapat terjadinya kegagalan fungsi (Levani 2021).

4. Manifestasi klinis

Rata-rata masa inkubasi adalah 4 hari dengan rentang waktu 2 sampai 7 hari. Masa inkubasi dengan menggunakan distribusi lognormal yaitu berkisar antara 2,4 sampai 15,5 hari. Periode bergantung pada usia dan status imunitas pasien. Rerata usia pasien adalah 47 tahun dengan rentang umur 35 sampai 58 tahun serta 0,9% adalah pasien yang lebih muda dari umur 15 tahun. Gejala klinis utama yang muncul yaitu demam (suhu >38°C), batuk dan sulit bernapas. Selain itu, dapat disertai dengan sesak memberat, fatigue, myalgia, gejala gastrointestinal seperti diare dan gejala saluran napas lain (Yuliana, 2020). Namun tanda dan gejala yang sering dijumpai adalah demam (83-98%), batuk (76-82%), dan sesak napas atau dyspnea (31-55%) (Levani 2021).

Pasien dengan gejala yang ringan akan sembuh dalam waktu kurang lebih 1 minggu, sementara pasien dengan gejala yang parah akan mengalami gagal napas progresif karena virus telah merusak alveolar dan akan menyebabkan kematian. Kasus kematian terbanyak adalah pasien usia lanjut dengan penyakit bawaan seperti kardiovaskular, hipertensi, diabetes mellitus, dan parkinson. Seperempat pasien yang dirawat di rumah sakit Wuhan memiliki komplikasi serius berupa aritmia, syok, cedera ginjal akut dan acute respiratory distress syndrome (ARDS). Pasien yang menjalani pemeriksaan penunjang CTScan, menunjukkan tanda pneumonia bilateral dengan opasitas bilateral ground glass. Perlu diingat, terdapat kesamaan gejala antara betacoronavirus dengan COVID-19 yaitu batuk, sesak napas, dan opasitas bilateral ground glass pada CT Scan dada (Levani 2021).

5. Faktor resiko

Laki-laki perokok aktif adalah faktor risiko dari infeksi COVID-19. Begitu pula dengan pasien yang sudah ada penyakit bawaan seperti diabetes mellitus, hipertensi, dan penyakit kardiovaskular (perokok, diabetes mellitus, serta hipertensi) terdapat peningkatan pada reseptor ACE2. Pasien lanjut usia yang memiliki komorbiditas seperti penyakit kardiovaskular, hipertensi, penyakit ginjal kronis, dan diabetes mellitus memiliki faktor risiko lebih besar terkena SARS-CoV-2. Pengguna (ARB) *angiotensin receptor blocker* berisiko tinggi terkena COVID-19. Pasien dengan kanker lebih rentan terhadap infeksi daripada orang yang tidak memiliki kanker, karena keadaan immunosupresif sistemik mereka disebabkan kemoterapi dan pembedahan sehingga pasien kanker memiliki risiko tinggi terkena COVID-19 dan prognosinya buruk. Menurut *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), faktor risiko yang paling penting adalah kontak langsung dengan penderita COVID-19 baik itu tinggal serumah, atau memiliki riwayat berpergian ke tempat pandemic dan tenaga medis adalah salah satu risiko paling tinggi tertular SARS-CoV-2 ini (Levani 2021).

6. Tata laksana

Prinsip tatalaksana secara keseluruhan menurut rekomendasi WHO yaitu: Triase: identifikasi pasien segera dan pisahkan pasien dengan *severe acute respiratory infection* (SARI) dan dilakukan dengan memperhatikan prinsip pencegahan dan pengendalian infeksi (PPI) yang sesuai, terapi suportif dan monitor pasien, pengambilan contoh uji untuk diagnosis laboratorium, tata laksana secepatnya pasien dengan hipoksemia atau gagal nafas dan *acute respiratory distress syndrome* (ARDS), syok sepsis dan kondisi kritis lainnya (Diah Handayani 2020). Hingga saat ini, belum ada obat yang spesifik dan vaksin untuk pasien Covid-19. Penanganan yang dapat dilakukan adalah pemberian obat simptomatik, pemasangan oksigenasi, dan menjaga tanda-tanda vital agar tetap normal (Levani 2021).

Salah satu yang harus diperhatikan pada tata laksana adalah pengendalian komorbid. Dari gambaran klinis pasien COVID-19 diketahui komorbid berhubungan dengan morbiditas dan mortalitas. Komorbid yang diketahui berhubungan dengan luaran pasien adalah usia lanjut, hipertensi, diabetes, penyakit kardiovaskular dan penyakit serebrovaskular (Diah Handayani 2020). Salah satu obat yang dianggap mampu menangani COVID-19 adalah Remdesivir (RDV). Remdesivir adalah antivirus spektrum luas yang akhir-akhir ini telah efektif digunakan pada virus RNA seperti SARS-CoV dan MERS. Pada kasus pertama novel *coronavirus disease* 2019 di Amerika Serikat yang memberikan remdesivir untuk penggunaan antivirus pada hari ke 11, mengakibatkan penurunan viral load pada nasofaring dan orofaring, serta kondisi klinis pasien membaik. Remdesivir adalah obat terbaik untuk saat ini (Levani 2021).

B. Sintesis Obat

1. Pengertian Sintesis

Sintesis merupakan reaksi kimia untuk membentuk molekul senyawa, dalam kefarmasian, fokusnya pada senyawa obat, seperti yang kita ketahui ada banyak senyawa kimia, tetapi tidak semuanya adalah obat, ada kriteria tertentu untuk menjadi obat. Obat merupakan senyawa kimia

yang memenuhi persyaratan, yaitu mempunyai aktivitas farmakologi, toksisitas rendah, dan stabil dalam penyimpanan (Pranowo 2009).

Ahli sintesis harus dapat mensintesis obat sesuai dengan target struktur kimia yang diminta, yaitu molekul targetnya. Yang diminta adalah yang telah mendesain dan melakukan studi farmakokimia. Starting material yang diperlukan apa saja, sintesisnya bagaimana (menggunakan metode apa), dan reagen lain apa saja, serta kondisinya bagaimana yang dilakukan oleh ahli sintesis. Terkait dengan starting material, bagaimana cara mendapatkannya dapat menggunakan beberapa metode, salah satunya adalah dengan pendekatan diskoneksi atau sinton (Pranowo 2009).

Diskoneksi adalah pemotongan-pemotongan ikatan kimia molekul target secara berseri sehingga diperoleh material pemula yang mungkin. Diskoneksi disebut juga sintesis mundur atau retro-sintetik. Dalam diskoneksi ada yang disebut dengan sinton dan reagen. Sinton adalah fragmen idealis, biasanya berupa kation/anion yang dihasilkan dari diskoneksi. Sinton bisa merupakan senyawa antara yang sesuai dengan reaksi. Selain itu, sinton pada dasarnya tidak ada di pasaran sehingga harus membentuk reagen yang mana terdapat di pasaran sehingga berikutnya dapat mensintesis senyawa dari reagen yang bisa dibeli di pasaran. Reagen ini yang disebut sebagai material pemula, yaitu senyawa yang digunakan dalam reaksi sintesis sebagai pengganti sinton (Sitorus, M 2020).

Dalam perancangan sintesis senyawa organik terdapat pengetahuan yang diperlukan untuk menunjang keberhasilan sintesis obat, di antaranya (Sitorus, M 2020):

- a. Reaksi-reaksi kimia organik yang reliabel disertai dengan pemahaman mekanisme reaksinya.
- b. Mempunyai pengalaman melaksanakan reaksi kimia organik.
- c. Mengetahui bahan-bahan yang ada di pasaran, sehingga lebih mudah dan lebih cepat dalam melakukan diskoneksi.
- d. Memahami stereokimia

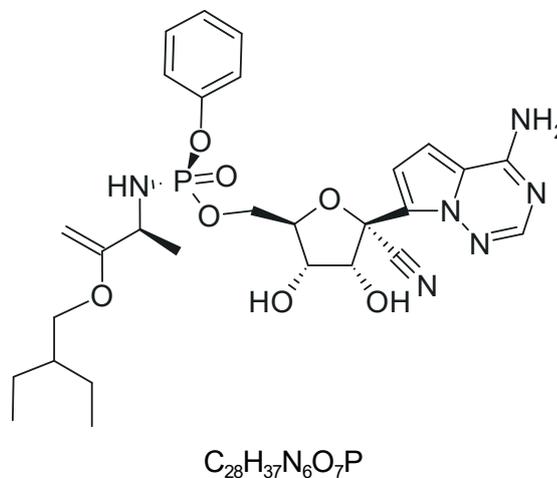
2. Langkah-langkah perancangan sintesis

Dalam perancangan sintesis senyawa terdapat beberapa langkah diantaranya adalah (Sitorus, M 2020):

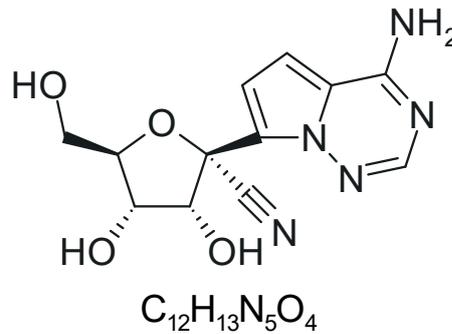
- a. Mencari senyawa penuntun (*lead compound*), yaitu senyawa yang digunakan sebagai pangkal tolak modifikasi molekul. Senyawa penuntun adalah senyawa yang dapat menimbulkan aktivitas biologis, seperti aksi terapeutik, aksi toksik, regulasi fisiologis, hormon, dan feromon, serta senyawa yang terlibat atau berpengaruh terhadap proses biokimia dan patologi pada hewan atau tumbuh-tumbuhan.
- b. Manipulasi molekul (modifikasi molekul atau modifikasi struktur), yaitu mensintesis sejumlah turunan senyawa penuntun, melakukan identifikasi struktur dan menguji aktivitas biologisnya. Gugus atau substituen yang disubsitusikan dapat dipilih dengan menggunakan metode Topliss, metode pencarian Fibonacci, metode Rangkaian optimisasi simpleks atau Analisis kluster. Jumlah senyawa yang disintesis tergantung dari metode yang digunakan.
- c. Merumuskan hubungan kuantitatif sementara antara struktur-aktivitas biologis dari senyawa yang jumlahnya terbatas dengan menggunakan statistik analisis regresi. Pada tahap ini umumnya digunakan model LFER Hansch (model ekstratermodinamik) atau model de novo Free-Wilson. Parameter sifat kimia fisika yang digunakan dalam HKSA model Hansch adalah parameter lipofilik seperti log P, f dan R_m, parameter elektronik, seperti pK_a, π , σ , σ^+ , F, dan R, serta parameter sterik, seperti MR, (P), Es, L, dan B1-B5.
- d. Hasil analisis regresi kemudian dievaluasi dan merancang sejenisnya untuk mengembangkan dan menyempurnakan hubungan tersebut. Peneliti harus sudah yakin bahwa senyawa sejenis yang akan disintesis merupakan pilihan “terbaik” secara hipotesis.
- e. Merancang penggunaan bentuk sediaan obat yang sesuai.
- f. Merancang aturan dosis yang sesuai.
- g. Evaluasi Klinik.

3. Remdesivir

Remdesivir (GS-5734; Gilead Sciences Inc., AS) merupakan analog nukleosida yang bertindak sebagai inhibitor kompetitif RNA yang tergantung pada RNA polimerase (RdRp) virus. Remdesivir merupakan prodrug dengan rumus molekul $C_{27}H_{35}N_6O_8P$ dan massa eksak 602,23 Da. Di dalam tubuh, remdesivir diubah menjadi molekul aktif yang dikenal sebagai GS-441524 dengan rumus molekul $C_{12}H_{13}N_5O_4$. Remdesivir sebelumnya diusulkan untuk pengobatan Ebola dan belum disetujui atau dilisensikan oleh US Food and Drug Administration (FDA) atau otoritas pengatur obat lainnya di seluruh dunia. Aktivitas antivirus remdesivir pada RdRp telah dilaporkan terhadap virus Ebola, MERS-CoV, SARS-CoV, dan coronavirus lain seperti CoV-OC43, CoV-229E, dan PDCoV (Frediansyah dkk. 2021)



Gambar 1. Struktur kimia Remdesivir (GS-5734) (2-ethylbutyl (2S)-2-(((2R, 3S, 4R, 5R)-5-(4-aminopyrrolo(2,1-f)(1,2,4)triazin-7-yl)-5-cyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl) methoxy)(phenoxy) phosphoryl amino) propanoate) (Frediansyah dkk. 2021)

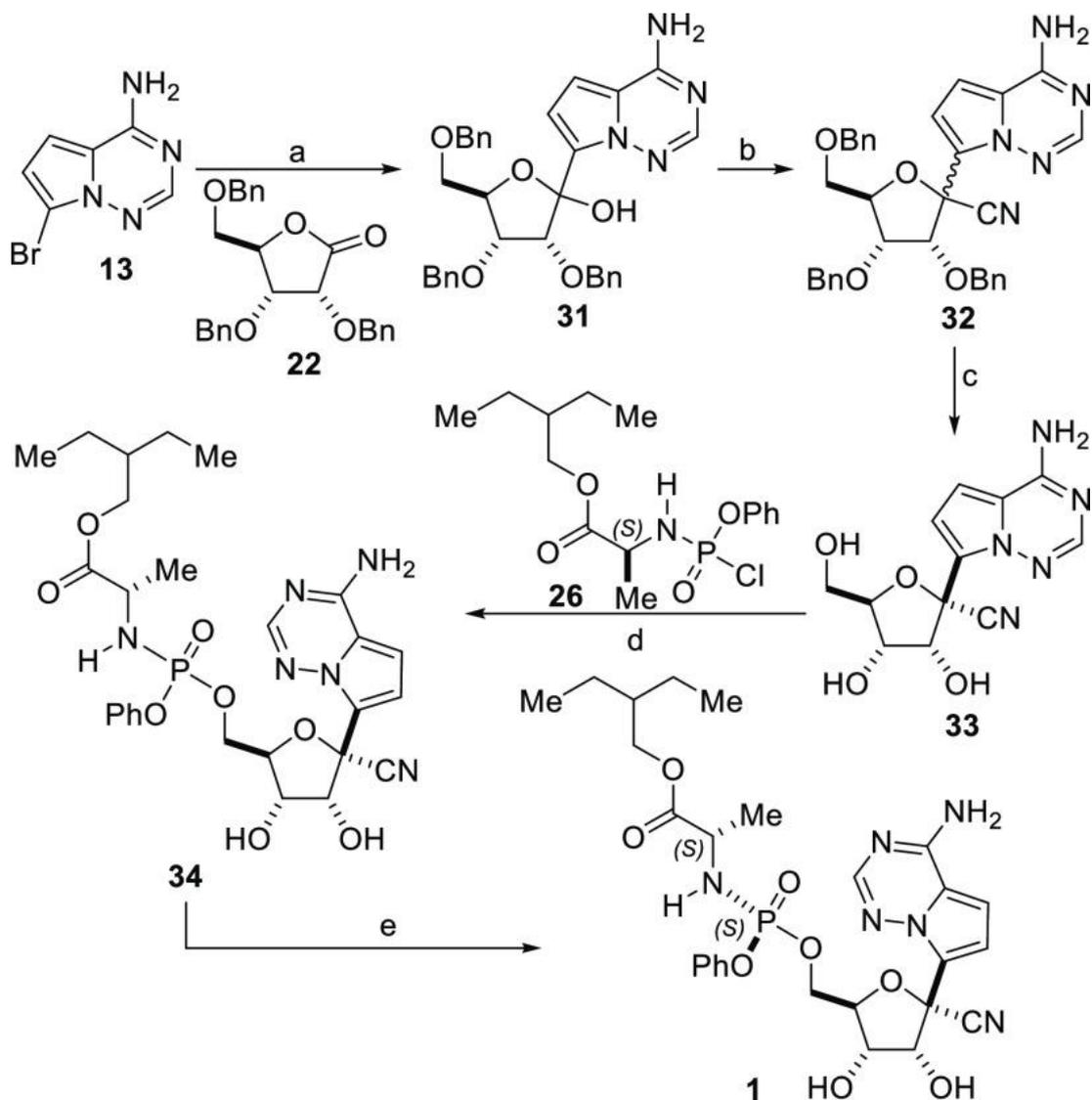


Gambar 2. Struktur kimia Remdesivir nukleosida (GS-441524) ((2R,3R,4S,5R)-2-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3,4-dihydroxy-5-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-2-carbonitrile) (Frediansyah dkk. 2021)

4. Sintesis Remdesivir

Kolaborasi yang sukses antara Gilead yang merupakan pusat pengendalian dan pencegahan penyakit (CDC) AS dan lembaga penelitian medis tentara AS untuk penyakit menular (USAMRIID) menghasilkan formulasi remdesivir (Veklury, GS-5734). Para ilmuwan bermaksud menemukan agen terapeutik untuk mengobati penyakit yang disebabkan oleh virus RNA seperti EBOV dan virus dari keluarga coronaviridae seperti SARS dan MERS. Pada awal penelitian, hampir 1000 berbagai turunan nukleosida dievaluasi berdasarkan informasi sebelumnya tentang senyawa antivirus kuat yang menargetkan virus RNA. Nukleosida dikenal sebagai senyawa permeabel sel maka nukleosida yang dimodifikasi oleh kelompok seperti prodrug monofosfat, ester, dan fosforamidat. Peneliti di Gilead Sciences menemukan bahwa 1'-CN yang memodifikasi adenosin C-nukleosida menunjukkan aktivitas kuat melawan EBOV pada sel Hela dan sel endotel vena umbilikalis manusia (HMVEC). Senyawa efektif ini diberi nama remdesivir (GS-5734) (Zarenezhad dkk. 2021).

Rute sintesis remdesivir digambarkan pada skema berikut.



Gambar 3. Skema alur sintesis remdesivir (Vargas, Larghi, dan Kaufman 2021).

Keterangan: (a) $n\text{-BuLi}$, TMSCl , THF , $-78\text{ }^\circ\text{C}$ (26%) or NaH , $n\text{-BuLi}$, $\text{ClSi}(\text{Me})_2\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{Me})_2\text{SiCl}$, THF , $-78\text{ }^\circ\text{C}$ (60%); (b) TMSCN , TMSOTf , CH_2Cl_2 , $-78\text{ }^\circ\text{C}$, 5 h (65%; $\beta:\alpha = 89:11$); (c) BCl_3 , CH_2Cl_2 , $-78\text{ }^\circ\text{C}$, 1 h (74%); (d) NMI , $(\text{MeO})_3\text{P}=\text{O}$, THF , $0\text{ }^\circ\text{C}$ (21%); (e) chiral HPLC.

Pada reaksi tersebut, senyawa **13** diproteksi dengan N,N-bissililasi sementara untuk perlindungan N-amino. Selanjutnya, logam halogen mengalami pertukaran gugus dalam THF (Tetrahidrofuran) pada suhu $78\text{ }^\circ\text{C}$ dan reaksi dengan senyawa **22** menghasilkan senyawa laktol **31** sebagai campuran anomer. Penggunaan $n\text{-BuLi}$ ($n\text{-Butiltium}$) dan TMSCl ($\text{Trimetilsilil klorida}$) memberikan hasil 25% senyawa **31**. Oleh karena itu, NaH dan $\text{ClSi}(\text{Me})_2\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{Me})_2\text{SiCl}$ digunakan pada tahap proteksi N-

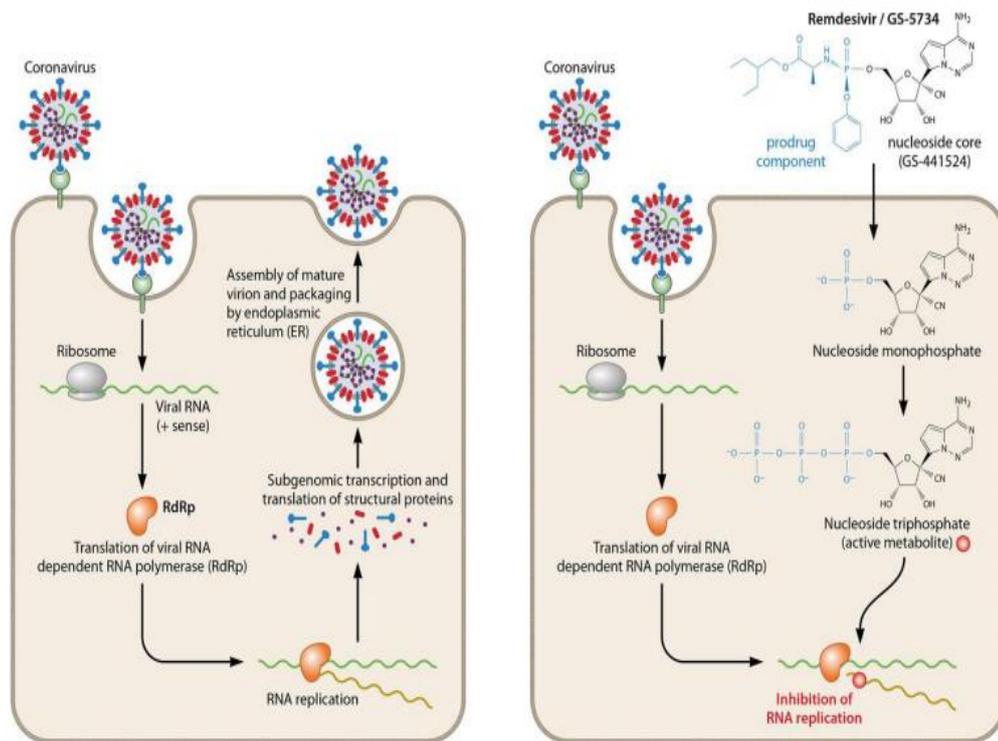
amino dan *n*-BuLi (*n*-Butyllium) melakukan pertukaran logam–halogen. Modifikasi ini berguna untuk meningkatkan efisiensi hasil (hingga 60%). Namun, mengganti NaH dengan pasangan reagen *n*-BuLi/*i*-Pr₂NH menghasilkan senyawa **31** sebanyak 75%, dalam proses skala hectogram (Vargas, Larghi, dan Kaufman 2021).

Senyawa **31** kemudian mengalami reaksi sianasi dimana senyawa TMSOTf (trimetilsilil trifluorometanasulfonat) dan TMSCN (Trimetilsilil sianida) berperan dalam reaksi ini pada suhu 0 °C melalui perantara ion oksokarbenium. Reaksi ini menghasilkan senyawa **32** sebagai campuran anomer (β : α = 57:43, hasil 80%). Rasio β : α = 89:11 diamati ketika reaksi dilakukan selama 5 jam pada suhu -78 °C (hasil 65%). Menggunakan reagen BF₃·Et₂O yang dilaporkan oleh Metobo dkk. dapat memberikan hasil rendemen 58% dari senyawa. Selanjutnya, debenzilasi lengkap yang dimediasi oleh BCl₃ (Borontriklorida) memberikan hasil campuran diastereoisomer nitril sebanyak 74% yang kemudian dipisahkan menggunakan HPLC preparatif untuk mendapatkan senyawa **33** murni. Pada tahap selanjutnya, reaksi kopling dengan fragmen kunci senyawa **26** dengan adanya trimetil fosfat dan *N*-methylimidazole (NMI). Transformasi yang terjadi memberikan hasil senyawa **34** sebanyak 21% dari campuran diastereomer 1:1, terakhir menggunakan HPLC kiral untuk memisahkan campuran dan menghasilkan senyawa Remdesivir (**1**). Secara keseluruhan, urutan sintetisnya langsung tetapi membutuhkan beberapa pemisahan HPLC (termasuk HPLC kiral pada langkah terakhir) (Vargas, Larghi, dan Kaufman 2021).

5. Mekanisme Aksi Remdesivir

Remdesivir adalah prodrug dari nukleosida monofosforamidat dengan metabolisme intraseluler diubah menjadi metabolit nukleosida trifosfat (NTP) aktif. Metabolisme aktif dari remdesivir (remdesivir trifosfat [remdesivir-TP] atau GS-443902) dirancang untuk menargetkan genom RNA untuk replikasi virus. Analog nukleosida adalah senyawa sintetis yang bersaing dengan endogen alami nukleosida untuk replikasi virus RNA. Remdesivir bertindak seperti fisiologis virus, mengikat molekul analog untuk

menghentikan proses molekuler lebih lanjut. Target obat dan proses yang akurat untuk menghambat replikasi virus telah dipelajari secara ekstensif pada virus ebola. Untuk SARS-CoV dan MERS-CoV, remdesivir-TP menghambat polymerase nsp12, yang berperan sebagai sintesis multisubunit RNA kompleks dari protein virus non struktural (nsp) yang diproduksi sebagai produk miosis poli-protein virus. Karena nsp12 ada di semua varian virus corona, mungkin remdesivir tidak memiliki mekanisme aksi yang berbeda ketika digunakan untuk mengobati CoV. Seperti virus Ebola, remdesivir-TP bekerja secara efisien untuk menghambat replikasi SARS-CoV dan MERS-CoV dengan memotong rantai selama replikasi RNA. Analisis biokimia terbaru telah mengungkapkan bahwa remdesivir-TP memulai penghentian sintesis RNA di 3 posisi dalam virus SARS-CoV-2. Mekanisme ini hamper identik dalam RdRps dari SARS-CoV dan MERS-CoV (Manullang, Wiyatami, dan Mahulauw 2021).



Gambar 4. Mekanisme aksi remdesivir menghambat SARS-CoV-2 (Manullang, Wiyatami, dan Mahulauw 2021)

6. Aktivitas Antivirus dari Remdesivir

a. Studi In vitro

Pada tahun 2015, sebuah penelitian menunjukkan bahwa remdesivir adalah inhibitor yang efektif terhadap virus Ebola. Nilai konsentrasi penghambatan (EC_{50}) yang diperoleh bervariasi antara 0,07 dan 0,14 μM dalam sel yang terinfeksi Ebola seperti HeLa, HFF-1, HMVECTERT, dan Huh-7,30. Studi tentang efek penghambatan remdesivir terhadap berbagai virus telah dilakukan menggunakan tujuh keluarga virus, yaitu, *filo-*, *paramyxo-*, *pneumo-*, *bunya-*, *arena-*, *rhabdo-*, dan *flaviviruses* (Frediansyah dkk. 2021).

Penelitian yang dilakukan oleh Sheahan (2017) melaporkan bahwa Remdesivir (GS-5734) merupakan prodrug yang membutuhkan metabolisme oleh sel inang menjadi triphosphate (TP) yang aktif secara farmakologis untuk menghambat replikasi virus. Remdesivir (GS-5734) menghambat replikasi MERS-CoV dalam sel Calu-3-2B4 dengan nilai konsentrasi efektif setengah maksimum (IC_{50}) rata-rata 0,025 μM . Selain itu, Remdesivir (GS-5734) menunjukkan konsentrasi sitotoksik 50% (CC_{50}) melebihi 10 μM (CC_{50}/IC_{50} = indeks terapeutik > 400) dalam sel 2B4. Dengan inkubasi 1 μM Remdesivir (GS-5734), konsentrasi rata-rata intraseluler triphosphate Remdesivir (GS-5734) yang aktif secara farmakologis pada sel Calu-3-2B4 adalah 2,79 μM selama 48 jam pengobatan. Secara keseluruhan, hasil ini menunjukkan penghambatan substansial replikasi CoV akan dicapai pada konsentrasi TP mikromolar rendah di paru-paru (Sheahan dkk. 2017).

Remdesivir juga ditemukan memiliki EC_{50} 0,77 μM terhadap SARS-CoV-2 di Vero Sel E6. Aktivitas remdesivir ini lebih tinggi daripada obat lain yang digunakan dalam penelitian, seperti ribavirin, penciclovir, favipiravir, nafamostat, nitazoxanide, dan chloroquine, yang menunjukkan nilai EC_{50} masing-masing 109,5, 95,96, 61,88, 22,50, 2,12, dan 1,13 μM . Studi lain pada sel Vero E6 juga mengungkapkan bahwa remdesivir menghambat replikasi SARS-CoV-2 dengan nilai EC_{50} 23,15 μM yang menunjukkan aktivitas antivirus terkuat di antara obat yang diuji. Penelitian ini

menunjukkan bahwa remdesivir dapat menghambat replikasi SARSCoV-2 dan berpotensi digunakan dalam pengobatan COVID-19 (Choy dkk. 2020).

b. Studi In vivo

Pada tahun 2016, sebuah studi in vivo dilakukan menggunakan rhesus yang terinfeksi Ebola monyet (*primata non-manusia*) dan berbagai dosis suntikan remdesivir intramuskular. Post-exposure menunjukkan bahwa remdesivir memberikan efek proteksi dengan menghambat replikasi virus. Konsentrasi remdesivir adalah 10 μM dalam darah tepi sel mononuklear setelah pemberian 10 mg/kg remdesivir (Warren dkk. 2016). Sebuah penelitian pada monyet hijau Afrika yang terinfeksi virus Nipah yaitu virus patogen dari keluarga Paramyxoviridae yang menular dari reservoir alaminya, *Pteropus spp.* Pemberian Remdesivir secara intravena sekali sehari dimulai 24 jam kemudian dilanjutkan selama 12 hari menunjukkan efek pernapasan ringan pada setengah dari monyet yang diobati dengan remdesivir ($n = 4$) sedangkan kelompok kontrol ditemukan penyakit pernapasan semakin parah, hal ini menunjukkan bahwa remdesivir efektif terhadap pengobatan virus Nipah (Lo dkk. 2019).

Remdesivir juga telah terbukti memiliki aktivitas antivirus terhadap virus corona. Pengobatan remdesivir ditemukan untuk mengurangi viral load dan patologi paru yang parah pada tikus yang terinfeksi MERS-CoV *Ces1c-/- hDPP4* dan secara fenotip terkait dengan peningkatan fungsi paru dan penurunan kemungkinan perkembangan cedera paru-paru akut pada hewan yang terinfeksi (Sheahan dkk. 2020). Selain itu, remdesivir dapat menghambat replikasi MERS-CoV di organ paru-paru kera rhesus, pengobatan profilaksis remdesivir yang dimulai 24 jam sebelum inokulasi sepenuhnya mencegah penyakit klinis akibat MERS-CoV dan menghambat replikasi MERS-CoV di jaringan pernapasan, serta mencegah pembentukan lesi paru-paru (de Wit dkk. 2020).

c. Uji klinis pasien COVID-19

Secara historis, remdesivir diuji untuk mengobati pasien dengan Ebola menggunakan uji klinis acak di Republik Demokratik Kongo pada tahun 2018. Pada tahun 2020, remdesivir dimasukkan dalam uji klinis

internasional “Solidarity” yang dilakukan oleh WHO dalam upaya untuk menemukan pengobatan yang efektif terhadap COVID-19. Pasien dengan COVID-19 telah diobati dengan remdesivir dalam protokol darurat (Frediansyah dkk. 2021). Beberapa negara yang menyetujui penggunaan remdesivir sebagai terapi COVID-19 menurut laporan (Chander 2020) diantaranya adalah Jepang, UK, Korea Selatan, Taiwan, India, Singapura, Unieropa, Australia, dan di Indonesia sendiri juga masih menggunakan remdesivir sebagai terapi ANTICOVID-19.

Pada pasien pertama COVID-19 yang diobati dengan remdesivir merupakan seorang pria berusia 35 tahun dari Washington, dimana spesimen pernapasan awal (swab nasofaring dan orofaringeal) yang diperoleh dari pasien ini pada hari ke-4 penyakitnya ternyata positif 2019-nCoV. Nilai ambang siklus rendah (Ct) (18 hingga 20 pada spesimen nasofaring dan 21 hingga 22 pada spesimen orofaringeal) pada hari ke-4, menunjukkan tingkat virus yang tinggi pada spesimen ini, meskipun pasien menunjukkan gejala awal yang ringan. Kedua spesimen saluran pernapasan atas yang diperoleh pada hari ke-7 tetap positif 2019-nCoV. Spesimen nasofaring dan orofaring yang diperoleh pada hari ke-11 dan ke-12 menunjukkan kecenderungan penurunan kadar virus. Spesimen orofaringeal diuji negatif 2019-nCoV pada hari ke-12 (Holshue dkk. 2020).

Penelitian yang lebih besar menemukan bahwa, dari 61 pasien yang menerima setidaknya satu dosis remdesivir, data dari 8 tidak dapat dianalisis (termasuk 7 pasien tanpa data pasca perawatan dan 1 dengan kesalahan dosis). Pemberian remdesivir dilakukan secara intravena dengan dosis 200 mg/hari kemudian dilanjutkan 100 mg/hari selama masa pengobatan 10 hari. Pada awalnya, 30 pasien (57%) menerima ventilasi mekanis dan 4 (8%) menerima oksigenasi membran ekstrakorporeal. Tindak lanjut selama 18 hari menunjukkan 36 pasien (68%) mengalami peningkatan kelas dukungan oksigen, termasuk 17 dari 30 pasien (57%) yang menerima ventilasi mekanik yang diekstubasi. Kemudian, sebanyak 25 pasien (47%) dipulangkan, dan 7 pasien (13%) meninggal, kematian 18% (6 dari 34) di antara pasien yang menerima ventilasi invasif dan 5% (1

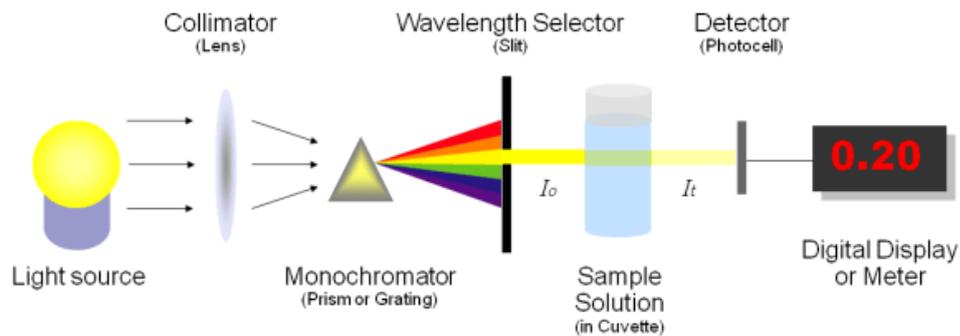
dari 19) di antara mereka tidak menerima ventilasi invasif. Perbaikan klinis diamati pada 36 dari 53 pasien (68%). Pengukuran kemanjuran akan membutuhkan uji coba terapi remdesivir secara acak dan terkontrol placebo (Grein dkk. 2020).

Farmakokinetik remdesivir dan metabolit aktifnya di saluran pernapasan dan/atau organ lain yang terinfeksi tetap ada. Sebagian besar tidak diketahui pada pasien dengan COVID-19. Profil farmakokinetik remdesivir, khususnya konsentrasi metabolit aktif GS-441524 di saluran pernapasan atau jaringan lain yang terinfeksi pada pasien dengan COVID-19 yang parah tidak diketahui. Selain itu, data remdesivir yang tersedia saat ini masih kurang, khususnya dalam obat-obat seperti obat-gen, dan obat penyakit interaksi (Frediansyah dkk. 2021).

C. Karakterisasi Menggunakan Instrumen Spektroskopi

1. Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis adalah pengukuran panjang gelombang dan intensitas sinar ultraviolet dan cahaya tampak yang diabsorpsi oleh sampel. Sinar ultraviolet dan cahaya tampak memiliki energi yang cukup untuk mempromosikan elektron pada kulit terluar ke tingkat energi yang lebih tinggi. Spektroskopi UV-Vis biasanya digunakan untuk molekul dan ion anorganik atau kompleks di dalam larutan. Spektrum UV-Vis mempunyai bentuk yang lebar dan hanya sedikit informasi tentang struktur yang bisa didapatkan dari spektrum ini. Tetapi spektrum ini sangat berguna untuk pengukuran secara kuantitatif. Konsentrasi dari analit didalam larutan bisa ditentukan dengan mengukur absorban pada panjang gelombang tertentu dengan menggunakan hukum Lambert-Beer. Ketika suatu atom atau molekul menyerap cahaya maka energi tersebut akan menyebabkan tereksitasinya elektron pada kulit terluar ke tingkat energi yang lebih tinggi. Tipe eksitasi tergantung pada panjang gelombang cahaya yang diserap. Sinar ultraviolet dan sinar tampak akan menyebabkan elektron tereksitasi ke orbital yang lebih tinggi. Sistem yang bertanggung jawab terhadap absorpsi cahaya disebut dengan kromofor (Dachriyanus 2017).



Gambar 5. Skema alat Spektrofotometer UV-Vis (Dachriyanus 2017).

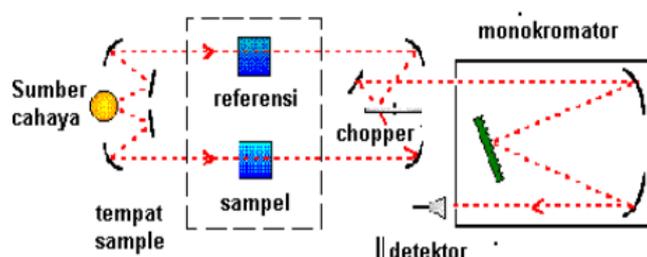
Kegunaan spektrofotometri UV-VIS secara kualitatif adalah untuk menentukan adanya ikatan tidak jenuh atau lazim disebut dengan gugus kromofor sedangkan secara kuantitatif, spektrofotometri UV-VIS kegunaannya untuk menentukan konsentrasi senyawa (Sastrohamidjojo 2019).

2. Spektrofotometer IR

Cahaya tampak terdiri dari beberapa range frekuensi elektromagnetik yang berbeda dimana setiap frekuensi bisa dilihat sebagai warna yang berbeda. Radiasi inframerah juga mengandung beberapa range frekuensi tetapi tidak dapat dilihat oleh mata. Pengukuran pada spektrum inframerah dilakukan pada daerah cahaya inframerah tengah (mid-infrared) yaitu pada panjang gelombang 2.5 - 50 μm atau bilangan gelombang 4000 - 200 cm^{-1} . Energi yang dihasilkan oleh radiasi ini akan menyebabkan vibrasi atau getaran pada molekul. Pita absorpsi inframerah sangat khas dan spesifik untuk setiap tipe ikatan kimia atau gugus fungsi. Metode ini sangat berguna untuk mengidentifikasi senyawa organik dan organometalik (Dachriyanus 2017).

Sebagai sumber cahaya yang umum digunakan adalah lampu tungsten, Narnst glowers, atau glowbars. Dispersi spektrofotometer inframerah menggunakan monokromator, yang berfungsi untuk menyeleksi panjang gelombang. Jika suatu frekuensi tertentu dari radiasi inframerah dilewatkan pada sampel suatu senyawa organik maka akan terjadi penyerapan frekuensi oleh senyawa tersebut. Detektor yang ditempatkan

pada sisi lain dari senyawa akan mendeteksi frekuensi yang dilewatkan pada sampel yang tidak diserap oleh senyawa. Banyaknya frekuensi yang melewati senyawa (yang tidak diserap) akan diukur sebagai persen transmittan. Persen transmittan 100 berarti tidak ada frekuensi IR yang diserap oleh senyawa. Pada kenyataannya, hal ini tidak pernah terjadi. Selalu ada sedikit dari frekuensi ini yang diserap dan memberikan suatu transmittan sebanyak 95%. Transmittan 5% berarti bahwa hampir seluruh frekuensi yang dilewatkan diserap oleh senyawa. Serapan yang sangat tinggi ini akan memberikan informasi penting tentang ikatan dalam senyawa ini (Dachriyanus 2017).



Gambar 6. Skema alat Spektrofotometer IR (Dachriyanus 2017).

Beberapa frekuensi gugus inframerah sebagai berikut (Underwood 2002).

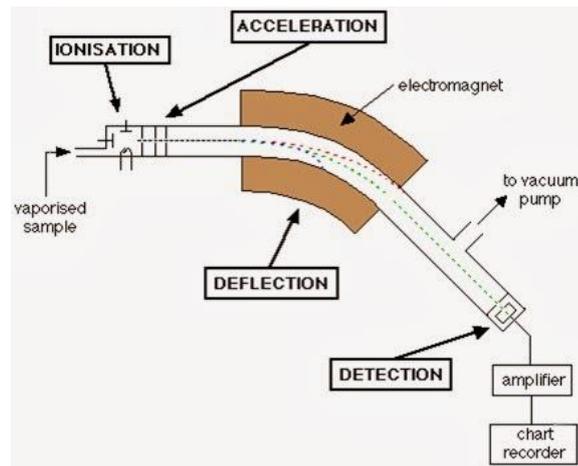
Gugus	Frekuensi, cm^{-1}	Panjang Gelombang μm
OH		
Alkohol	2400-3400	2,74-2,79
Ikatan-H	3210-3550	2,82-3,12
Asam	2500-2700	3,70-4,00
NH Amina	3300-3700	2,70-3,03
CH		
Alkana	2850-2960	3,37-3,50
Alkena	3010-3095	3,23-3,32
Alkuna	3300	3,03
Aromatik	~3030	~3,30
$\text{C}\equiv\text{C}$ alkuna	2140-2260	4,42-4,76

C=C		
Alkena	1620-1680	5,95-6,16
Aromatik	~1600	~6,25
C=O		
Aldehida	1720-1740	5,75-5,81
Keton	1675-1725	5,79-5,97
Asam	1700-1725	5,79-5,87
Ester	1720-1750	5,71-5,86
C≡N Nitril	2000-2300	4,35-5,00
NO ₂ Nitro	1500-1650	6,06-6,67

3. Spektrometer Massa

Jika suatu benda yang bergerak lurus diberi tenaga dari luar, maka gerakannya tidak akan lurus lagi seperti biasanya karena akan terjadi defleksi atau perubahan arah. Besarnya perubahan arah ini tergantung dari massa benda yang bergerak itu. Jika kita mengetahui besar benda yang bergerak, kecepatannya, dan jumlah tenaga luar yang diberikan; maka kita bisa menghitung massa benda tersebut. Makin besar perubahan arah gerak, makin ringan benda tersebut. Prinsip ini bisa diaplikasikan dalam menentukan massa suatu molekul (Dachriyanus 2017).

Gerakan suatu atom atau molekul bisa didefleksikan oleh medan magnet. Agar bisa dipengaruhi oleh medan magnet maka atom atau molekul ini harus diubah menjadi bentuk ion. Partikel yang bermuatan dapat dipengaruhi oleh medan magnet sedangkan yang tidak bermuatan tidak dipengaruhi. Spektrometer massa bekerja melalui 4 tahap yaitu ionisasi, akselerasi, defleksi, dan deteksi (Dachriyanus 2017).



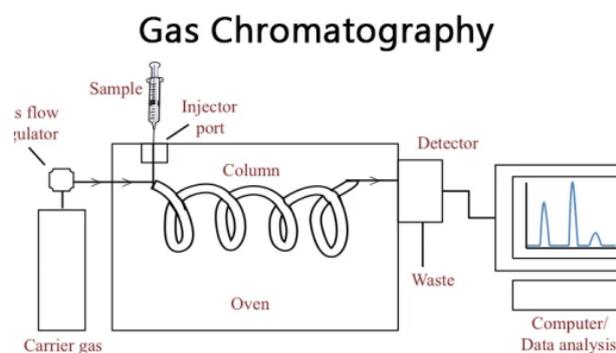
Gambar 7. Skema alat Spektroskopi massa (Dachriyanus 2017).

Instrumen yang menggabungkan Teknik kromatografi gas dan spektrofotometri massa dikenal dengan *Gas Chromatography Mass Spectrometry* (GC-MS). Penggunaan Kromatografi gas dilakukan untuk mencari senyawa yang mudah menguap pada kondisi vakum tinggi dan tekanan rendah jika dipanaskan. Sedangkan spektrometri massa untuk menentukan bobot molekul, rumus molekul, dan menghasilkan molekul bermuatan (Darmapatni 2016).

Gas chromatography (GC) adalah metode pemisahan yang digunakan untuk menganalisis senyawa yang mudah menguap atau senyawa yang mudah diuapkan. Senyawa yang mudah terdegradasi oleh panas tidak dapat dianalisis dengan metode ini. Mass Spectrometer (MS) adalah suatu metode analisis instrumental yang dipakai untuk identifikasi dan penentuan struktur dari komponen sampel dengan cara menunjukkan massa relatif dari molekul komponen dan massa relatif hasil pecahannya (Khopkar 1990).

Gas Chromatography-Mass Spectrometer merupakan gabungan metode analisis antara GC dan MS. Dalam hal ini GC hanya berfungsi sebagai sarana pemisah tanpa dilengkapi dengan detektor sebagaimana GC pada umumnya, tetapi yang berfungsi sebagai detektornya adalah MS. Kemampuan dan aturan pemisahannya akan mengikuti aturan pada GC, demikian pula aturan fragmentasi dan pola spektrum massa akan mengikuti aturan MS. Dengan adanya gabungan kedua metode tersebut akan

memberikan keuntungan yang lebih baik karena senyawa yang telah terpisahkan oleh GC dapat langsung dideteksi oleh MS. Detektor MS untuk kromatografi gas mempunyai beberapa keuntungan, antara lain yaitu penggunaan senyawa yang telah diketahui isotopnya sebagai standar meningkatkan ketelitian analisis serta pada resolusi tinggi dapat menentukan komposisi dasar dari senyawa yang dianalisis. Dengan adanya penggabungan kedua alat tersebut, maka GC-MS mampu memisahkan komponen-komponen dalam suatu analit sekaligus menentukan jenis komponen tersebut melalui spektrum massanya (Khopkar 1990).



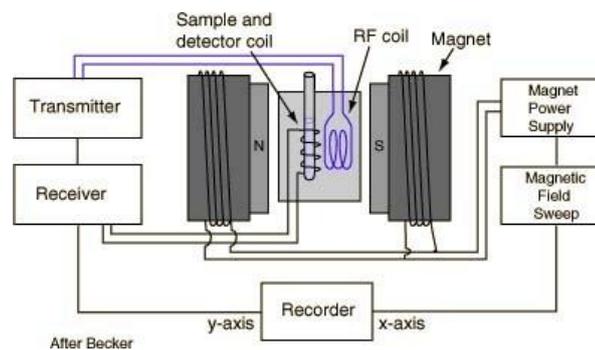
Gambar 8. Skema alat GC-MS

Prinsip kerja GC-MS adalah sampel yang berupa cairan diinjeksikan ke dalam injektor kemudian diuapkan. Sampel yang berbentuk uap dibawa oleh gas pembawa menuju kolom untuk proses pemisahan. Setelah terpisah, masing-masing komponen akan melalui ruang pengion dan dibombardir oleh elektron sehingga terjadi ionisasi. Fragmen-fragmen ion yang dihasilkan akan ditangkap oleh detektor dan dihasilkan spektrum massa (Khopkar 1990).

4. Spektrofotometer NMR

Spektrofotometer resonansi magnetic inti (*Nuclear Magnetic Resonance*) yang seterusnya disingkat sebagai NMR merupakan instrument yang sangat penting untuk memperoleh informasi senyawa kimia. Gambaran hasil spektroskopi NMR sangat penting dalam pemantauan senyawa kimia, baik struktur senyawa dari bahan alam yang belumdiketahui, konformasi hormone peptide, maupun polimer dinamis

internal. NMR juga dapat menyelesaikan dan memecahkan masalah atau informasi yang sebelumnya sulit untuk diperoleh (Umar, AJ 2014).



Gambar 9. Skema alat spektrofotometer NMR

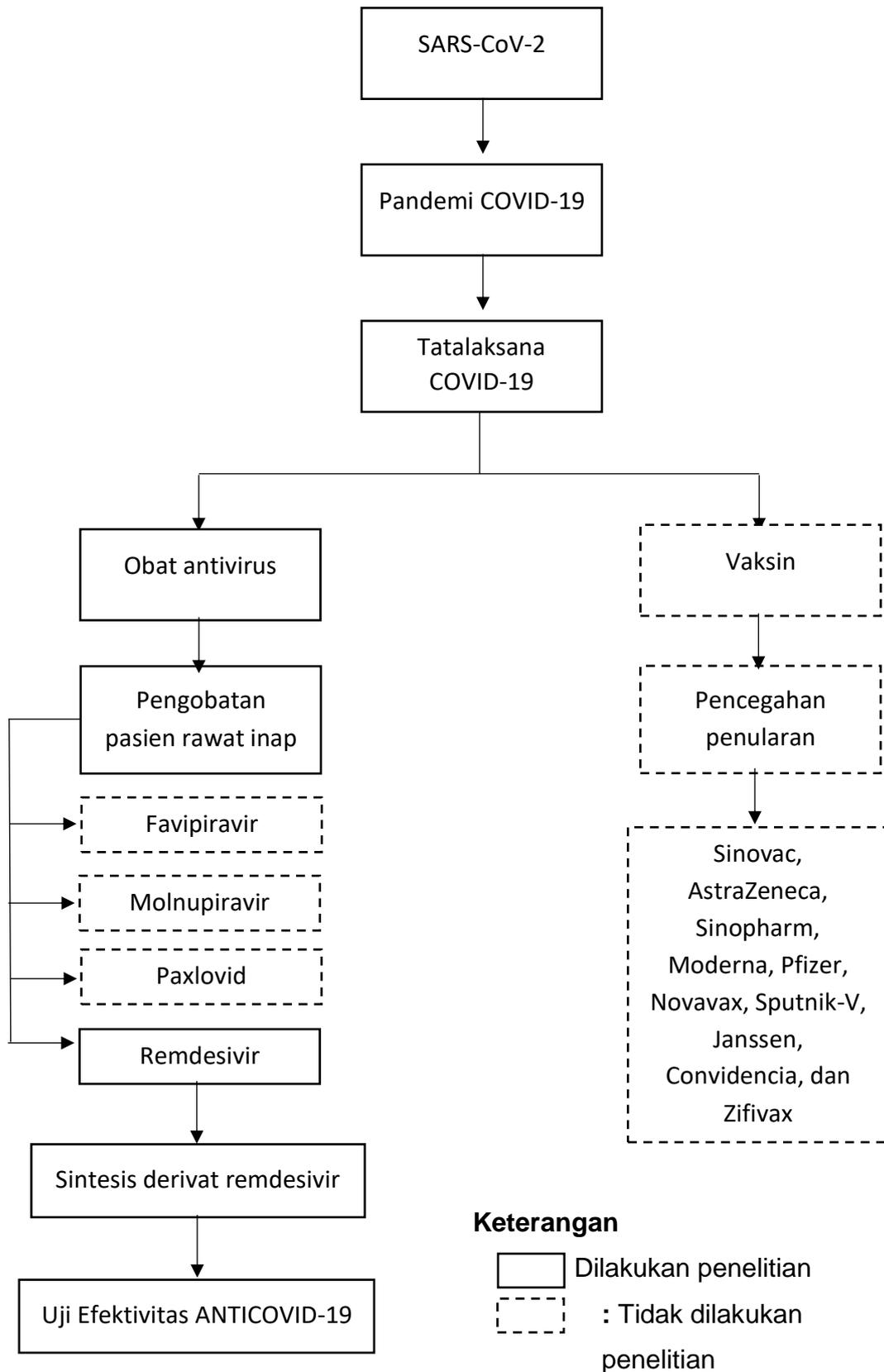
a. H-NMR

Inti atom-atom tertentu akan mempunyai spin, yang berputar dan menghasilkan momen magnetik sepanjang aksis spin. Jika inti yang berputar ini diletakkan di dalam medan magnet, maka sesuai dengan kalkulasi kuantum mekanik, momen magnetiknya akan searah (paralel; mempunyai energi yang rendah) atau berlawanan arah (antiparalel, mempunyai energi yang tinggi) dengan arah medan magnet yang diberikan. Jika sejumlah energi diberikan kepada inti yang berada dalam medan magnet tersebut, maka inti yang berada pada keadaan paralel akan berubah arahnya menjadi antiparalel (beresonansi) (Dachriyanus 2017).

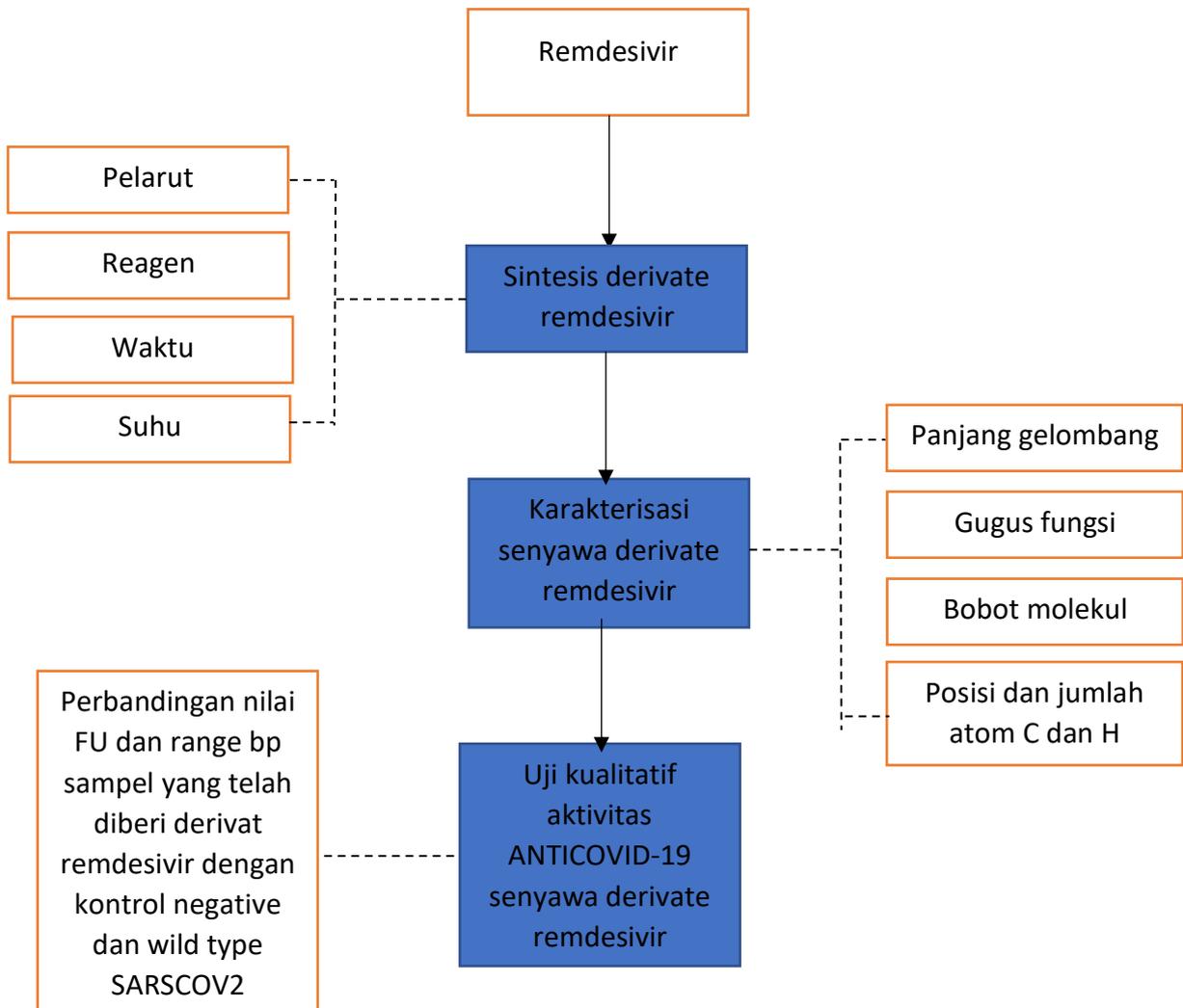
b. C-NMR

Seperti diketahui bahwa spektroskopi NMR tidak hanya terbatas terhadap inti hidrogen. Setiap inti yang memiliki jumlah proton dan atau neutron yang ganjil bisa diukur dengan spektroskopi NMR. Nukleus yang biasa dipakai adalah karbon. Karena karbon memiliki nomor proton yang genap maka yang digunakan adalah isotopnya, yaitu karbon-13. Pada spektrum ^1H NMR, sinyal yang dilihat berasal dari hidrogen yang hadir pada karbon tertentu dan pola spin kopling tergantung pada atom hidrogen yang terletak pada karbon tetangga (H-C-C-H). Pada spektrum NMR karbon, sinyal karbon dapat dilihat secara langsung (Dachriyanus 2017).

D. Kerangka Teori



E. Kerangka Konseptual



Keterangan

■ : Variabel terikat

□ : Variabel bebas

→ : Alur penelitian

----- : Arah pengaruh

F. Definisi Operasional

1. Sintesis kimia: kegiatan melakukan reaksi kimia untuk memperoleh suatu produk kimia, ataupun beberapa produk.
2. Virus: organisme yang berukuran sangat kecil dan memiliki molekul asam nukleat, DNA atau RNA yang terbungkus dalam lapisan pelindung protein (kapsid).
3. COVID-19: nama yang diberikan WHO untuk menjelaskan penyakit yang disebabkan oleh virus korona baru
4. SARS-CoV-2: virus korona yang mengakibatkan infeksi pernapasan COVID-19.
5. Remdesivir: obat antivirus yang sedang diteliti dan dianggap memiliki potensi untuk mengatasi infeksi virus Corona atau COVID-19 dan merupakan antivirus yang memiliki spektrum luas untuk mengatasi Ebola, MERS, dan SARS.
6. Derivat remdesivir: senyawa turunan yang berasal dari senyawa remdesivir yang telah mengalami modifikasi gugus.
7. Asetilasi : Reaksi Kimia yang melibatkan proses substitusi gugus asetil ke senyawa kimia lain.
8. Antivirus atau antiviral: obat yang secara khusus digunakan untuk mengatasi penyakit yang disebabkan oleh infeksi virus.
9. Anticovid-19: obat yang secara khusus digunakan untuk mengatasi penyakit yang disebabkan oleh infeksi virus SARS-CoV-2.