

**KAJIAN PUSTAKA EFEKTIVITAS METODE
PENGUJIAN SECARA IN VITRO PADA REMDESIVIR
DALAM MENGHAMBAT REPLIKASI VIRUS SARS-
CoV-2 UNTUK TERAPI COVID-19**



MARIA FLAVIANA HERDA
2443018238

PROGRAM STUDI S1
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA SURABAYA
2022

**KAJIAN PUSTAKA EFEKTIVITAS METODE PENGUJIAN
SECARA IN VITRO PADA REMDESIVIR DALAM
MENGHAMBAT REPLIKASI VIRUS SARS-CoV-2 UNTUK TERAPI
COVID-19**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi sebagian persyaratan
memperoleh gelar Sarjana Farmasi Program Studi Strata 1
di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya

OLEH :

MARIA FLAVIANA HERDA

2443018238

Telah disetujui pada tanggal 06 Desember 2022 dan dinyatakan LULUS

Pembimbing I,



Dr. F. V. Lanny Hartanti, S.Si., M.Si
NIK. 241.00.0437

Pembimbing II,


28 NOV 2022

Yudy Tjahjono, B.Sc., M.Sc., Biol.
NIK. 241.15.0835

Mengetahui,

Ketua Penguji



(apt. Diga Albrian Setiadi S.Farm., M.Farm)
NIK. 241.18.0995

**LEMBAR PERSETUJUAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH**

Demi perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui skripsi/karya ilmiah saya dengan judul: **Kajian Pustaka Efektivitas Metode Pengujian secara In Vitro pada Remdesivir dalam Menghambat Replikasi virus SARS-CoV-2 untuk Terapi COVID-19** untuk dipublikasikan atau ditampilkan di internet atau media lain yaitu *Digital Library* Perpustakaan Unika Widya Mandala Surabaya untuk kepentingan akademik sebatas sesuai dengan Undang-Undang Hak Cipta.

Demikian pernyataan publikasi karya ilmiah ini saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 06 Desember 2022



Maria Flaviana Herda
2443018238

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa tugas akhir ini adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri. Apabila di kemudian hari diketahui bahwa skripsi ini merupakan hasil plagiarisme, maka saya bersedia menerima sangsi berupa pembatalan kelulusan dan atau pencabutan gelar yang saya peroleh.

Surabaya, 06 Desember 2022



Maria Flaviana Herda
2443018238

ABSTRAK

KAJIAN PUSTAKA EFEKTIVITAS METODE PENGUJIAN SECARA IN VITRO PADA REMDESIVIR DALAM MENGHAMBAT REPLIKASI VIRUS SARS-CoV-2 UNTUK TERAPI COVID-19

**MARIA FLAVIANA HERDA
2443018238**

COVID-19 adalah infeksi saluran pernapasan yang disebabkan oleh virus SARS-CoV-2 dengan tingkat penularannya lebih tinggi sehingga sangat dibutuhkan identifikasi antivirus yang efektif untuk mengobati pasien yang terinfeksi. Berdasarkan Pedoman Tatalaksana COVID-19 Edisi 4, antivirus yang efektif digunakan untuk terapi COVID-19 yaitu remdesivir dengan bentuk aktifnya (trifosfat) dapat bertindak sebagai analog nukleosida dalam menghambat *RNA-dependent-RNA-polymerase* (RdRp) dari coronavirus termasuk SARS-CoV-2. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui macam-macam metode pengujian *in vitro* yang dapat dijadikan standar atau efektif dalam pengujian remdesivir sebagai terapi COVID-19. Proses pencarian literatur dilakukan menggunakan *search engine Google Scholar, Pubmed* dan *Science Direct*. Hasil data pencarian di skrining untuk mengeliminasi duplikasi data serta disesuaikan dengan kriteria inklusi-eksklusi lalu setelah itu dilakukan studi eligibilitas. Hasil penerimaan data literatur berdasarkan studi eligibilitas pada *database* diperoleh 8 artikel yang sesuai dengan kriteria yang ditetapkan. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pengujian *in vitro* yang dapat dijadikan standar dalam evaluasi antivirus remdesivir untuk terapi COVID-19 yaitu uji *Gluccia Luciferase* dan uji TR-FRET NP karena memiliki sensitivitas yang tinggi terhadap respon antivirus yang dapat dilihat dari nilai EC₅₀/IC₅₀ remdesivir yang dihasilkan semakin rendah dan kedua pengujian tersebut juga memenuhi kriteria yang diperlukan dalam pengujian *High-throughput screening* (HTS).

Kata kunci: sars-cov-2, remdesivir, *in vitro method, replicon, high-throughput*

ABSTRACT

LITERATURE STUDY OF THE EFFECTIVENESS OF IN VITRO TESTING METHODS ON REMDESIVIR IN INHIBITING REPLICATION OF THE SARS-CoV-2 VIRUS FOR THERAPY OF COVID-19

**MARIA FLAVIANA HERDA
2443018238**

COVID-19 is a respiratory infection caused by the SARS-CoV-2 virus with a higher transmission rate, so identification of an effective antiviral is urgently needed to treat infected patients. Based on the Guidelines for the Management of COVID-19 Edition 4, an effective antiviral used for the treatment of COVID-19, namely remdesivir with its active form (triphosphate) can act as a nucleoside analogue in inhibiting *RNA-dependent-RNA-polymerase* (RdRp) of coronaviruses including SARS-CoV-2. The purpose of this study was to find out various in vitro testing methods that can be used as standards or are effective in testing remdesivir as a COVID-19 therapy. The literature search process was carried out using search engine Google Scholar, Pubmed and Science Direct. The results of the search data were screened to eliminate data duplication and adjusted according to the inclusion-exclusion criteria and then an eligibility study was carried out. The results of acceptance of literature data based on eligibility studies on database 8 articles were obtained that match the specified criteria. The results of this study show that in vitro tests that can be used as a standard in evaluating remdesivir antivirals for COVID-19 therapy are the Gluccia Luciferase test and the TR-FRET NP test because they have a high sensitivity to antiviral responses which can be seen from the lower the EC₅₀/IC₅₀ value of remdesivir produced and both tests also meet the criteria required in the High-throughput screening (HTS) test.

Keywords: sars-cov-2, remdesivir, in vitro method, replicon, high-throughput

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa karena telah memberikan rahmat dan karuniaNya, sehingga skripsi dengan judul **“Kajian Pustaka Efektivitas Metode Pengujian secara In Vitro pada Remdesivir dalam Menghambat Replikasi Virus SARS-CoV-2 untuk Terapi COVID-19”** dapat terselesaikan. Penyusunan skripsi ini dimaksudkan untuk memenuhi persyaratan memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya. Penulis mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak yang telah membantu selama proses pembuatan naskah skripsi ini:

1. Tuhan Yesus Kristus dan Bunda Maria yang telah memberikan berkat, rahmat dan kekuatan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
2. Dr. F. H. Lanny Hartanti selaku Dosen Pembimbing I dan Yudy Tjahjono, B.Sc., M.Sc.Biol. selaku Dosen Pembimbing II yang telah meluangkan waktu dan tenaga untuk memberikan bimbingan dengan sabar, nasehat, dukungan serta bantuan dalam penyusunan skripsi ini.
3. apt. Diga Albrian Setiadi, S.Farm., M.Farm dan Dr. Hendy Wijaya, M.Biomed selaku Dosen Penguji yang telah memberikan kritik dan masukkan untuk perbaikan mulai dari proposal hingga skripsi.
4. apt. Diana S.Farm., M.Si. selaku Penasehat Akademik yang telah membimbing, mendukung dan memberikan motivasi selama proses perkuliahan.

5. Rektor Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya apt. Drs. Kuncoro Foe, G.Dip.Sc., Ph.D., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya apt. Sumi Wijaya S.Si., Ph.D dan Kaprodi S1 Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya apt. Diga Albrian Setiadi, S.Farm., M.Farm yang telah menyediakan sarana dan prasarana serta pelayanan yang baik selama penggerjaan skripsi.
6. Seluruh dosen Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya yang telah memberikan dan menjelaskan ilmu kefarmasian selama proses perkuliahan berlangsung.
7. Kedua orang tua, keluarga dan teman seperjuangan (Wulan Medan, Grace Nali, Indri Ruben dan Jesika) selama perkuliahan di Fakultas Farmasi yang selalu mendoakan, membantu, dan memberikan dukungan atau semangat dalam penyelesaian skripsi ini.

Dengan keterbatasan pengalaman, pengetahuan maupun pustaka yang ditinjau, penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penulisan naskah skripsi ini. Akhir kata, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran dari semua pihak agar dapat lebih disempurnakan.

Surabaya, 15 Desember 2022

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK.....	i
ABSTRACT	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
DAFTAR SINGKATAN	xiii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	4
1.4. Manfaat penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Virus SARS-CoV-2	5
2.1.1. Deskripsi Umum	5
2.1.2. Klasifikasi Virus.....	6
2.1.3. Patofisiologi COVID-19.....	7
2.2. Mutasi Virus SARS-CoV-2	9
2.3. Antivirus Remdesivir.....	14
2.4. Metode Pengujian <i>In-Vitro</i> pada Remdesivir	16
BAB 3 METODE PENELITIAN	20
3.1. Jenis Penelitian	20

	Halaman	
3.2.	Rancangan Penelitian.....	20
3.3.	Analisis Data.....	21
	3.3.1. Pencarian Pustaka.....	21
	3.3.2. Proses Perekaman Data	21
	3.3.3. Proses Skrining Duplikasi	22
	3.3.4. Proses Skrining Kriteria (Inklusi dan Eksklusi)	23
	3.3.5. Studi Eligibilitas	24
	3.3.6. Penerimaan Data	25
3.4.	Alur Penelitian.....	25
BAB 4.	HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	26
4.1.	Hasil Penelitian.....	26
	4.1.1. Hasil Pencarian Pustaka	26
	4.1.2. Hasil Proses Skrining Data Pustaka.....	27
	4.1.3. Hasil Studi Eligibilitas.....	29
	4.1.4. Hasil Penerimaan Data Pustaka.....	29
4.2.	Interpretasi Hasil.....	43
	4.2.1. Uji Imunofluoresensi (IF).....	43
	4.2.2. <i>Uji HiBiT Luminescence</i>	44
	4.2.3. Uji Imunohistokimia.....	46
	4.2.4. <i>Uji Nano-Glo Luciferase</i>	47
	4.2.5. <i>Uji Gaussia Luciferase</i>	48
	4.2.6. Uji TR-FRET NP	49
	4.2.7. Uji MTS	51
	4.2.8. Uji CCK-8/WST-8 (<i>Cell Counting Kit-8</i>)	51

	Halaman
4.2.9. Uji <i>CellTiter-Glo Luminescent</i> dan Uji CFU.....	52
4.2.10. Uji WST-1	54
4.3. Diskusi	55
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	57
5.1. Kesimpulan	57
5.2. Saran	57
DAFTAR PUSTAKA	58
LAMPIRAN	65

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1	Mutasi pada SARS-CoV-2 dan Jenis-jenis mutasinya 13
Tabel 3.1	Rancangan PICO tools dalam Proses Pencarian Pustaka 21
Tabel 3.2	Matriks Pencatatan Hasil Penelusuran dan Perekaman Data 22
Tabel 3.3	Matriks Skrining Duplikasi Data Pustaka per Kombinasi Kata Kunci 22
Tabel 3.4	Matriks Skrining Duplikasi Data Pustaka antar Search Engine 23
Tabel 3.5	Matriks Skrining Kriteria Inklusi dan Eksklusi Data Pustaka 24
Tabel 3.6	Matriks Studi Eligibilitas Data Pustaka..... 24
Tabel 4.1	Rangkuman Hasil Pencarian Data Pustaka dengan Kombinasi Kata Kunci 27
Tabel 4.2	Rangkuman Hasil Skrining Duplikasi Data Pustaka 28
Tabel 4.3	Rangkuman Hasil Kriteria Data Pustaka pada Masing-Masing Search Engine..... 28
Tabel 4.4	Rangkuman Hasil Studi Eligibilitas Data Pustaka 29
Tabel 4.5	Rekapan Hasil Penerimaan Data Artikel Mengenai Efektivitas Macam-Macam Metode Pengujian Secara In Vitro pada Remdesivir dalam Menghambat Replikasi Virus SARS-CoV-2 untuk Terapi COVID-19 31
Tabel 4.6	Aktivitas Antivirus Remdesivir dan Klorokuin pada Sel HPSC-CMS 44
Tabel 4.7	Aktivitas Antivirus Remdesivir dan Beberapa Antivirus Lainnya..... 44
Tabel 4.8	Parameter Statistik untuk Menentukan Pengujian Memenuhi Kriteria HTS..... 49

Halaman

Tabel 4.9	Evaluasi Aktivitas Sitotoksitas In Vitro Remdesivir dan GS-441524	54
Tabel 4.10	Perbandingan Nilai dari Parameter Pengujian Standar antara Metode Uji.....	55

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1	Struktur Komponen Virus SARS-CoV-25
Gambar 2.2	Skema Patofisiologi SARS-CoV-2 pada Sel Tubuh Manusia8
Gambar 2.3	Struktur Kimia Remdesivir.....14
Gambar 3.1	Diagram Alur Penelitian Kajian Pustaka.....25
Gambar 4.1	Diagram Alur Penelitian Kajian Pustaka.....30

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1	Hasil Pencarian Data Pustaka dengan Kombinasi Kunci “SARS-CoV-2 AND Remdesivir AND In Vitro Method” pada Database Google Scholar.....
Lampiran 2	65
Lampiran 3	Hasil Pencarian Data Pustaka dengan Kombinasi Kunci “SARS-CoV-2 AND Remdesivir AND In Vitro Method” pada Database Pubmed
Lampiran 4	71
Lampiran 5	Hasil Pencarian Data Pustaka dengan Kombinasi Kunci “SARS-CoV-2 AND Remdesivir AND In Vitro Method” pada Database Science Direct
Lampiran 6	74
Lampiran 7	Hasil Pencarian Data Pustaka dengan Kombinasi Kunci “SARS-CoV-2 AND Remdesivir AND Replicon” pada Database Google Scholar
Lampiran 8	78
Lampiran 9	Hasil Pencarian Data Pustaka dengan Kombinasi Kunci “SARS-CoV-2 AND Remdesivir AND High-Throughput” pada Database Google Scholar.....
Lampiran 10	82
Lampiran 11	Hasil Pencarian Data Pustaka dengan Kombinasi Kunci “SARS-CoV-2 AND Remdesivir AND High-Throughput” pada Database Science Direct
Lampiran 12	86
Lampiran 13	Hasil Pencarian Data Pustaka dengan Kombinasi Kunci “SARS-CoV-2 AND Remdesivir AND High-Throughput” pada Database Pubmed
Lampiran 14	92
Lampiran 15	Hasil Pencarian Data Pustaka dengan Kombinasi Kunci “SARS-CoV-2 AND Remdesivir AND High-Throughput” pada Database Google Scholar
Lampiran 16	96
Lampiran 17	Proses Skrining Duplikasi Data Pustaka pada Search Engine Google Scholar
Lampiran 18	98

Halaman

Lampiran 11	Proses Skrining Duplikasi Data Pustaka pada Search Engine Pubmed.....	105
Lampiran 12	Proses Skrining Duplikasi Data Pustaka pada Search Engine Science Direct	110
Lampiran 13	Proses Skrining Duplikasi Data Pustaka antar Search Engine.....	114
Lampiran 14	Proses Skrining Data Pustaka Berdasarkan Batasan Kriteria pada Search Engine Google Scholar	121
Lampiran 15	Proses Skrining Data Pustaka Berdasarkan Batasan Kriteria pada Search Engine Pubmed	125
Lampiran 16	Proses Skrining Data Pustaka Berdasarkan Batasan Kriteria pada Search Engine Science Direct.....	126
Lampiran 17	Studi Eligibilitas Data Pustaka pada Search Engine Google Scholar	127
Lampiran 18	Studi Eligibilitas Data Pustaka pada Search Engine Pubmed.....	140
Lampiran 19	Studi Eligibilitas Data Pustaka pada Search Engine Science Direct.....	142

DAFTAR SINGKATAN

AAK1	: <i>AP-2-associated protein kinase 1</i>
ACE2	: <i>Angiotensin Converting Enzyme 2</i>
ACTN2	: <i>Actinin Alpha 2</i>
AF	: <i>Alexa Fluor</i>
BFU-E	: <i>Burst Forming Unit-Erythroid</i>
BSA	: <i>Bovine Serum Albumin</i>
CC _{50%}	: <i>50% Cytotoxic Concentration</i>
CCK-8	: <i>Cell Counting Kit-8</i>
CFU	: <i>Colony-Forming Unit</i>
CFU-E	: <i>Colony Forming Unit-Erythroid</i>
CFU-GEMM	: <i>Colony Forming Unit Granulocyte-Erythrocyte-Monocyte-Megakaryocyte</i>
CFU-GM	: <i>Colony Forming Unit Granulocyte-Macrophage</i>
CHO-K1	: <i>Chinese Hamster Ovary-K1</i>
COVID-19	: <i>Coronavirus Disease 2019</i>
cTnT	: <i>Cardiac Troponin T</i>
CV	: <i>Coefficient of Variation</i>
DAPI	: <i>4,6'-diamidino-2-phenylindole</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
EC _{50%}	: <i>50% Effective Concentration</i>
ER	: <i>Endoplasmic Reticulum</i>
Eu	: <i>Europium</i>
H ₂ O ₂	: <i>Hidrogen Peroksida</i>
HEK-293T	: <i>293 T Human Embryonic Kidney Cells</i>

hPSC-CMs	: <i>Human Pluripotent Stem cells-derived Cardiomyocytes</i>
HRP	: <i>Horseradish Peroxidase</i>
HTRF	: <i>Homogeneous Time-Resolved Fluorescence</i>
HTS	: <i>High-Throughput Screening</i>
Huh-7	: <i>Human Hepatoma Lineage Cells</i>
IC _{50%}	: <i>50% Inhibitory Concentration</i>
LDH	: <i>Laktat Dehidrogenase</i>
NAD(P)H	: <i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate</i>
NGS	: <i>Normal Goat Serum</i>
NP	: <i>Nucleocapsid Protein</i>
Nsp	: <i>Non-Structural Protein</i>
NTD	: <i>N-terminal Domain</i>
Opti-MEM	: <i>Opti- Minimal Essential Medium</i>
ORFs	: <i>Open Reading Frame</i>
PBMC	: <i>Peripheral Blood Mononuclear Cell</i>
PBS	: <i>Phosphate Buffered Saline</i>
PFA	: <i>Paraformaldehyde</i>
PHH	: <i>Primary Human Hepatocytes</i>
PICO	: <i>Problem, Intervention, Control, Outcome</i>
PMT	: <i>Photomultiplier</i>
RBD	: <i>Receptor-Binding Domain</i>
RdRp	: <i>RNA-dependent RNA polymerase</i>
RDV-MP	: <i>Remdesivir Monophosphate</i>
RDV-TP	: <i>Remdesivir Triphosphate</i>
RLU	: <i>Relative Light Unit</i>
RNA	: <i>Ribonucleic Acid</i>

RPTECs	: <i>Renal Proximal Tubule Epithelial Cell</i>
RT	: <i>Room Temperature</i>
RTC	: <i>Replication/Transcriptase Complex</i>
S/B	: <i>Signal-to-Background</i>
S/N	: <i>Signal-to-Noise</i>
SARS-CoV	: <i>Severe Acute Respiratory</i>
SARS-CoV-2	: <i>Severe Acute Respiratory Syndrome-2</i>
SGFT	: <i>Spike Gene Target Failure</i>
sgRNAs	: <i>Subgenomic RNAs</i>
SI	: <i>Selectivity Index</i>
Tb	: <i>Terbium</i>
TCID ₅₀	: <i>Tissue Culture Infectious Dose 50</i>
TMPRSS2	: <i>Transmembrane Protease Serine 2</i>
TR-FRET	: <i>Time-Resolved Resonance Energy Transfer</i>
UTRs	: <i>Untranslated Area</i>
VOC	: <i>Variant of Concern</i>
VOI	: <i>Variant of Interest</i>
VUM	: <i>Variant Under Monitoring</i>
WoS	: <i>Web of Science</i>
WST-1	: <i>Water Soluble Tetrazolium-1</i>
WST-8	: <i>Water Soluble Tetrazolium-8</i>