

## Prediksi Aktivitas Biologis Metabolite Sekunder *Amphora* Sp. secara insilico: Untuk Pengembangan Bahan Obat Alami

### Insilico Prediction of Biological Activity of Secondary Metabolites of *Amphora* sp.: for Development of Natural Medicines

Ach. Khumaidi<sup>1\*</sup>, Abdul Wafi, Abdul Muqsith<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Budidaya Perikanan, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Ibrahimy  
Jl. Raya Situbondo-Banyuwangi, Sumberejo, Situbondo, Jawa Timur 68374, Indonesia.

\*alamat email: [ach.khumaidi@gmail.com](mailto:ach.khumaidi@gmail.com)

#### Abstrak

Diatom *Amphora* sp. merupakan jenis produk budidaya perikanan yang memiliki berbagai macam jenis metabolite dengan potensi sangat baik untuk dijadikan sebagai bahan dasar obat atau produk kesehatan lainnya. Analisis insilico ekstrak *Amphora* sp. dilakukan untuk memprediksi aktivitas biologis yang dapat dijadikan pijakan pengembangan pemanfaatan produk budidaya perikanan. Penelitian dilakukan dengan melakukan ekstraksi *Amphora* sp. menggunakan pelarut etanol dengan metode sonikasi, hasil ekstraksi dianalisis dengan LC-HRMS, dan hasil pembacaan metabolit kemudian dianalisis potensi obat dan aktivitas biologis secara online dengan aplikasi swissADME, Protox II, dan Way2Drug. Hasil analisis LC-HRMS menunjukkan *Amphora* sp. yang diekstrak menunjukkan adanya senyawa *valine* memiliki kelimpahan tertinggi dengan 17.6% serta senyawa lainnya *L-Norleucin*, *stearamide*, *palmitoleic acid*, *isotretinoin*, dan *arachidonic acid*. Hasil analisis ADME/T menunjukkan bahwa 6 senyawa ekstrak *Amphora* sp. memiliki potensi cukup baik sesuai dengan aturan *Lipinski rule of five*. Aktivitas biologis juga menunjukkan potensi sebagai agen antiinflamasi, antifungi, antibakteri, antivirus, dan antineoplastik dengan nilai Pa. berkisar antara 0.260 – 0.873. Hasil ini menunjukkan bahwa pengembangan produksi budidaya *Amphora* sp. dan pemanfaatannya sangat luas termasuk pada bidang kesehatan.

**Kata Kunci:** ADME/T, PASSonline, *Amphora* sp., sonikasi, akuakultur.

#### Abstract

Diatom *Amphora* sp. is a type of aquaculture product that has various types of metabolites with very good potential to be used as basic ingredients for drugs or other health products. Insilico analysis of extracts of *Amphora* sp. was carried out to predict biological activity that can be used as a basis for developing the use of aquaculture products. The research was conducted by extracting *Amphora* sp. using ethanol solvent with sonication method, the extraction results were analyzed by LC-HRMS, and the metabolite readings were then analyzed for drug potential and biological activity online using swissADME, Protox II, and Way2Drug applications. The results of the LC-HRMS analysis showed that the extracted *Amphora* sp. showed the highest abundance of valine compounds with 17.6% as well as other compounds *L-Norleucin*, *stearamide*, *palmitoleic acid*, *isotretinoin*, and *arachidonic acid*. The results of the ADME/T analysis showed that the six compounds of *Amphora* sp. extract had quite good potential according to the Lipinski rule of five. Biological activity also shows potential as an anti-inflammatory, antifungal, antibacterial, antiviral, and antineoplastic agent with Pa values ranging from 0.260 to 0.873. These results indicate that the production development of *Amphora* sp. and its use is very wide, including in the health sector.

**Keyword:** ADME/T, PASSonline, *Amphora* sp., sonication, aquaculture.

## PENDAHULUAN

Perkembangan dunia industri mikroalga secara global semakin meningkat. Pada beberapa tahun terakhir, mikroalga diproduksi tidak hanya untuk kepentingan sebagai pakan alami pada budidaya ikan atau udang. Metabolite sekunder dalam bentuk senyawa bioaktif yang terkandung di beberapa jenis mikroalga seperti polifenol, karotenoid dan berbagai macam senyawa aktif lainnya dieksplorasi sebagai bahan antioksidan, antiviral, dan aktivitas biologis lainnya di bidang kesehatan (Haoujar *et al.*, 2019). Produksi metabolit sekunder berbeda dengan produksi makromolekul universal dari metabolisme primer seperti monosakarida, polisakarida, asam amino, protein, dan termasuk lipid yang umumnya diproduksi oleh semua organisme (Silva, Rocha-santos, & Duarte, 2016). Metabolit sekunder memiliki pola distribusi yang ketersediaan terbatas di alam karena tidak selalu diproduksi pada semua kondisi kultur dan hanya dapat ditemukan pada organisme tertentu atau sekelompok organisme.

*Amphora* sp., termasuk salah satu jenis mikroalga golongan Bacillariophyceae yang memiliki potensi

cukup baik untuk pengembangan produksi senyawa bioaktif penting untuk kesehatan. Menurut Boukhris *et al.* (2017) *Amphora* sp. memiliki kandungan protein, lipid, gula, dan mineral dalam persentase sedang, serta metabolit penting seperti polifenol, flavonoid, klorofil, karotenoid, dan asam lemak bioaktif sebagai EPA, serta terbukti memiliki aktifitas biologis penting sebagai antioksidan dan antibakteri. Pada penelitian sebelumnya, diungkapkan bahwa *Amphora* sp. yang diisolasi dari perairan Situbondo (Indoensia) memiliki kandungan nutrisi yang cukup baik (Khumaidi *et al.* 2020), asam lemak penting (Khumaidi *et al.* 2020), meningkatkan kelulushidupan ikan Kerapu Cantang yang terinfeksi virus (Khumaidi and Umiyah 2019).

Pengembangan potensi metabolit sekunder dapat dipelajari berdasarkan kemiripan strukturalnya dengan senyawa aktif yang diketahui. Potensi penggunaan metabolit sekunder sebagai agen terapeutik sebagian besar bergantung pada farmakokinetik dan farmakodinamiknya. Fase farmakokinetik meliputi absorpsi, distribusi, metabolisme, dan eliminasi

(ADME) obat, serta dapat dilengkapi dengan nilai toksisitas (T) (Wang *et al.*, 2015). Skrining dan optimalisasi sifat ADME/T pada tahap awal proses pengembangan obat diterima secara luas (Waterbeemd and Gifford 2003). Selain itu, aktivitas biologis dari metabolite sekunder dapat diprediksi menggunakan aplikasi berbasis website *Prediction of activity spectra for substances* (PASS) (Lagunin, Stepanchikova, Filimonov, & Poroikov, 2000). Prediksi PASS menganalisis aktivitas biologis suatu senyawa berdasarkan strukturnya. Penelitian ini bertujuan: 1) mengetahui kandungan bioaktif *Amphora* sp., 2) mengetahui potensi agen terapeutik dan aktivitas biologis yang dilakukan secara *insilico*. Hasil penelitian ini dapat dijadikan dasar pengembangan pemanfaatan metabolit sekunder *Amphora* sp. di bidang kesehatan dan lainnya.

## METODE PENELITIAN

### Waktu dan lokasi penelitian

Penelitian dilaksanakan pada periode 2019-2020 di laboratorium Pakan Alami BPBAP Situbondo, dan Laboratorium Sentral Ilmu Hayati (LSIH) Universitas Brawijaya.

### Rancangan penelitian

- Bubuk *Amphora* sp.

Tepung atau bubuk *Amphora* sp. berasal dari kultur secara mandiri. Pupuk yang digunakan saat kultur *Amphora* sp. yaitu KNO<sub>3</sub>, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, Na<sub>2</sub>EDTA, FeCl<sub>3</sub>, Silikate, larutan mikro (Zn Cl<sub>2</sub>; CoCl<sub>2</sub>; 6H<sub>2</sub>O; (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>MO<sub>7</sub>O<sub>24</sub>·4H<sub>2</sub>O; CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O), dan vitamin (B1 dan B12). Kualitas air pada saat kultur dikondisikan optimal sesuai pertumbuhan *Amphora* sp. Panen *Amphora* sp. dilakukan pada hari ke-5 kultur dengan kepadatan 230 x 10<sup>4</sup> sel/cm. Hasil pemanenan *Amphora* sp. dikeringkan pada kondisi suhu ruangan selama 3 hari, kemudian diblender untuk mendapatkan *Amphora* sp. dalam bentuk tepung atau bubuk.

### - Ekstraksi

*Amphora* sp. diekstraksi dengan metode sonikasi menggunakan pelarut etanol pa. dengan perbandingan 1 : 10 yaitu bubuk *Amphora* sp. (30 gr) : pelarut (300 ml). Sonikasi dilakukan dengan 20 Khz selama 15 menit. Hasil sonikasi dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring (Whatman no. 42) untuk memisahkan ampas dengan ekstrak hasil pelarutan.

Filtrat yang dihasilkan, kemudian dipisahkan dengan cara dievaporasi dengan *rotary evaporator vacuum* pada suhu 40 °C, kecepatan 60 rpm, dan tekanan 200 mBar. Selanjutnya dilakukan penghitungan rendemen dengan menggunakan :

$$\% \text{ rendemen} =$$

$$\frac{\text{berat ekstrak kasar yang diperoleh}}{\text{berat sampel yang digunakan}} \times 100 \%$$

## LC-HRMS

Profiling bioaktif ekstrak *Amphora* sp. dilakukan dengan LC-HRMS mengikuti Najafian dan Babji (2014) dengan modifikasi. Ekstrak *Amphora* sp. dilarutkan dengan pelarut etanol dengan volume final 1300 µl. LC-HRMS yang digunakan model Thermo Scientific Dionex Ultimate 3000RSLCnano dengan microflow meter dengan dilengkapi auto sampler, binary pump, column compartment dan Diode Array Detector untuk scanning spektroskopik. Data MS diperoleh dengan pemindaian secara penuh pada resolusi 70.000. Sedangkan data kromatogram yang diperoleh didasarkan dari sistem atau library mz Cloud yang digunakan.

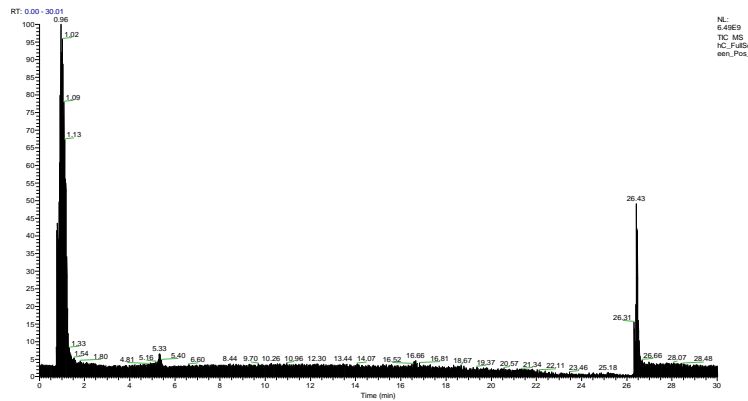
### Analisis data (Insilico)

Analisis potensi agen terapeutik dari ekstrak *Amphora* sp. mengacu pada Amin *et al.*, (2018). Beberapa senyawa bioaktif hasil dari analisis LC-HR/MS diolah dan dianalisis secara insilico. Informasi fitokimia bioaktif *Amphora* sp. diperoleh dengan cara mengakses

server PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) seperti sinonim, canonical SMILES dan Isomeric SMILES, serta struktur 3D senyawa bioaktif. Prediksi farmakokinetika ADME (<http://www.swissadme.ch/>) dan toksisitas ([http://tox.charite.de/protox\\_II/](http://tox.charite.de/protox_II/)), prediksi bioaktivitas dengan PASS online (<http://www.way2drug.com/PASSOnline/index.php>).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis data kromatogram LC-HRMS terdapat enam puluh dua (62) kromatogram (Gambar 1). Dari hasil tersebut dilakukan filterisasi berdasarkan angka mzCloud BestMact  $\geq 80$  serta senyawa yang memiliki relative kelimpahan yang besar. Hasil filterisasi menunjukkan ada enam senyawa aktif yang diduga kuat merupakan senyawa aktif dari ekstrak *Amphora* sp (Tabel 1). Prediksi stuktur senyawa kimia diakses melalui laman (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>).



Gambar 1. Spektrum LC-HRMS ekstrak *Amphora* sp.

Tabel 1. Hasil LC-HRMS ekstrak *Amphora* sp.

Name	Formula	RT [min]	Area (Max.)	mzCloud Best Match	Kelimpahan (%)
Valine	C5 H11 N O2	0.931	21,148,092.11	82.6	17.6
L-Norleucine	C6 H13 N O2	0.93	10,583,783.92	84.3	8.8
Stearamide	C18 H37 N O	20.523	8,220,643.35	86.5	6.9
Palmitoleic acid	C16 H30 O2	16.624	4,411,520.04	90	3.7
Isotretinoin	C20 H28 O2	11.86	2,306,530.66	83.7	1.9
Arachidonic acid	C20 H32 O2	16.619	1,833,046.56	95.2	1.6

Hasil analisis menunjukkan bahwa senyawa Valine memiliki kelimpahan tertinggi dengan 17.6% pada waktu retensi 0.931, dan diikuti senyawa lainnya seperti pada (Tabel 1) dan terakhir Arachidonic acid 1.6% pada waktu retensi 16.624. Enam senyawa tersebut memiliki rentang mzCloud BestMatch >80.

Valine (L-valine), asam amino- $\alpha$  yang memiliki fungsi penting dalam sintesis bioprotein. Secara spesifik, asam amino ini tidak dapat dibentuk atau diproduksi oleh tubuh manusia dan hewan, yang berarti asam amino ini harus ditambahkan dari luar tubuh melalui makanan. Asam amino esensial

ini berperan dalam kelancaran sistem saraf dan fungsi kognitif, perbaikan jaringan yang rusak serta peningkatan sistem kekebalan tubuh. Selain itu, L-valine banyak digunakan untuk bahan pembuatan antivirus seperti *valacyclovir* (Valtrex) (Ormrod, Scott, & Perry, 2000) dan *valganciclovir* (Valcyte) (Curran & Noble, 2001) yang dapat melawan herpes simplex virus tipe I dan tipe II, *varicella zoster virus* dan *human cytomegalovirus* (HCMV).

Selain Valine, senyawa lain seperti L-Norleucine banyak digunakan untuk mengatasi penyakit Alzheimer (Clementi & Misiti, 2005). Stearamide memiliki aktivitas antibakteri

*Staphylococcus epidermidis* (Ahmed et al., 2017). Palmitoleic acid, atau (9Z)-hexadec-9-enoic acid dapat berfungsi untuk menurunkan resiko diabetes dan menurunkan resiko kardiovaskular (Mozaffarian et al., 2010; Stefan et al., 2010). Isotretinoin termasuk turunan dari vitamin A yang telah banyak digunakan dalam pengobatan jerawat dengan peran mempengaruhi perkembangan siklus sel, diferensiasi sel, kelangsungan hidup sel dan apoptosis. Isotretinoin juga dinilai efektif untuk pengobatan fikulitis eosinofilik yang berhubungan dengan

*human immunodeficiency virus* (Layton, 2009).

*Arachidonic acid* (ARA) merupakan asam lemak omega-6 tak jenuh ganda 20:4 ( $\omega$ -6), atau 20:4 (5,8,11,14) yang memiliki peran mendasar pada fungsi otak dan otot terutama pada kasus infeksi *Schistosoma mansoni* dan *S. Haematobium*. ARA juga memiliki fungsi mampu meningkatkan dan memodulasi respons imun tipe 2, yang mengatur resistensi terhadap parasit dan serangan alergen (Tallima & El Ridi, 2018).

Tabel 2. Analisis ADME senyawa aktif ekstrak *Amphora* sp.

Name	Canonical SMILES	MW	HBA	HBD	TPSA (Å <sup>2</sup> )	Log P (iLOGP)	LD <sub>50</sub> (mg/kg)	Toxicity Class
Valine	CC(C)C(C(=O)O)N	117.07 898	3	2	63.3	1.03	12680	6
L-Norleucine	CCCCC(C(=O)O)N	131.09 45	3	2	63.2	1.17	260	3
Stearamide	CCCCCCC CCCCCCC CCCC(=O) N	283.28 67	1	1	43.09	4.22	958	4
Palmitoleic acid	CCCCCCC=CCCCCCC CC(=O)O	254.22 409	2	1	37.3	3.53	48	2
Isotretinoin	CC1=C(C(C(C1)C)C)C=CC(=CC(=O)O)C)C	300.20 833	2	1	37.3	3.68	1100	4
Arachidonic acid	CCCCCCC=C CC=CCC=C CC=CCCC (=O)O	304.23 961	2	1	37.3	4.64	10000	6

MW: molecular weight; HBA: Hydrogen bond acceptor; HBD: Hydrogen bound donor; TPSA: Topology Polar Surface Area.; iLOGP: Partition coefficient.

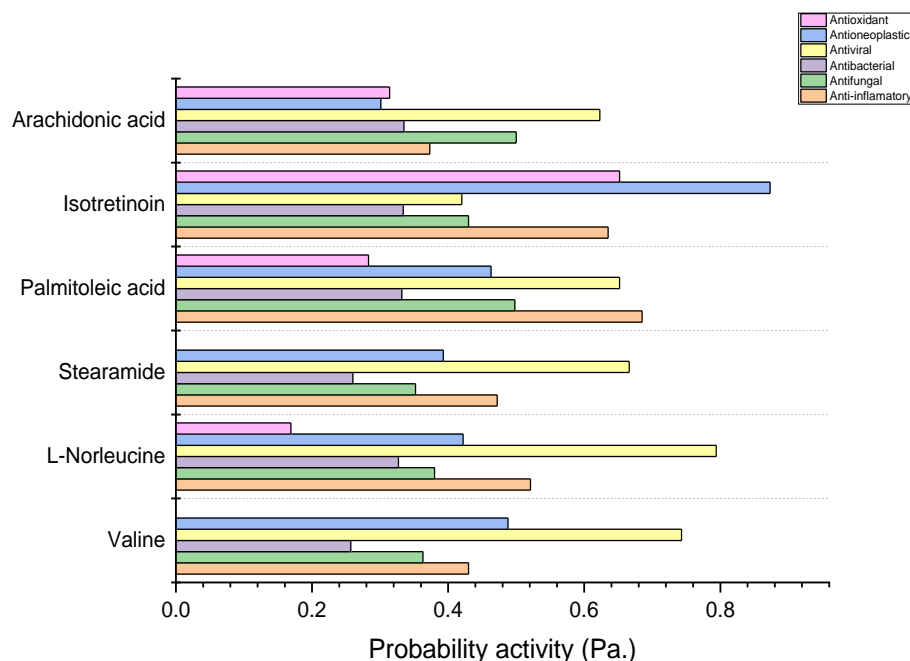
Senyawa aktif *Amphora* sp. memiliki berat molekul antara 117 – 304 g/mol memperlihatkan nilai bioavailabilitas, penyerapan fraksi, dan pembersihan pada ginjal yang baik. Lipinski *et al.*, (2012) mengungkapkan bahwa nilai MW yang melebihi 500 g/mol memiliki aktivitas bioavailabilitas, penyerapan fraksi, dan pembersihan pada ginjal yang rendah.

Nilai TPSA pada semua senyawa aktif juga memiliki nilai  $\leq 140$ , yang mengindikasikan senyawa aktif dapat mudah masuk ke dalam sel (Aristyani *et al.*, 2018). Nilai toksisitas ( $LD_{50}$ ) ekstrak *Amphora* sp.

menunjukkan nilai toksisitas berkisar 48 – 12680 mg/kg dan dikategorikan dalam

kelas 2 - 6. Senyawa Palmitoleic acid menunjukkan nilai toksisitas tertinggi yaitu 48 mg/kg dan berada pada kelas 2 toksisitas. Supandi *et al.*, (2018) mengungkapkan semakin tinggi nilai  $LD_{50}$ , maka nilai toksisitasnya semakin rendah terhadap hewan coba.

Hasil prediksi aktivitas biologis menunjukkan senyawa aktif ekstrak *Amphora* sp. memiliki aktivitas sebagai agen antiinflamasi, antifungi, antibakteri, antivirus, dan antineoplastik dengan nilai Pa. berkisar antara 0.260 – 0.873 (Gambar 2). Dari enam senyawa ekstrak *Amphora* sp., valine dan stearamide menunjukkan belum memiliki aktivitas antioksidan secara langsung.



Gambar 2. Analisis aktivitas biologis PASS ekstrak *Amphora* sp.

Tabel 3. Prediksi aktivitas antivirus ekstrak *Amphora* sp.

Name	Antiviral						
	Picornavirus	Influenza	Poxvirus	Adenovirus	Rhinovirus	Cytomegalovirus	Herpesvirus
Valine	0.743	0.511	0.469	0.512	0.419	0.441	0.421
L-Norleucine	0.794	0.66	0.602	0.523	0.479	0.408	0.378
Stearamide	0.666	0.575	0.586	0.473	0.431	0.37	0.371
Palmitoleic acid	0.628	0.652	0.482	0.483	0.637	0.558	0.433
Isotretinoin	0.391	0.262	-	0.263	0.403	0.214	0.42
Arachidonic acid	0.597	0.599	0.429	0.461	0.623	0.533	0.421

Secara spesifik juga dilakukan analisis pada aktivitas antivirus (Gambar 3). Hasil analisis menunjukkan bahwa senyawa aktif ekstrak *Amphora* sp. memiliki aktivitas antivirus pada Cytomegalovirus, Rhinovirus, Adenovirus, Poxvirus, Influenza, dan Picornavirus. Prediksi aktivitas kuat sebagai antivirus dengan nilai  $\geq 0.7$  terlihat pada Valine dan L-Norleucine yang memiliki aktivitas anti Picornavirus dengan nilai Pa. (0.743 dan 0.794). Nilai prediksi PASS  $\geq 0.7$  (kotak biru) pada Tabel 3 menunjukkan aktivitas yang sangat memungkinkan terjadi dalam percobaan secara *in vivo*, dan memiliki kemungkinan kesamaan dengan obat lain yang sudah dikenal (Lagunin *et al.*, 2000). Melihat hasil prediksi aktivitas biologis secara *in silico*, menunjukkan bahwa metabolit sekunder dari Ekstrak *Amphora* sp. memiliki potensi yang cukup baik untuk dikembangkan sebagai bahan dasar obat

atau agen terapeutik di bidang kesehatan.

### KESIMPULAN

*Amphora* sp. yang diekstrak dengan pelarut etanol dengan metode sonikasi menunjukkan adanya beberapa metabolit sekunder yaitu valine, L-Norleucine, stearamide, palmitoleic acid, isotretinoin, dan arachidonic acid. Metabolit sekunder *Amphora* sp. secara *in silico* menunjukkan potensi agen terapeutik sebagai antineoplastik, antibakteri, antifungi, antioksidan, dan antivirus.

### DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, S., Liu, H., Ahmad, A., Akram, W., Abdelrahman, E. K. N., Ran, F., ... Hu, X. *Frontiers in Microbiology* (2017). 8(OCT): 1–11.
- Amin, M., Putra, K. S., Amin, I. F., Earlia, N., Maulina, D., Lukiaty, B., & Lestari, U. *Biology, Medicine, & Natural Product Chemistry*, (2018) 7(1): 27–31.
- Aristyani, S., Nur, M. I., Widyarti, S., Sumitro, S. B., Sciences, N., & Sciences, N. 2018. *In silico* study of active compounds ADMET Profiling in *Curcuma xanthorrhiza* Roxb and *Tamarindus indica*



- as Tuberculosis Treatment. *Jurnal Jamu Indonesia*, 3(3): 101–108.
- Boukhris, S., Athmouni, K., Hamza-Mnif, I., Siala-Elleuch, R., Ayadi, H., Nasri, M., & Sellami-Kamoun, 2017. A. *BioMed Research International*.
- Clementi, M. E., & Misiti, F. 2005. Substitution of methionine 35 inhibits apoptotic effects of A $\beta$ (31-35) and A $\beta$ (25-35) fragments of amyloid-beta protein in PC12 cells. *Medical Science Monitor*, 11(11): 381–385.
- Curran, M., & Noble, S. 2001. Valganciclovir. *Drugs*, 61(8): 1145–1150.
- Haoujar, I., Cacciola, F., Abrini, J., Mangraviti, D., Giuffrida, D., El Majdoub, Y. O., ... Senhaji, N. S. *Molecules* (2019). 24(22): 1–17.
- Khumaidi, A, Iranawati, F., Kilawati, Y., Yanuhar, U., & Fadjar, M. 2020. Morphology , molecular , and nutritional value of Amphora sp . from coastal water of the grouper cultivation center (Situbondo, Indonesia). *Ecology, Environment and Conservation*, 26(2): 943–949.
- Khumaidi, A, & Umiyah, A. 2019. Potensi Antivirus Viral Nervous Necrosis Ekstrak Metanol Amphora sp . pada Ikan Kerapu Cantang ( Epinephelus sp .). *Samakia: Jurnal Ilmu Perikanan*, 10(2): 114–120.
- Khumaidi, Ach, Iranawati, F., Fadjar, M., Maftuch, Masruri, Yanuhar, U., & Kilawati, Y. 2020. Fatty acid profile and in silico pharmacological study of diatom amphora sp. *AAFL Bioflux*, 13(4): 2050–2060.
- Lagunin, A., Stepanchikova, A., Filimonov, D., & Poroikov, V. *Bioinformatics Applications Note* (2000). 16(8): 747–748. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/16.8.747>
- Layton, A. *Dermato-Endocrinology* (2009). 1(3): 162–169.
- Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, P. J. *Advanced Drug Delivery Reviews* (2012). 64(SUPPL.): 4–17.
- Mozaffarian, D., Cao, H., King, I. B., Lemaitre, R. N., Song, X., Siscovick, D. S., & Hotamisligil, G. S. *American Journal of Clinical Nutrition* (2010). 92(6): 1350–1358.
- Ormrod, D., Scott, L. J., & Perry, C. M. *Drugs* (2000). 59(4): 839–863.
- Silva, R. P. F. F., Rocha-santos, T. A. P., & Duarte, A. C. 2016. Supercritical fluid extraction of bioactive compounds. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 76: 40–51.
- Stefan, N., Kantartzis, K., Celebi, N., Staiger, H., Machann, J., Schick, F., ... Häring, H. U. *Diabetes Care* (2010). 33(2): 405–407.
- Supandi, Yeni, & Merdekawati, F. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* (2018). 8(9): 119–129.
- Tallima, H., & El Ridi, R (2018). *Journal of Advanced Research*, 11: 33–41.
- van de Waterbeemd, H., & Gifford, E. *Nature Reviews Drug Discovery* (2003). 2(3): 192–204.
- Wang, Y., Xing, J., Xu, Y., Zhou, N., Peng, J., Xiong, Z., & Liu, X. *Quarterly Reviews of Biophysics* (2015). 48(4): 488–515.