

**PROPOSAL
TUGAS AKHIR 1**

**SKRINING VIRTUAL SENYAWA FLAVONOID SEBAGAI
ANTI SARS COV-2**



**FADHILAH UTAMI
24041116024**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS GARUT**

2021

SKRINING VIRTUAL SENYAWA FLAVONOID SEBAGAI ANTI SARS COV-2

TUGAS AKHIR 1

Sebagai salah satu syarat untuk
melaksanakan Tugas Akhir II pada Program
Studi S1 Farmasi Fakultas Matematika dan
Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Garut

Januari, 2021

Oleh :

Fadhilah Utami
24041116023

Disetujui Oleh :

Dr. Saeful Amin, M.Si., Apt
Pembimbing Utama

...
Pembimbing Serta

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah rabbil'alam, segala puji dan syukur bagi Allah SWT yang telah memberikan rahmat, karunia dan kesehatan, sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini . Tugas akhir dengan judul **“SKRINING VIRTUAL SENYAWA FLAVONOID SEBAGAI ANTI SARS COV-2”** disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Program Studi S1 Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Garut.

Penulis haturkan hormat dan terimakasih kepada berbagai pihak yang membantu dalam bentuk do'a, dukungan dan bimbingan selama penyusunan tugas akhir ini. Rasa hormat dan terimakasih penulis sampaikan kepada :

1. dr. Siva Hamdani, MARS, M.Farm selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Garut.
2. Dr. apt. Saeful Amin, M.Si. selaku pembimbing yang memberikan petunjuk, arahan dan bimbingan dalam penyusunan tugas akhir.
3. apt. Nurhabibah, M.Si. selaku dosen wali yang telah memberikan saran dan arahan selama perkuliahan.
4. apt. Siti Hindun, M.Si. selaku koordinator TA yang senantiasa dengan sabar memberikan informasi dan petunjuk untuk menyelesaikan tugas akhir.

5. Orang tua serta keluarga besar yang selalu mendukung materil, kasih sayang, juga do'a pada penulis dalam setiap keadaan.
6. Dosen Staf Program Studi S1 Farmasi Fakultas MIPA Universitas Garut yang telah memberikan ilmu dan pelajaran baru selama perkuliahan.
7. Teman-teman angkatan 2017 yang sama-sama berjuang dalam menyelesaikan tugas akhir.
8. Pihak lain yang membantu dalam penyusunan tugas akhir ini.

Pada tugas akhir ini penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penyusunan, sehingga penulis dapat menerima saran dan kritik yang diberikan.

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR LAMPIRAN	iv
 BAB	
I. PENDAHULUAN	1
II. TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Flavonoid.	3
2.2 <i>Severe Acute Respiratory Syndrome</i> <i>Coronavirus-2 (SARS-CoV-2)</i>	9
2.3 Reseptor	10
2.4 Interaksi Ikatan Kimia dan Aktivitas Biologis	11
2.5 <i>Lipinski's Rule of Five</i>	13
2.6 Prediksi Farmakokinetik dan toksisitas	13
2.7 <i>Molecular Docking</i>	14
2.8 Program Komputasi	15
III. METODE PENELITIAN	18
IV. PENELITIAN	21
4.1 Alat	21
4.2 Bahan	21
4.3 Prosedur Penelitian	21

DAFTAR PUSTAKA

26

DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN

Halaman

1 ALUR PENELITIAN SIMULASI *MOLECULAR DOCKING* 32

BAB I

PENDAHULUAN

Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS-CoV-2) merupakan suatu virus yang menyebabkan wabah *Coronavirus disease 2019* (COVID-19) . Pada Desember 2019 virus ini pertama kali ditemukan di Provinsi Hubei, Cina sehingga menyebar sampai ke 190 negara lain.¹

World Health Organization (WHO) menyatakan COVID-19 sebagai pandemik global. Pernyataan tersebut disampaikan pada maret 2020 setelah kasus meningkat mencapai 20 juta kasus di seluruh dunia, dengan tingkat kematian 0,5-6%.²

Peningkatan kasus dapat disebabkan karena virus SARS-Cov-2 menyebar antar manusia melewati *droplet* atau cairan kecil yang keluar dari tubuh manusia yang berjarak 1-2 meter. COVID-19 ini menyerang pada bagian sistem pernapasan sehingga menyebabkan pneumonia akut. Selain itu gejala lain yang ditimbulkan pertama kali pada seseorang yang terinfeksi virus ini yaitu demam, batuk kering, sesak nafas, nyeri tenggorokan, kelelahan.³

SARS-CoV-2 mengikat ACE2 (*Angiotensin converting enzyme 2*) sehingga menginfeksi sel inang dan menyebabkan imunopatogenik. ACE2 merupakan reseptor SARS-Cov-2.⁴ Setahun COVID-19 ini muncul, masih belum

ditemukan obat yang pasti dalam upaya penyembuhan. Penyembuhan pasien dilakukan melalui peningkatan sistem imun dan penggunaan pendekatan obat antivirus.⁵

Peningkatan sistem imun dilakukan dengan pemberian obat yang diduga mampu menurunkan infeksi virus, meskipun target dari obat yang digunakan belum pasti mengarah pada SARS Cov-2 tetapi berpotensi dalam terapi COVID-19.⁶ Selain itu, senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan dari tanaman juga berpotensi sebagai antivirus. Salah satu metabolit sekunder yang paling banyak dihasilkan dari tanaman yaitu flavonoid. Flavonoid merupakan salah satu turunan metabolit sekunder dari kelompok senyawa fenolik.⁷

Senyawa flavonoid memiliki banyak turunan senyawa, antara lain apigenin, quersetin, luteolin, katekin, baicalin, kaemferol, dan sebagainya. Senyawa-senyawa tersebut telah dibuktikan memiliki aktivitas antivirus.⁸ Sehingga dapat dimungkinkan senyawa turunan flavonoid tersebut memiliki aktivitas juga pada virus SARS Cov-2.⁷

Penelitian secara *in silico* dengan metode Molecular *docking* menjadi salah satu cara dalam penemuan obat baru untuk COVID-19. Penggunaan aplikasi komputasi ini tentu sangat mendukung penemuan dan pengembangan obat terutama dalam segi menghemat waktu dan biaya yang dikeluarkan.⁹

Memprediksi aktivitas dari turunan senyawa flavonoid dengan metode *molecular docking* menjadi tujuan utama dalam penelitian ini, guna mendapatkan

hasil yang memiliki manfaat dalam pengembangan dan penemuan obat baru Covid-19.

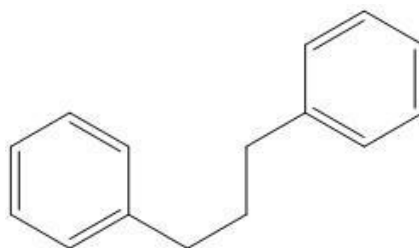
BAB II

TINJAUAN PUSATAKA

2.1 Flavonid

Senyawa fitokimia telah lama digunakan dalam pembuatan dan pengembangan obat baik secara alami maupun sintesis. Berbagai jenis Fitokimia sudah banyak dilakukan pengujian mengenai aktivitasnya. Fitokimia itu sendiri terdiri dari senyawa fenolat, karetenoid, terpenoid dan alkaloid. Senyawa fenolat itu sendiri memiliki subkelas yang terdiri dari asam fenolat, stilbene, kumarin, tannin dan flavonoid.¹⁰ Flavonoid salah satu metabolit sekunder terbanyak yang ditemukan pada berbagai tumbuhan baik dari sayur-sayuran, kacang-kacangan, biji-bijian maupun rimpang.⁷

Flavonoid yaitu senyawa yang tersusun atas urutan rantai carbon C6-C3-C6, dimana kedua C6 merupakan benzene dan dihubungkan oleh rantai alifatik 3 karbon. Flavonoid memiliki beberapa subkelas yaitu flavon, flavonol, flavanon, isoflavon, dehidroflavonol, biflavonoid, khalkon, auron dan antosianidin.¹¹

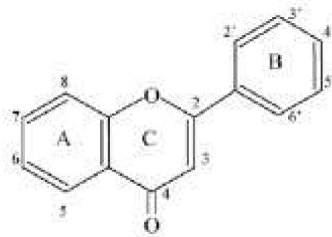


Gambar II.1 Struktur Flavonoid

Flavonoid memiliki berbagai aktivitas farmakologi, yaitu sebagai antibakteri, antimalaria, antiinflamasi, antijamur, antioksidan, antikanker dan antivirus. Senyawa flavonoid telah banyak dibuktikan memiliki aktivitas sebagai antivirus. Pengujian secara *In vivo* dan *In vitro* menyatakan flavonoid berpotensi dalam menghambat kerja dari virus influenza, hepatitis, herpes bahkan HIV. Aktivitas yang dihasilkan bersumber dari berbagai jenis kelompok flavonoid.⁷

2.1.1 Flavon

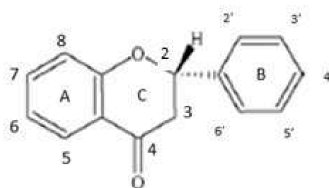
Flavon merupakan flavonoid yang memiliki struktur ikatan rangkap antara posisi 2'dan 3', serta memiliki keton pada posisi 4. Selain itu sebagian besar dari flavon memiliki gugus hidroksil pada posisi 5. Contoh senyawa golongan dari flavon yaitu luteolin, apigenin, dan baicalein. Bagian tanaman yang menghasilkan flavon terbesar yaitu ada pada bagian daun, buah dan Bunga dalam bentuk glikosida. Sedangkan contoh tanaman penghasil flavon yaitu seledri, daun mint dan ginkgo biloba.¹²



Gambar II.2 Struktur Kerangka Flavon¹³

2.1.2 Flavanon

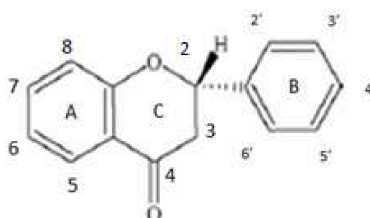
Flavanon yaitu jenis flavonoid yang sering ditemukan pada tanaman jeruk anggur dan lemon. Struktur yang dimiliki dari flavanone yaitu ikatan rangkap diantara posisi 2 dan 3 dan memiliki cincin C yang saturasi. Contoh senyawa dari flavanone yaitu narigenin, narigin, dan pinocembrin.¹⁴



Gambar II.3 Struktur Kerangka Flavanon¹³

2.1.3 Flavonol

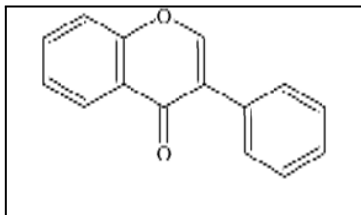
Flavonol yaitu flavonoid yang memiliki gugus keton pada strukturnya. Selain itu gugus aromatic pada cincin B merupakan bagian yang bertanggungjawab memberikan aktivitas biologi. Senyawa flavonol sering ditemukan pada tanaman apel, tomat, anggur dan bawang. Sedangkan untuk contoh senyawa dari flavonol yaitu kuersetin, myricetin dan galangin.¹²



Gambar II.4 Struktur Kerangka Flavonol¹³

2.1.4 Isoflavonoid

Isoflavonoid merupakan senyawa flavonoid yang memiliki struktur yang hampir mirip dengan flavon. Hal ini karena isoflavonoid memiliki 2 cincin benzene yang terikat pada cincin piran heterosiklik, tetapi orientasi dari cincin benzene B nya berbeda. Isoflavonoid banyak ditemukan pada tanaman kacang-kacangan atau leguminosa. Contoh senyawa dari isoflavonoid yaitu genistein, daidzein dan genistin.¹⁵

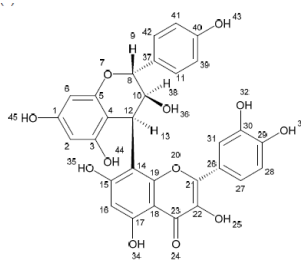


Gambar II.5 Struktur Kerangka Isoflavonoid¹³

2.1.5 Biflavonoid

Biflavonoid yaitu jenis flavonoid yang memiliki dua struktur umum flavonoid. Contoh senyawa dari biflavonoid yaitu hinokiflavone dan amentoflavone. Biflavonoid biasa ditemukan pada bagian akar dan daun, salah satu tanaman penghasil biflavonoid yaitu *Anacardium occidentale L.*

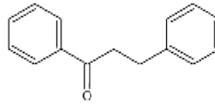
16,17



Gambar II.6 Struktur Kerangka Biflavonoid¹⁸

2.1.6 Dehidroflavonol

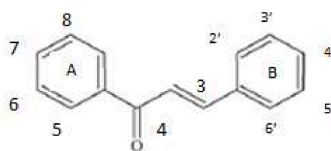
Dehidroflavonol merupakan flavonoid yang bisa ditemukan dari tanaman *Pinus*, *Eucalyptus* dan *Rhus*. Contoh senyawa dehidroflavonol yaitu fustin, taxifolin, aromadendrin dan pinobanskin.¹⁹



Gambar II.7 Struktur Kerangka Dehidroflavonoid¹³

2.1.7 Khalkon

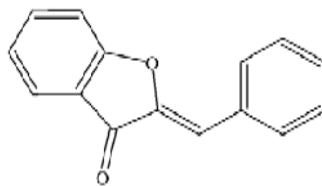
Khalkon merupakan flavonoid yang biasa ditemukan pada buah dan sayuran. Khalkon biasa disebut flavonoid rantai terbuka karena tidak memiliki cincin C. contoh senyawa khalkon yaitu arbutin, phloretin dan khalkonarigenin. Sumber tanaman yang menghasilkan senyawa khalkon yaitu tomat, pir dan stroberi.¹⁴



Gambar II.8 Struktur Kerangka Khalkon¹³

2.1.8 Auron

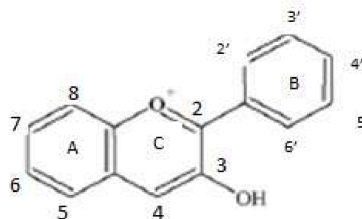
Auron merupakan senyawa flavonoid yang biasa ditemukan pada bunga dan briofita. Auron berperan sebagai pigmen kuning emas. Contoh senyawa flavonoid dari subkelas auron yaitu maritimetin dan leptosidin.²⁰



Gambar II.4 Struktur Kerangka Flavonol¹³

2.1.9 Antosianin

Antosianin yaitu senyawa flavonoid yang berperan sebagai pigmen yang memberi warna pada tumbuhan. Senyawa antosianin banyak ditemukan pada kacang-kacangan, kakao, sereal, madu dan teh. Contoh senyawa antosianin yaitu *cyanidin*, *malvidin* dan *delphinidin*.¹²



Gambar II.10 Struktur Kerangka Antosianin¹³

2.2 *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS-CoV-2)*

Sejak desember 2019 kasus Covid-19 pertama ditemukan. Penyakit ini menjadi pusat perhatian dunia setelah penyebaran pada negara lain dengan cepat. *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2* (SARS-CoV-2) merupakan virus yang menyebabkan wabah penyakit disepanjang tahun 2020.¹

Karakteristik dari Coronavirus yaitu mempunyai *spike* di permukaan, ssRNA, dilindungi protein membrane, Envelope Protein dan pada bagian inti terdapat nukleo protein. Coronavirus ini mempunyai subfamili α , β , γ dan δ . Tetapi yang biasa menginfeksi manusia yaitu dari subfamili α dan β . Salah satu penyakit yang telah diketahui yaitu MERS-Cov dan SARS-Cov.²¹

Sebelumnya SARS-Cov ini memiliki reservoir pada kelelawar, tetapi kemampuan dari mutasi Coronavirus ini menyebabkan dapat bermutasi pada hewan lain yang disebut dengan Host Intermediet sehingga pada akhirnya dapat mengalami zoonosis yaitu penularan antara hewan dan manusia.²² Sedangkan penyebaran antara manusia terjadi melalui *droplet*. *Droplet* akan memasuki sistem pernapasan dan masuk ke alveolus sehingga coronavirus akan menempel pada pneumosit tipe 2.²³

Pneumonsit tipe 2 memiliki reseptor spesifik yaitu *Angiotensin converting enzyme 2* (ACE2) yang akan berikatan dengan *spike* protein dari SARS-Cov-2. Ikatan dari ACE2 dengan *spike* protein dari SARS

Cov-2 ini akan terjadi endositosis virus ke sel host. Setelah itu SARS-Cov-2 akan mengeluarkan materi genetiknya yaitu ssRNA ke sitoplasma. Kemudian akan di translasi di ribosom sehingga menjadi polipeptida. Polipeptida ini akan dipecah oleh protease untuk membentuk protein spesifik dalam pembentukan struktur virus yaitu envelope dan *spike*. Karena SARS-Cov-2 ini memiliki sense ssRNA yang positif maka dapat melakukan replikasi oleh enzim lain yaitu RNA dependen dan RNA polymerase, sehingga dapat menghasilkan ssRNA yang lebih banyak. Kombinasi dari ssRNA baru dan hasil dari pemecahan polipeptida yaitu struktur virus *Envelope* dan *Spike* dapat membentuk SARS-Cov-2 yang baru yang sudah siap eksositosis dan bereplikasi di sel lain.²⁴

2.3 Reseptor

Reseptor merupakan suatu makromolekul spesifik yang berperan penting dalam penemuan dan perkembangan obat baru. Reseptor berperan sebagai target kerja suatu senyawa uji sehingga menimbulkan interaksi molekul. Interaksi yang terjadi harus bersifat reversibel sehingga mampu menimbulkan respon yang disebut agonis. Sedangkan apabila tidak mampu menimbulkan respon maka dikatakan antagonis dari suatu senyawa uji.²⁵

Angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) merupakan reseptor dari SARS-Cov-2. ACE2 dalam tubuh berada pada bagian paru-paru, lambung dan usus. ACE2 menjadi target dari SARS Cov-2 dengan cara di ikat oleh bagian dari struktur SARS Cov-2 yaitu *Spike protease*.²⁶

Bagian dari struktur SARS Cov-2 yang lain akan mulai bekerja setelah ACE2 di ikat oleh *Spike*. Seperti Main Protease akan bekerja pada bagian lebih dalam yaitu di ribosom dalam proses replikasi virus baru.²¹

2.4 Interaksi Ikatan Kimia dan Aktivitas Biologis

Suatu senyawa akan memberikan aktivitas biologis apabila terjadi interaksi antar molekul. Interaksi yang dihasilkan harus bersifat reversible agar senyawa mampu memberikan respon atau aktivitas biologis.²⁵

Interaksi ikatan kimia terhadap aktivitas biologis terdiri dari :

2.4.1 Ikatan Kovalen

Ikatan kovalen dalam suatu interaksi kimia antara reseptor dan senyawa sangat dihindari. Adanya interaksi ikatan kovalen ini berpotensi toksisitas pada obat yang akan dihasilkan. Tetapi beberapa reseptor tertentu membutuhkan interaksi ikatan kovalen. Reseptor yang membutuhkan ikatan kovalen yaitu reseptor target yang bersifat eksogen. Contoh reseptor yang bersifat eksogen yaitu bakteri, virus, parasit atau tumor.²⁷

2.4.2 Ikatan Ionik

Ikatan ionik merupakan ikatan yang sangat penting dalam aktivitas senyawa yang terionkan. Ikatan ionik memiliki keelektronegatifan yang kuat. Ikatan ionik terjadi karena adanya muatan yang berlawanan.²⁷

2.4.3 Ikatan Dipol-Dipol

Ikatan dipol-dipol terjadi karena dua atom yang memiliki keelektronegatifan yang berbeda. Ikatan dipol-dipol berperan dalam interaksi molekul yang memiliki muatan terpisah antara atom dan gugus fungsi.²⁷

2.4.4 Ikatan Hidrogen

Ikatan Hidrogen merupakan ikatan yang sangat penting dalam interaksi antara senyawa dan reseptor. Ikatan hydrogen berperan untuk menstabilkan struktur.²⁷

2.4.5 Ikatan Hidrofobik

Ikatan hidrofobik terjadi karena adanya interaksi non polar dari kedua sisi antara obat dan reseptor. Ikatan hidrofobik berperan dalam menstabilkan molekul air yang digunakan dalam isolasi

struktur non polar agar tidak ada kontak antara molekul air dengan daerah non polar.²⁷

2.4.6 Ikatan Van Der Waals

Ikatan van der waals terjadi berdasarkan polarisabilitas molekul. Ikatan van der waals bersifat lemah yang disebabkan karena kekuatan Tarik menarik antara molekul yang tidak bermuatan.²⁷

2.5 Lipinski's Rule of Five

Analisis fisikokimia yaitu salah satu metode yang dilakukan dalam skrining virtual senyawa yang akan digunakan dalam penemuan dan pengembangan obat baru. Analisis fisikokimia ini dilakukan berdasarkan aturan *Lipinski's Rule of Five*. Pada *Lipinski's Rule of Five* ditetapkan lima aturan untuk memenuhi prediksi kesamaan sifat fisikokimia senyawa uji dengan obat oral. Nilai-nilai yang harus diperhatikan dalam *Lipinski's Rule of Five* yaitu berat molekul suatu senyawa harus <500 g/mol, nilai Log P <5, donor ikatan hidrogen <5 dan akseptor hidrogen <10.(28) Apabila suatu senyawa sudah memenuhi aturan tersebut maka akan meningkatkan sifat farmakokinetik senyawa dalam tubuh.²⁹

2.6 Prediksi Farmakokinetik dan Toksisitas

Sifat farmakokinetik obat yang buruk menjadi suatu masalah toksik dalam pengembangan obat baru. Prediksi farmakokinetik dan toksisitas ditujukan untuk memprediksi keadaan senyawa dalam tubuh. Prediksi yang dilakukan yaitu prediksi proses absorpsi, distribusi juga toksisitas senyawa yang digunakan dalam pemilihan kandidat obat baru. Prediksi ini juga berguna dalam skrining virtual senyawa yang akan dilakukan dalam penambatan molekul.³⁰

2.7 Molecular Docking

Penelitian secara *in silico* di era modern ini telah banyak dilakukan guna mempersingkat pembuatan dan pengembangan obat baru. Salah satu metode yang digunakan dalam studi *in silico* yaitu dengan metode *Molecular Docking*. *Molecular Docking* ditujukan untuk memprediksi interaksi molekul antara protein target dengan senyawa uji yang disebut ligan. *Molecular Docking* ditujukan untuk skrining virtual senyawa yang akan diuji secara *in vivo* dan *in vitro* sehingga mampu memangkas waktu dan biaya yang dikeluarkan.³¹

Molecular Docking memiliki prinsip yaitu menambatkan suatu ligan yang merupakan senyawa uji yang akan dijadikan kandidat obat pada sisi aktif makromolekul target. Penambatan tersebut akan

memberikan hasil berupa interaksi yang terjadi antara ligan dengan makromolekul untuk diprediksi aktivitas biologisnya.³²

Adapun metode dalam *Molecular Docking* yaitu :

a. Penambatan Rigid Ligand dan Rigid Makromolekul

Penambatan ligan dan molekul pada metode ini dibuat kaku, sehingga ruang gerak hanya sebatas tiga derajat kebebasan translasi dan tiga rotasi. Tetapi fleksibilitas ligan dapat terjadi dengan kemungkinan tingkat atom-atom yang tumpang tindih antara protein dan ligan.³²

b. Penambatan Fleksibel Ligand dan Rigid Makromolekul

Pada metode ini ligan dibuat fleksibel sedangkan makromolekul dibuat kaku. Metode ini dikenal dengan sebutan semi rigid, ligan dan makromolekul saling menyesuaikan konformasi untuk memperoleh ikatan kompleks dengan energy minum yang terbaik.³²

c. Penambatan Fleksibel Ligand dan Fleksibel Makromolekul

Penambatan ligan dan makromolekul dibuat fleksibel sehingga mencari posisi pengikatan terbaik. Salah satu program yang

menunnggunakan metode simultan untuk penambatan yang saling fleksibel yaitu *AutoDock Tools*[®].³²

2.8 Program Komputasi

2.8.1 *Protein Data Bank*

Protein Data Bank (PDB) (<http://www.pdb.org>) merupakan situs online berisi data struktur makromolekul dari hasil eksperimen melalui teknik biofisik. Struktur makromolekul tersebut akan digunakan sebagai reseptor target dalam metode komputasi.³³

2.8.2 *PubChem*

PubChem (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) merupakan situs online yang berisi informasi berbagai zat dan senyawa kimia juga aktivitas biologisnya.³¹

2.8.3 *Discovery Studio Visualizer*[®]

Discovery Studio Visualizer[®] merupakan perangkat lunak yang digunakan untuk mempersiapkan reseptor yang diunduh dari PDB untuk dipisahkan antara reseptor dengan ligan alaminya.³⁴

2.8.4 *AutoDock Tools*[®]

AutoDock Tools[®] merupakan perangkat lunak yang digunakan dalam komputasi untuk menambatkan ligan pada reseptor sehingga menghasilkan dugaan konformasi dan energy bebas dari interaksi yang dihasilkan.³³

2.8.5 *SwissDock*

SwissDock merupakan tempat untuk melakukan simulasi penambatan protein dan ligan secara intuitif dan elegan. *SwissDock* melakukan simulasi penambatan dengan cara mengunggah struktur protein atau reseptor juga ligan kemudian diberikan hasil yang akan dikirim melalui email.³⁵

2.8.6 *Pre-ADMET*

Pre-ADMET (<https://preadmet.bmdrc.kr/>) merupakan situs online yang digunakan untuk memprediksi sifat farmakokinetik, toksisitas, dan kemiripan obat dari suatu senyawa.³⁶

2.8.7 *Toxtree*[®]

Toxtree[®] merupakan perangkat lunak yang digunakan dalam komputasi yang berfungsi untuk memprediksi toksisitas dari suatu senyawa.³⁷

2.8.8 PASS Online

PASS Online merupakan situs online yang digunakan untuk menskrining senyawa secara virtual dengan berdasarkan pendekatan aktivitas biologis yang telah dilakukan.³⁸

2.8.9 ChemDraw®

ChemDraw® merupakan perangkat lunak yang digunakan dalam komputasi untuk menggambar stuktur kimia dan berguna sebagai alat untuk mengoptimasi senyawa yang akan digunakan dalam uji in silico Molecular Docking.³²

2.8.10 UCSF Chimera®

UCSF Chimera® merupakan perangkat lunak yang digunakan untuk membuka, mengedit, dan mengubah format berkas yang di hasilkan oleh perangkat lunak lain.³⁵

BAB III

METODE PENELITIAN

Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu dengan metode *In Silico*. *In Silico* merupakan salah satu metode mengujian pada senyawa yang digunakan dalam pengembangan dan penemuan obat baru menggunakan komputasi. *Computer-Aided Drug Desain* (CADD) adalah sebutan dari metode kimia komputasi untuk memprediksi struktur yang digunakan dalam mendesain obat dengan bantuan perangkat lunak menggunakan persamaan matematika. *Computer-Aided Drug Desain* (CADD) yang digunakan pada penelitian ini yaitu *molecular docking* atau penambatan molekul.³¹

Tahapan-tahapan dalam penelitian ini diawali dengan mengumpulkan senyawa berdasarkan pustaka dan menskrining secara virtual menggunakan situs *PASS Online* (<http://pharmaexpert.ru/passonline/>).³⁸ Selanjutnya menganalisis senyawa senyawa yang digunakan. Analisis senyawa meliputi prediksi *druglikeness*, Prediksi farmakokinetik (absorbs dan distribusi) serta prediksi toksisitas dari senyawa flavonoid. Pertama prediksi *druglikeness* dilakukan dengan melihat parameter berdasarkan aturan *Lipinski's Rule of Five*. Parameter yang dilihat meliputi bobot molekul senyawa <500 g/mol, koefisien partisi (Log P <5), donor ikatan hidrogen <5 dan akseptor ikatan hidrogen <10.⁽³⁰⁾ Melihat Senyawa yang kita gunakan sesuai tidaknya dengan *Lipinski's Rule of Five* dapat

dilakukan melalui situs *online* (<http://scfbio-iitd.res.in>).⁴⁰ Analisis kedua dilakukan prediksi farmakokinetik yang bertujuan untuk pengujian absorpsi berdasarkan nilai permeabilitas *Human Intestinal Absorption* (HIA) dan sel *Human colon adenocarcinoma* (CaCO2), pengujian distribusi berdasarkan nilai dari *Plasma Protein Binding*. Analisis farmakokinetik ini menggunakan PreADMET secara *online* (<http://preadmet.bmdrc.org/>).³⁶ Selanjutnya prediksi toksisitas menggunakan aplikasi *Toxtree*[®], prediksi ini bertujuan untuk pengujian memprediksi toksisitas senyawa dalam tubuh dengan melihat sifat mutagenik dan karsinogenik.³⁷

Tahapan utama dalam penelitian ini yaitu penambatan molekul atau biasa disebut *Molecular Docking*. Pada tahapan ini menggunakan beberapa aplikasi, pertama menggunakan aplikasi *Discovery Studio Visualizer*[®] untuk melakukan preparasi makromolekul.³⁴ Preparasi makromolekul memiliki tujuan untuk memisahkan reseptor dengan ligan juga residu sehingga mejadi dua file berbeda dalam bentuk protein data bank (.pdb). Kemudian menggunakan aplikasi *AutoDock Tools*[®], pada aplikasi ini dilakukan dua tahapan yaitu validasi metode penambatan dan penambatan senyawa turunan flavonoid yang diujikan. Pada tahapan validasi metode penambatan yaitu tahapan menambatan kembali (*re-docking*) ligan dan reseptor yang telah dipisahkan pada tahapan preprasi. Tujuannya yaitu untuk menentukan apakah metode yang digunakan valid dan sesuai dengan persyaratan dilihat dari nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*) $\leq 2 \text{ \AA}$, untuk melihat nilai tersebut dapat dibaca melalui aplikasi *Notepad*[®].³³

Sebelum penambatan senyawa turunan flavonoid, harus mengunduh struktur senyawa uji pada situs *PubChem* untuk dioptimasi menggunakan aplikasi *ChemDraw Professional 15.0*[®], sehingga dihasilkan ligan uji dalam bentuk file (.mol2).³⁹ Terakhir dilakukan penambatan ligan uji hasil optimasi dengan reseptor yang telah dipisahkan pada preparasi menggunakan situs *online SwissDock* (<http://.swissdock.ch>). Hasil akhir dari penelitian ini berupa nilai ΔG juga divisualisasi menggunakan *UCSF Chimera*[®].³⁵

BAB IV

PENELITIAN

4.1 Alat

Alat uji dalam penelitian ini menggunakan laptop Lenovo MD A9-9425 RADEON R5, 5 COMPUTE CORES 2C+3G, (2 CPUs), ~3.1GHz, RAM (*Random Acces Memory*) 4.00GB, Windows 10 Pro 64-bit dengan sistem operasi perangkat lunak menggunakan aplikasi *Discovery Studio Visualizer*[®], *UCSF Chimera*[®], *AutoDock Tools*[®], *ChemDraw Professional 15.0*[®], *Notepad*[®], situs online *SwissDock* (<http://swissdock.ch>), *Toxtree 3.1.0*[®], situs online *Lipinski's Rule of Five* (<http://scfbio-iitd.res.in>), *PreADMET* (<http://preadmet.bmdrc.org/>), *Protein Data Bank* (PDB) dan *PubChem* (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>).

4.2 Bahan

4.2.1 Struktur Tiga Dimensi Reseptor

Reseptor yang digunakan diunduh dari situs *Protein Data Bank* (PDB) (<http://www.rcsb.org/>). Reseptor yang dipilih merupakan struktur SARS CoV-2 yang kompleks dengan ligan alami dengan jenis protein NSP3 (ID PDB; 5RSM, 5TR0, 5RU9) dan *Main Protease* (ID PDB; 5RL4, 5R7Y, 7BUY). Reseptor yang digunakan merupakan jenis reseptor yang tidak bermutasi, memiliki resolusi < 2 Å dan diunduh dalam format (.pdb).⁴¹

4.2.2 Struktur Tiga Dimensi Senyawa Uji

Struktur senyawa flavonoid yang dipilih antara lain *chrysin*, *baicalein*, *apigenin*, *akasetin*, *scutelarein*, *hispidulin*, *luteolin*, *chryseoriol*, *diosmetin*, *trictetin*, *trisin*, *tangeretin*, *wogonin*, *rhoifolin*, *galangin*, *fisetin*, *kaemferol*, *kaemferide*, *robinetin*, *herbacetin*, *quercetin*, *rhamnetin*, *isorhamnetin*, *myricetin*, *querstagenin*, *gossypetin*, *isoquercetin*, *rhamnazin*, *rutin*, *morin*, *pachypodol*, *apigenidin*, *luteolinidin*, *pelargonidin*, *scianidin*, *peonidin*, *delpinifin*, *malvidin*, *kation delpinidin*, *daidzein*, *formononetin*, *genistein*, *biokanin A*, *orobol*, *tectorigenin*, *baptigenin*, *liquiritigenin*, *pinocembrin*, *narigenin*, *sakuranetin*, *eriodictyol*, *hesperetin*, *homeriodictyol*, *parietin*, *epigallocatechin*, *catechin*, *narigin*, *pinobanskin*, *aromadendrin*, *fustin*, *taxsifolin*, *aghatiflavone*, *cupresuflavone*, *amentoflavone*, *ginkgetin*, *robustaflavone*, *hinokiflavone*, *ochnaflavone*, *isoliquiritigenin*, *khalkonarigenin*, *butein*, *okanin*, *sulfuretin*, *aureusidin*, *maritimetin* dan *leptosidin* yang diunduh pada *Pubchem*. Selanjutnya digambar menggunakan *ChemDraw Professional 15.0*[®].^{7,11}

4.3 Prosedur Penelitian

4.3.1 Skrining Virtual Senyawa berdasarkan Pendekatan Antivirus

Tahapan paling dasar dalam penelitian yaitu dengan mengumpulkan data senyawa yang akan diuji kemudian dilakukan skrining berdasarkan pendekatan aktivitas antivirus. Skrining dilakukan menggunakan situs PASS online (<http://pharmaexpert.ru/passonline/>).³⁸

4.3.2 Prediksi *Druglikeness*

Prediksi *Druglikeness* dilakukan melalui situs *online Lipinski's Rule of Five* (<http://scfbio-iitd.res.in>) untuk memprediksi senyawa memiliki sifat-sifat mirip obat berdasarkan parameter sifat fisikokimia dari senyawa yang digunakan. Parameter ini meliputi nilai dari bobot molekul senyawa <500 g/mol, koefisien partisi (Log P <5), donor ikatan hidrogen <5 dan akseptor ikatan hidrogen <10.⁴⁰

4.3.3 Prediksi Farmakokinetik (Absorpsi dan Distribusi)

Analisis Farmakokinetik dengan melihat nilai nilai permeabilitas *Human Intestinal Absorption* (HIA) dan sel *Human colon adenocarcinoma* (CaCO₂) untuk pengujian absorpsi, sedangkan pengujian distribusi dilihat berdasarkan nilai dari *Plasma Protein Binding*. Pengujian prediksi farmakokinetik menggunakan situs online PreADMET (<http://preadmet.bmdrc.org/>).³⁶

4.3.4 *Molecular Docking*

i. Penyiapan Dan Preparasi Makromolekul

Penyiapan dan preparasi makromolekul diawali dengan pengunduhan struktur makromolekul yang kompleks dengan ligan alami pada situs *online* protein data bank (PDB). Struktur yang dipilih memiliki nilai resolusi $<2\text{\AA}$ diunduh dalam bentuk file (.pdb). Struktur makromolekul kompleks yang telah diunduh dipreparasi menggunakan aplikasi *Discovery Studio Visualizer*[®].

Preparasi makromolekul dilakukan dengan pemisahan struktur makromolekul kompleks dengan ligan alami, juga dibersihkan dari residu lain seperti air, sehingga dihasilkan file reseptor dan ligan dalam bentuk file (.pdb). Kedua file ini digunakan untuk validasi metode yang digunakan.³⁴

ii. Validasi Metode (*re-docking*)

Validasi metode dilakukan pada aplikasi *AutoDock Tools*[®] yaitu *mendocking* kembali (*re-docking*) reseptor dan ligan alami yang telah dipreparasi tujuannya untuk memastikan settingan dan *software* yang digunakan sudah tepat. Sebelum menambatkan kembali, ligan dilakukan penambahan *gasteiger charge*, dan penghilangan atom hidrogen. Sedangkan pada makromolekul dilakukan penambahan *kollman charge* dan penambahan *hydrogen polar*. Sehingga di hasilkan kedua file dalam bentuk (.pdbqt).

Kedua file reseptor (.pdbqt) dan ligan (.pdbqt) diinput kembali dalam pada *AutoDock Tools*[®] kemudian dilakukan pengaturan grid box

sehingga dihasilkan file dalam bentuk (.gpf), selain itu dilakukan pengaturan pada parameter *docking* sehingga dihasilkan file dalam bentuk (.dpf). Validasi *docking* dilakukan pertama dengan memasukan file Autogrid4 dengan (.gpf), selanjutnya autodock4 dengan (.dpf). sehingga dihasilkan file dalam bentuk (.dlg) yang memuat nilai RMSD, jika nilai $\text{RMSD} \leq 2 \text{ \AA}$ maka software yang digunakan telah valid.³⁹

iii. Optimasi Ligan

Langkah pertama dalam optimasi ligan yaitu mengunduh struktur ligan uji dari situs *online Pubchem*. Struktur yang diunduh dalam bentuk struktur 2D diubah menjadi struktur 3D pada aplikasi *ChemDraw Professional 15.0[®]* dalam ukuran energi yang minimum, kemudian disimpan dalam bentuk file (.pdb). Struktur ligan senyawa uji 3D dalam bentuk file (.pdb) diinput pada aplikasi *AutoDock Tools[®]*, kemudian dilakukan hal yang sama seperti pada ligan uji yaitu ligan dilakukan penambahan *gasteiger charge*, dan penghilangan atom hydrogen, sehingga dihasilkan file ligan uji dalam bentuk (.pdbqt).³⁹

iv. Simulasi *Docking*

Simulasi *docking* ini merupakan tahapan utama dalam penelitian ini. Simulasi *docking* menggunakan situs online *SwissDock* (<http://swissdock.ch>). Tahap pertama yang dilakukan yaitu dengan menginput ligan uji yang telah dioptimasi dalam bentuk file (.mol2) dengan reseptor yang telah dipreparasi diawal dalam bentuk file (.pdb). Selanjutnya

dilakukan pengaturan gridbox, nilai gridbox yang atur harus sesuai dengan nilai gridbox pada saat validasi metode, lalu lakukan *docking*. Simulasi *docking* yang telah selesai akan dikirim melalui *E-mail* yang dicantumkan.³⁵

v. Analisis Dan Visualisasi Hasil *Docking*

Analisis hasil *docking* yang dilakukan yaitu dengan membandingkan nilai ΔG dari hasil penambatan ligan alami dan ligan uji terhadap reseptor target. Visualisasi hasil docking dilihat menggunakan bantuan aplikasi *UCSF chimera*[®].³⁵

DAFTAR PUSTAKA

1. Susilo A, Rumende CM, Pitoyo CW, Santoso WD, Yulianti M, Sinto R, et al. Coronavirus Disease 2019 : Tinjauan Literatur Terkini Coronavirus Disease 2019 : Review of Current Literatures. *J Penyakit Dalam Indones.* 2020;7(1):45–67.
2. Cavasotto CN, Di JI. In silico Drug Repurposing for COVID-19 : Targeting SARS- CoV-2 Proteins through Docking and Consensus Ranking. *Mol Inform.* 2020;2000115:1–9.
3. Karo MB. Perilaku Hidup Bersih dan Sehat (PHBS) Strategi Pencegahan Penyebaran Virus Covid-19. *Pap Present Pros Semin Nas Hardik.* 2012;1–4.
4. Laksono S, Setianto B, Surya SP. Angiotensin converting enzyme 2 (ACE2), COVID-19 and cardiac injury : what cardiologist should know. *J Med Sci.* 2020;52(3):105–10.
5. Hardy FR, Program S, Masyarakat K, Kesehatan FI. Herd Immunity Tantangan New Normal Era Pandemi Covid-19. *J Ilm Kesehat Masy.* 2020;12:55.
6. Kramy P. Terapi Potensial Terkini C orona Virus Disease 2019. *Cermin Dunia Kedokt.* 2020;47(4):297–8.
7. Zakaryan H, Arabyan E, Oo A, Zandi K. Flavonoids : promising natural compounds against viral infections. *Arch Virol.* 2017;162(9):2539–51.

8. Khoirunnisa I, Sumiwi SA, Farmasi F, Padjadjaran U, Farmakologi A.
Review Artikel: Peran Flavonoid Pada Berbagai Aktivitas Farmakologi.
Farmaka. 2019;17(2):131–42.
9. Fakih TM. Dermaseptin-Based Antiviral Peptides to Prevent COVID-19
through In Silico Molecular Docking Studies against SARS-CoV-2 Spike
Protein. Pharm Sci Res. 2020;7(Special Issue on COVID-19):65–70.
10. Ghildiyal R, Prakash V, Chaudhary VK. Phytochemicals as Antiviral
Agents : Recent Updates. Springer Nat Singapore. 2020;279–95.
11. Arifin B, Ibrahim S. Struktur , Bioaktivitas Dan Antioksidan Flavonoid
Structure, Bioactivity And Antioxidan Of Flavonoid. J Zahrah.
2018;6(1):21–9.
12. Alfaridz F, Amalia R. Klasifikasi dan Aktivitas Farmakologi dari Senyawa
Aktif Flavonoid. Farmaka. 2018;16(3):1–9.
13. Cushnie TPT, Lamb AJ. Antimicrobial activity of flavonoids. Int J
Antimicrob Agents. 2005;26(5):343–56.
14. Panche AN, Diwan AD, Chandra SR. Flavonoids: An overview. J Nutr Sci.
2016;5.
15. Astuti S, Pengajar S, Teknologi J, Pertanian I, Pertanian F, Lampung U, et
al. Isoflavon Kedelai Dan Potensinya Sebagai Penangkap Radikal Bebas.
2008;13(2):126–36.
16. de Freitas CS, Rocha MEN, Sacramento CQ, Marttorelli A, Ferreira AC,
Rocha N, et al. Agathisflavone, a Biflavonoid from Anacardium

- occidentale L., Inhibits Influenza Virus Neuraminidase. *Curr Top Med Chem.* 2019;20(2):111–20.
17. Krauze-Baranowska M, Pobłocka L, El Hela AA. Biflavones from *Chamaecyparis obtusa*. *Zeitschrift fur Naturforsch - Sect C J Biosci.* 2005;60(9–10):679–85.
 18. Anguiano-Sevilla LA, Lugo-Cervantes E, Ordaz-Pichardo C, Rosas-Trigueros JL, Jaramillo-Flores ME. Apoptosis induction of agave lechuguilla torrey extract on human lung adenocarcinoma cells (SK-LU-1). *Int J Mol Sci.* 2018;19(12).
 19. Parwata IMO. Kimia Organik Bahan Alam FLAVONOID. Diktat / Bahan Ajar [Internet]. 2016;1–51. Available from:
https://simdos.unud.ac.id/uploads/file_pendidikan_1_dir/c0c585d54a388056ea08899533164330.pdf
 20. Boucherle B, Peuchmaur M, Boumendjel A, Haudecoeur R. Occurrences, biosynthesis and properties of auronones as high-end evolutionary products. *Phytochemistry.* 2017;142:92–111.
 21. Pillaiyar T, Meenakshisundaram S, Manickam M. Recent discovery and development of inhibitors targeting coronaviruses. *Drug Discov Today* [Internet]. 2020;25(4):668–88. Available from:
<https://doi.org/10.1016/j.drudis.2020.01.015>
 22. Jin YH, Cai L, Cheng ZS, Cheng H, Deng T, Fan YP, et al. A rapid advice guideline for the diagnosis and treatment of 2019 novel coronavirus

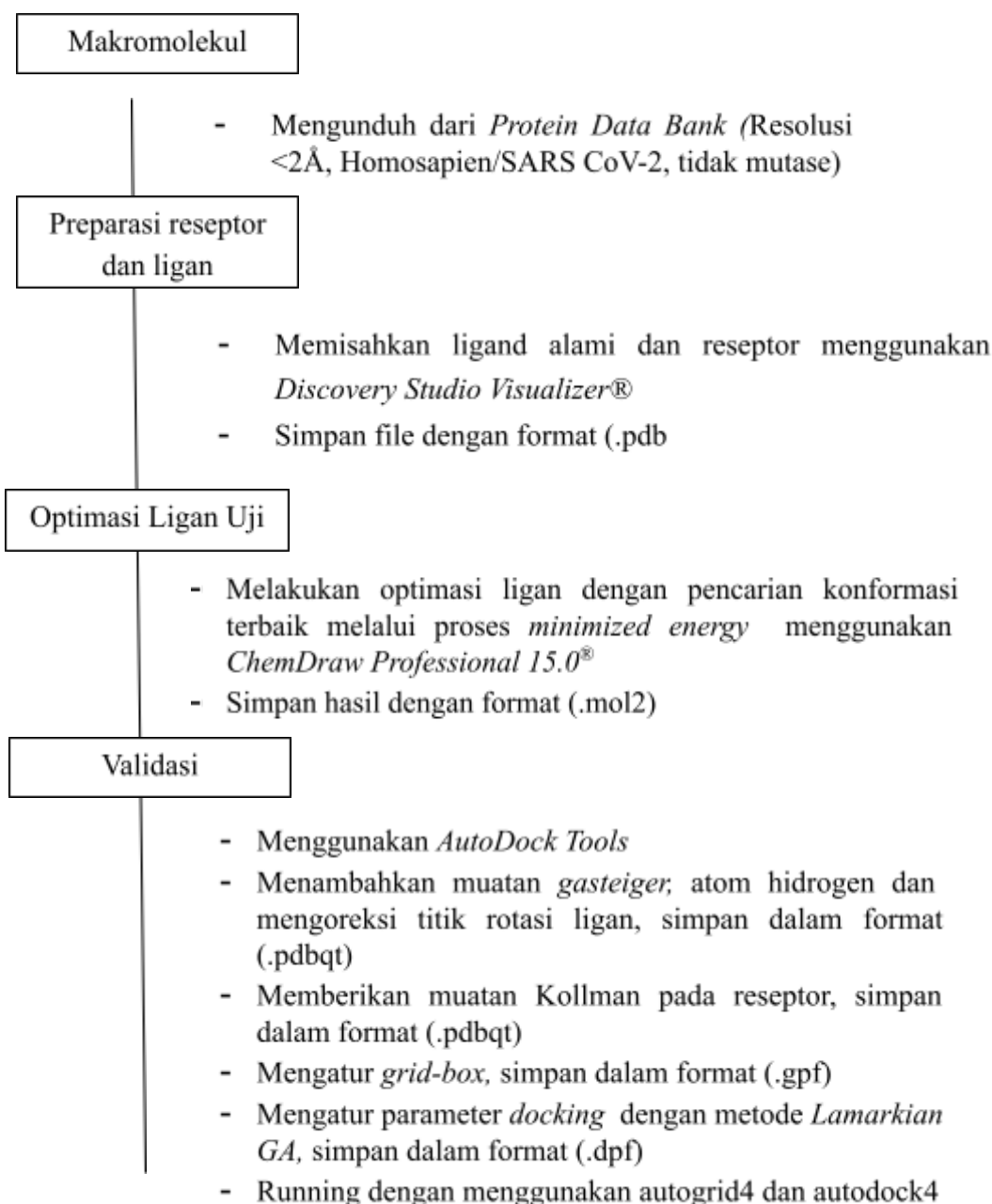
- (2019-nCoV) infected pneumonia (standard version). *Med J Chinese People's Lib Army*. 2020;45(1):1–20.
23. Martines RB, Ritter JM, Matkovic E, Gary J, Bollweg BC, Bullock H, et al. Pathology and pathogenesis of SARS-CoV-2 associated with fatal coronavirus disease, united states. *Emerg Infect Dis*. 2020;26(9):2005–15.
 24. Rokni M, Ghasemi V, Tavakoli Z. Immune responses and pathogenesis of SARS-CoV-2 during an outbreak in Iran: Comparison with SARS and MERS. *Rev Med Virol*. 2020;30(3).
 25. Basuki SA, Melinda N. Prediksi Mekanisme Kerja Obat Terhadap Reseptornya Secara in Silico(Studi pada Antibiotika Sefotaksim). *Res Rep [Internet]*. 2017;0(0):89–94. Available from:
<http://research-report.umm.ac.id/index.php/research-report/article/view/1367>
 26. Lan J, Ge J, Yu J, Shan S, Zhou H, Fan S, et al. Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor. *Nature [Internet]*. 2020;581(7807):215–20. Available from:
<http://dx.doi.org/10.1038/s41586-020-2180-5>
 27. Rollando, S.Farm., M.Sc. A. Pengantar Kimia Medisinal. CV Seribu Bintang.
 28. Benet LZ, Hosey CM, Ursu O, Oprea TI. BDDCS, the Rule of 5 and Drugability Leslie. *Physiol Behav*. 2017;176(3):139–48.
 29. Chen X, Li H, Tian L, Li Q, Luo J, Zhang Y. Analysis of the

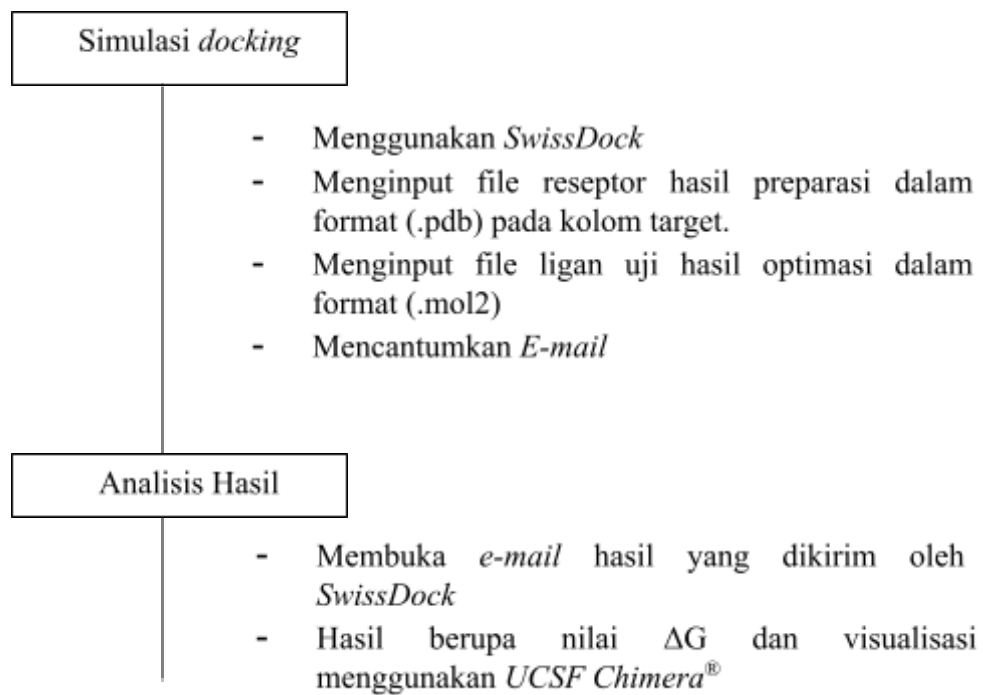
- Physicochemical Properties of Acaricides Based on Lipinski's Rule of Five. *J Comput Biol.* 2020;27(9):1397–406.
30. Alqahtani S. In silico ADME-Tox modeling: progress and prospects. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* [Internet]. 2017;13(11):1147–58. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/17425255.2017.1389897>
 31. Leelananda SP, Lindert S. Computational methods in drug discovery. *Beilstein J Org Chem.* 2016;12:2694–718.
 32. Meng X-Y, Zhang H-X, Mezei M, Cui M. Molecular Docking: A Powerful Approach for Structure-Based Drug Discovery. *Curr Comput Aided-Drug Des.* 2012;7(2):146–57.
 33. Pagadala NS, Syed K, Tuszynski J. Software for molecular docking: a review. *Biophys Rev* [Internet]. 2017;9(2):91–102. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s12551-016-0247-1>
 34. Wang Q, He J, Wu D, Wang J, Yan J, Li H. Interaction of α -cyperone with human serum albumin: Determination of the binding site by using Discovery Studio and via spectroscopic methods. *J Lumin.* 2015;164:81–5.
 35. Bitencourt-Ferreira G, de Azevedo WF. Docking with SwissDock. Vol. 2053, *Methods in Molecular Biology.* 2019. 189–202 p.
 36. Rashid M. Design, synthesis and ADMET prediction of bis-benzimidazole as anticancer agent. *Bioorg Chem* [Internet]. 2020;96(October 2019):103576. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.103576>

37. Nursamsiar, Toding AT, Awaluddin A. Studi In Silico Senyawa Turunan Analog Kalkon dan Pirimidin sebagai Antiinflamasi: Prediksi Absorpsi, Distribusi, dan Toksisitas. *Pharmacy*. 2016;13(01):92–100.
38. Lagunin A, Stepanchikova A, Filimonov D, Poroikov V. PASS: Prediction of activity spectra for biologically active substances. *Bioinformatics*. 2000;16(8):747–8.
39. Sharma N, Sharma M, Shakeel E, Jamal QMS, Kamal MA, Sayeed U, et al. Molecular Interaction and Computational Analytical Studies of Pinocembrin for its Antiangiogenic Potential Targeting VEGFR-2: A Persuader of Metastasis. *Med Chem (Los Angeles)*. 2018;14(6):626–40.
40. Lipinski CA. Lead- and drug-like compounds: The rule-of-five revolution. *Drug Discov Today Technol*. 2004;1(4):337–41.
41. Khaerunnisa S, Kurniawan H, Jember UM, Awaluddin R. Potential Inhibitor of COVID-19 Main Protease (Mpro) From Several Medicinal Potential Inhibitor of COVID-19 Main Protease (M pro) from Several Medicinal Plant Compounds by Molecular Docking Study. 2020;1–14.
42. Ivanov SM, Lagunin AA, Filimonov DA, Poroikov V V. Computer Prediction of Adverse Drug Effects on the Cardiovascular System. *Pharm Chem J*. 2018;52(9):758–62.

LAMPIRAN

ALUR PENELITIAN SIMULASI *MOLECULAR DOCKING*





Gambar V.1 Skema alur penelitian *molecular docking*