

**STUDI *IN SILICO* POTENSI ANTIVIRUS  
SENYAWA LIMONOID TANAMAN MIMBA (*Azadirachta indica* A. Juss.)  
TERHADAP RESEPTOR RdRp SARS-CoV-2 (7BV2)**

**SKRIPSI**

**Oleh :**

**MAHFIRANI AYUNINGRUM**

**NIM. 17930050**



**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2021**

**STUDI *IN SILICO* POTENSI ANTIVIRUS  
SENYAWA LIMONOID TANAMAN MIMBA (*Azadirachta indica* A. Juss.)  
TERHADAP RESEPTOR RdRp SARS-CoV-2 (7BV2)**

**SKRIPSI**

**Diajukan kepada:  
Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan  
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang  
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam  
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)**

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2021**

**STUDI *IN SILICO* POTENSI ANTIVIRUS  
SENYAWA LIMONOID TANAMAN MIMBA (*Azadirachta indica* A. Juss.)  
TERHADAP RESEPTOR RdRp SARS-CoV-2 (7BV2)**

**SKRIPSI**

Oleh :

**MAHFIRANI AYUNINGRUM**

**NIM. 17930050**

**Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji :**

**Tanggal : 3 Juni 2021**

**Pembimbing I**



**Prof. Dr. apt. Roihatul Muti'ah, M.Kes.**  
NIP. 19800203 200912 2 003

**Pembimbing II**



**apt. Yen Yen Ari Indrawijaya M.Farm.Klin.**  
NIP. 19930130 20180201 2 203

**Mengetahui,**

**Ketua Program Studi Farmasi**



**apt. Abdul Hakim, M.P.I., M.Farm**  
NIP. 19761214 200912 1 002

**STUDI *IN SILICO* POTENSI ANTIVIRUS  
SENYAWA LIMONOID TANAMAN MIMBA (*Azadirachta indica* A. Juss.)  
TERHADAP RESEPTOR RdRp SARS-CoV-2 (7BV2)**

**SKRIPSI**

Oleh :

**MAHFIRANI AYUNINGRUM**

**NIM. 17930050**

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan Dinyatakan  
Diterima sebagai Salah Satu Persyaratan untuk Memperoleh Gelar Sarjana  
Farmasi (S.Farm)**

**Tanggal : 9 Juli 2021**

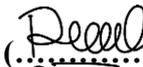
**Susunan Dewan Penguji**

**Tanda Tangan**

**Ketua Penguji : apt. Yen Yen Ari I., M.Farm. Klin.  
NIP. 19930130 20180201 2 203**

()

**Anggota Penguji : 1. Prof. Dr. apt. Roihatul Muti'ah, M.Kes.  
NIP. 19800203 200912 2 003  
2. Dr. Begum Fauziyah, S.Si., M.Farm.  
NIP. 198302628 200912 2 004  
3. Muhammad Amiruddin, Lc., M.Pd.  
NIP. 19780317 20180201 1 218**

()  
()  
()

**Mengesahkan,**

**Ketua Program Studi Farmasi**



**apt. Abdul Hakim, M.P.I., M.Farm.  
NIP. 19761214 200912 1 002**

## PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Mahfirani Ayuningrum  
NIM : 17930050  
Program Studi : Farmasi  
Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan  
Judul Penelitian : Studi *In Silico* Potensi Antivirus Senyawa Limonoid  
Tanaman Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss.) Terhadap  
Reseptor RdRp SARS-CoV-2 (7BV2)

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan maka saya menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 15 Juni 2021

Yang membuat pernyataan,



Mahfirani Ayuningrum

NIM. 17930500

## **MOTTO**

MY HEART IS AT EASE KNOWING THAT WHAT WAS MEANT  
FOR ME WILL NEVER MISS ME AND THAT WHAT MISSES  
ME WAS NEVER MEANT FOR ME

- UMAR IBN KHATTAB R.A -

*COMFORT IS THE THE ENEMY OF PROGRESS*

- The Greatest Showman, 2017 -

## LEMBAR PERSEMBAHAN

*Allahamdulillahirobbil'alamiin.*

Syukur saya panjatkan atas kehadiran Allah SWT. beserta Nabi Muhammad SAW. atas segala nikmat, rahmat dan hidayahNya yang tidak terhingga hingga hamba mampu berproses dan menuntut ilmu serta menyelesaikannya dengan baik .

Dengan segala kerendahan dan ketulusan hati, karya sederhana ini saya persembahkan kepada :

1. Kedua “pahlawan” hidupku yakni orangtua saya, Ayah dan Mama yang selama ini senantiasa memberikan doa, ridha, kasih sayang yang tak terhingga, dukungan dan motivasi sehingga saya mampu menyelesaikan studi ini dengan baik.
2. Kakak laki - lakiku Rahmad Zulkarnain beserta istri Aprilia dan adikku Muhammad Kautsar Rizky Kurniawan yang memberi dukungan selama menjalani proses perkuliahan hingga mampu menyelesaikannya dengan baik.
3. Seluruh keluarga dekatku (Apo Iwan, Pakpoh Nanang, Tante Rina, Uti dan Mbah) yang selama ini memberikan doa dan dukungannya yang tak terhingga.
4. Prof. Dr. apt. Roihatul Muti'ah, S.F., M.Kes dan apt. Yen Yen Ari Indrawijaya, S.Farm., M. Farm. Klin., selaku dosen pemimbing, Dr. Begum Fauziyah, S.Si., M.Farm. dan Ustadz Muhammad Amiruddin, Lc., M.Pd sebagai penguji yang sangat membantu memberikan arahan dan ilmunya sehingga karya ini dapat diselesaikan dengan baik.
5. Bapak Yuwono S.Sos selaku admin jurusan Farmasi dan para staf jurusan Farmasi yang banyak membantu dalam proses perkuliahan berlangsung.
6. Sahabatku tercinta Nisa, Dian, Ipeh, Tiqoh yang menemani saya hingga saat ini. Menjadi pendengar yang baik saat saya berkeluh kesah.
7. Felia Kurniasari, Futna Naufa, Ami Fini Faqiha, Rosalina Yunindra Anggraeni dan Yudintya Aisyah Ermandy yang selama ini menjadi tempat keluh kesah, diskusi dan berbagi ilmu selama proses perkuliahan dan perskripsian.
8. Teman - teman Farmasi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang Angkatan 2017 khususnya “Keluarga Samawa” yang telah memberikan banyak pengalaman dan suka duka selama menjalani proses perkuliahan. Teman - teman riset *in silico* COVID-19 yang selama ini memberikan semangat dan berbagi ilmu untuk menyelesaikan karya ilmiah ini.
9. Diriku sendiri yang mampu berjuang melawan kemalasan hingga tahap akhir proses perkuliahan.
10. Semua pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

## KATA PENGANTAR

*Assalamualaikum Wr. Wb.*

Puji Syukur Alhamdulillah atas kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan nikmat, rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Studi *In Silico* Potensi Antivirus Senyawa Limonoid Tanaman Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss.) Terhadap Reseptor RdRp SARS-CoV-2 (7BV2)**” ini dengan baik. Skripsi ini merupakan salah satu syarat menyelesaikan program Strata-1 (S-1) di Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan (FKIK), Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibeahim Malang. Shalawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW beserta keluarga, sahabat dan seluruh pengikutnya.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini tidak lepas dari kesalahan dan keterbatasan. Untuk itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun sehingga berguna bagi penulis dan pembaca pada umumnya.

Dalam penyusunan skripsi ini, penulis menyadari bahwa dalam proses penyusunan skripsi ini telah banyak pihak yang memberikan bantuan, bimbingan, saran dan motivasi. Maka dengan segala kerendahan hati penulis menyampaikan ucapan terimakasih, serta penghargaan yang tak terhingga kepada :

1. Prof. Dr. Abdul Haris, M.Ag., selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Prof. Dr. dr. Yuyun Yueniwati P.W, M.Kes., Sp. Rad (K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. apt. Abdul Hakim, M.P.I., M.Farm., selaku Ketua Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Prof. Dr. apt. Roihatul Muti'ah, M.Kes. dan apt. Yen Yen Ari Indrawijaya, S.Farm., M.Farm. Klin., selaku dosen pembimbing yang telah memberikan arahan, bimbingan, dan motivasi kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.

5. Dr. Begum Fauziyah, S.Si., M.Farm. selaku dosen wali dan penguji yang telah memberikan saran dan motivasi bagi penulis.
6. Segenap sivitas akademik Program Studi Farmasi, terutama dosen serta para staf yang telah memberikan banyak ilmu pengetahuan dan bimbingannya.
7. Kedua orangtua tercinta yang senantiasa memberikan doa dan restunya dalam mendukung penulis untuk menuntut ilmu dan menyelesaikan penyusunan skripsi ini.
8. Kakak dan adik penulis serta seluruh sanak keluarga yang selalu memberikan doa dan dukungan kepada penulis.
9. Rekan - rekan proyek *in silico* yang memberikan dukungan serta motivasi kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini.
10. Semua rekan-rekan farmasi yang memberikan motivasi kepada penulis.
11. Serta semua pihak yang berpartisipasi dan membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik secara materiil maupun moril.

Akhir kata penulis mengucapkan terimakasih kepada pihak yang telah membantu dan berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua dan.  
*Aamiin Ya Rabbal Alamin.*

*Wassalamualaikum Wr.Wb*

Malang, 21 Mei 2021

Penulis

Mahfirani Ayuningrum

NIM. 17930050

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	
HALAMAN PENGANTAR	
HALAMAN PENGESAHAN	
HALAMAN PERNYATAAN	
MOTTO	
HALAMAN PERSEMBAHAN	
KATA PENGANTAR.....	i
DAFTAR ISI.....	iii
DAFTAR TABEL.....	vi
DAFTAR GAMBAR.....	vii
DAFTAR LAMPIRAN.....	viii
DAFTAR SINGKATAN.....	ix
ABSTRAK.....	xi
ABSTRACT.....	xii
مستخلص البحث.....	xiii
<b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	9
1.3 Tujuan Penelitian.....	10
1.4 Manfaat Penelitian.....	11
1.4.1 Manfaat Akademik.....	11
1.4.2 Manfaat Praktis.....	11
1.5 Batasan Masalah.....	11
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>13</b>
2.1 Tinjauan SARS-CoV-2.....	13
2.1.1 Virus.....	13
2.1.2 SARS-CoV-2.....	15
2.2 Pemanfaatan Tanaman Obat dalam Perspektif Islam.....	22
2.3 Tinjauan <i>Azadirachta indica</i> A. Juss. (Mimba).....	24
2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi <i>Azadirachta indica</i> A. Juss. (Mimba)...	24
2.3.2 Kandungan Senyawa dalam <i>Azadirachta indica</i> A. Juss. (Mimba)	24
2.3.3 Senyawa Limonoid dari <i>Azadirachta indica</i> A. Juss. (Mimba).....	28
2.3.4 Penelitian Mengenai Potensi <i>Azadirachta indica</i> A. Juss (Mimba) sebagai Antivirus.....	33
2.4 Tinjauan Reseptor SARS-CoV-2.....	36
2.4.1 Reseptor SARS-CoV-2 RdRp (PDBid: 7BV2).....	36
2.5 Penambatan Molekuler.....	38
2.5.1 Penambatan Molekuler ( <i>Molecular docking</i> ).....	38
2.5.2 <i>Database</i> Reseptor dan Ligan.....	39
2.6 Aplikasi Penunjang.....	41
2.6.1 SwissADME.....	41
2.6.2 Autodock Vina.....	42
2.6.3 Discovery Studio Visualizer.....	42
2.6.4 PyMol.....	43
2.6.5 pkCSM Online Tool.....	44
2.6.6 Protox Online Tool.....	45

2.7	Ikatan Reseptor – Ligan.....	45
2.8	Hukum Lima Lipinski .....	47
2.9	Toksisitas.....	47
2.10	Senyawa Pembanding (Remdesivir) .....	49
<b>BAB III KERANGKA KONSEPTUAL.....</b>		<b>51</b>
3.1	Kerangka Konseptual .....	51
3.1.1	Bagan Kerangka Konsep.....	51
3.1.2	Uraian Kerangka Konsep .....	52
3.2	Hipotesis.....	54
<b>BAB IV METODE PENELITIAN.....</b>		<b>55</b>
4.1	Jenis dan Rancangan Penelitian.....	55
4.2	Waktu dan Tempat Penelitian.....	55
4.3	Variabel Penelitian dan Definisi Operasional .....	55
4.3.1	Variabel Penelitian .....	55
4.3.2	Definisi Operasional.....	56
4.4	Alat dan Bahan Penelitian .....	59
4.4.1	Alat Penelitian.....	59
4.4.2	Bahan Penelitian.....	59
4.5	Skema Kerja Penelitian dan Prosedur Kerja .....	64
4.5.1	Skema Kerja Penelitian .....	64
4.5.2	Prosedur Kerja.....	65
4.5.2.1	Skrining Senyawa .....	65
4.5.2.2	Preparasi Ligan .....	65
4.5.2.3	Preparasi Protein .....	66
4.5.2.4	Penentuan Binding Site dan Grid Box .....	67
4.5.2.5	Validasi Reseptor .....	67
4.5.2.6	Penambatan Ligan-Protein .....	68
4.5.2.7	Analisa dan Visualisasi .....	68
4.5.2.8	Prediksi Toksisitas .....	69
4.6	Analisis Data.....	69
<b>BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>		<b>71</b>
5.1	Preparasi Sampel In Silico.....	72
5.1.1	Pengunduhan Reseptor RdRp SARS-CoV-2 .....	72
5.1.2	Preparasi Reseptor RdRp SARS-CoV-2 .....	73
5.1.3	Penentuan Binding Site dan Grid Box .....	75
5.1.4	Preparasi Senyawa Uji .....	76
5.1.4.1	Pembuatan Struktur Senyawa 2D,3D dan Kode SMILES.....	76
5.1.4.2	Optimasi Senyawa Uji .....	80
5.2	Prediksi Sifat Fisikokimia.....	84
5.3	Penambatan Ligan – Reseptor .....	87
5.3.1	Validasi Metode Docking .....	89
5.3.2	Hasil Penambatan Ligan - Reseptor.....	91
5.3.2.1	Penentuan Nilai Binding Affinity.....	92
5.3.2.2	Interaksi Ligan dan Reseptor.....	94
5.4	Prediksi Toksisitas .....	102
5.5	Analisa Data .....	106

<b>BAB VI PENUTUP.....</b>	<b>109</b>
6.1 Kesimpulan.....	109
6.2 Saran.....	109
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>110</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>124</b>

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 2.1</b>	Senyawa Pada Mimba .....	28
<b>Tabel 4.1</b>	Parameter Uji Fisikokimia.....	56
<b>Tabel 4.2</b>	Parameter Prediksi Toksisitas .....	57
<b>Tabel 4.3</b>	Parameter <i>Molecular docking</i> .....	58
<b>Tabel 4.4</b>	Struktur 3D Reseptor <i>RNA-dependent RNA polymerase</i> (RdRp) dengan PDBid : 7BV2 .....	60
<b>Tabel 4.5</b>	Struktur Ligan 2D dan 3D .....	61
<b>Tabel 4.6</b>	Struktur 2D dan 3D Senyawa Perbandingan.....	63
<b>Tabel 5.1</b>	Struktur RdRP SARS-CoV-2 .....	73
<b>Tabel 5.2</b>	Gambar Struktur Senyawa Uji dan Perbandingan Secara 3D .....	77
<b>Tabel 5.3</b>	Kode SMILES Senyawa Uji dan Perbandingan.....	80
<b>Tabel 5.4</b>	Hasil Energi Minimalisasi Senyawa Uji dan Perbandingan.....	83
<b>Tabel 5.5</b>	Hasil Prediksi Sifat Fisikokimia Senyawa Uji dan Perbandingan .....	84
<b>Tabel 5.6</b>	Nilai RMSD <i>Redocking Native Ligand</i> dan Reseptor 7BV2 .....	90
<b>Tabel 5.7</b>	Hasil Penambatan dengan Autodock Vina.....	92
<b>Tabel 5.8</b>	Interaksi Residu Asam Amino Hasil Penambatan .....	94
<b>Tabel 5.9</b>	Kemiripan Ikatan Hidrogen Native Ligand dengan Senyawa Uji dan Perbandingan Pada Ikatan Hidrogen.....	101
<b>Tabel 5.10</b>	Hasil Prediksi Toksisitas Senyawa Uji dan Senyawa Perbandingan.....	103
<b>Tabel 5.11</b>	Analisa Nilai Binding Affinity .....	105
<b>Tabel 5.12</b>	Analisa Interaksi Residu Asam Amino .....	106
<b>Tabel 5.13</b>	Analisa Fisikokimia dan Toksisitas.....	107

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 2.1</b>	Struktur Virus .....	14
<b>Gambar 2.2</b>	Struktur Virus SARS-CoV-2 .....	20
<b>Gambar 2.3</b>	Mekanisme Masuknya SARS-CoV-2.....	22
<b>Gambar 2.4</b>	Pohon Mimba ( <i>Azadirachta indica</i> A. Juss.).....	25
<b>Gambar 2.5</b>	Struktur Tanaman Mimba ( <i>Azadirachta indica</i> A. Juss.).....	26
<b>Gambar 2.6</b>	Struktur Dasar Limonoid .....	30
<b>Gambar 2.7</b>	Jalur Biosintesis Limonoid .....	30
<b>Gambar 2.8</b>	Struktur Dasar Tetranortriterpenoid pada Mimba .....	32
<b>Gambar 2.9</b>	Struktur nsp12-nsp7-nsp8 complex bound to the template primer RNA and triphosphate form of Remdesivir (RTP) (PDBid : 7BV2) .....	38
<b>Gambar 2.10</b>	Sumber Database Protein Data Bank.....	40
<b>Gambar 2.11</b>	Sumber Database PubChem .....	40
<b>Gambar 2.12</b>	Aplikasi SwissADME.....	41
<b>Gambar 2.13</b>	Aplikasi Autodock Vina .....	42
<b>Gambar 2.14</b>	Aplikasi Discovery Studio Visualizer .....	43
<b>Gambar 2.15</b>	Aplikasi PyMol.....	44
<b>Gambar 2.16</b>	Mekanisme Aplikasi pkCSM Online Tool.....	44
<b>Gambar 2.17</b>	Mekanisme Aplikasi Protox Online Tool .....	45
<b>Gambar 3.1</b>	Bagan Kerangka Konseptual .....	51
<b>Gambar 4.1</b>	Bagan Skema Kerja Penelitian .....	64
<b>Gambar 5.1</b>	Hasil Preparasi Reseptor 7BV2 .....	75
<b>Gambar 5.2</b>	Daerah Binding Site Reseptor 7BV2 Menggunakan <i>Discovery Studio Visualizer</i> .....	76
<b>Gambar 5.3</b>	Optimasi Senyawa dengan ChemDraw .....	82
<b>Gambar 5.4</b>	Proses Docking dengan Program AutoDock Vina .....	88
<b>Gambar 5.5</b>	Visualisasi secara 2D a) Native Ligand b) Azadirachtin c)Azadirone d)Azadiradione e)Epoxyazadiradione f)Gedunin g)Deacetylgedunin h) Remdesivir menggunakan <i>Discovery Studio Visualizer</i> .....	96
<b>Gambar 5.6</b>	Visualisasi secara 3D a) Native Ligand b) Azadirachtin c)Azadirone d) Azadiradione e) Epoxyazadiradione f) Gedunin g)Deacetylgedunin h) Remdesivir menggunakan <i>Discovery Studio Visualizer</i> .....	97

## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran 1.</b>	Hasil Prediksi Sifat Fisikokimia.....	124
<b>Lampiran 2.</b>	Hasil Validasi Reseptor.....	125
<b>Lampiran 3.</b>	Hasil Penambatan Ligand - Reseptor.....	126
<b>Lampiran 4.</b>	Hasil Prediski Toksisitas.....	128

## DAFTAR SINGKATAN

2019-nCov	: 2019 <i>novel coronavirus</i>
Covid-19	: <i>Coronavirus Disease-19</i>
CoV	: <i>Coronavirus</i>
SARS-CoV-2	: <i>Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2</i>
SARS-CoV	: <i>Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus</i>
MERS-CoV	: <i>Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus</i>
RBD	: <i>Receptor Binding Domain</i>
ORF	: <i>Open Reading Frame</i>
hACE2	: <i>human Angiotensin Converting Enzyme 2</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>
CFR	: <i>Case Fatality Rate</i>
HSV-1	: <i>Herpes Simplex Virus tipe-1</i>
HIV-1	: <i>Human Immunodeficiency Virus tipe-1</i>
PLpro	: <i>Papain like Protease</i>
Mpro	: <i>Main Protease</i>
RdRp	: <i>RNA-dependent RNA polymerase</i>
HR1	: <i>Hepeptide Repeat 1</i>
HR2	: <i>Hepeptide Repeat 2</i>
sg	: <i>subgenomik</i>
mRNA	: <i>messenger RNA</i>
PDB	: <i>Protein Data Bank</i>
RMSD	: <i>Root Mean Square Deviation</i>
RO5	: <i>Rule of Five</i>
HBD	: <i>Hydrogen Bond Donors</i>
HBA	: <i>Hydrogen Bond Acceptors</i>
TPSA	: <i>Topological Polar Surface Area</i>
LD <sub>50</sub>	: <i>Lethal Dose 50</i>
M-CoV	: <i>Murine Coronavirus</i>
HIV	: <i>Human Immunodeficiency Virus</i>
HBV	: <i>Hepadnaviridae</i>
HSV	: <i>Herpes Simplex Virus</i>
PDB	: <i>Protein Data Bank</i>
NSP	: <i>Protein Non Struktural</i>
Log P	: <i>Logaritma Partisi</i>
CSG	: <i>Coronaviridae Study Group</i>
CPE	: <i>Cytopathic Effects</i>
DPV	: <i>Duck Plague Virus</i>
DEF	: <i>Duck Embryo Fibroblasts</i>
IC <sub>50</sub>	: <i>Konsentrasi Inhibisi</i>
CC <sub>50</sub>	: <i>Efek Sitotoksik</i>
MHV	: <i>Mouse Hepatitis Virus</i>
RSCB	: <i>Research Collaboratory for Structural Bioinformatics</i>
ADME	: <i>Absorption, Distribution, Metabolism and Excretion</i>
NTP	: <i>Nukleosida Trifosfat</i>
GHS	: <i>Globally Harmonized System</i>

3D : Tiga Dimensi  
2D : Dua Dimensi  
SWT : *Subhanahu Wa Ta'ala*  
SAW : *Shallallahu Alayhi Wa Sallam*  
SMILES : *Simplified Molecular Input Line Entry System*  
MMFF94 : *Merck Molecular Force Field 94*

## ABSTRAK

Ayuningrum, Mahfirani. 2021. **Studi *In Silico* Potensi Antivirus Senyawa Limonoid Tanaman Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss.) Terhadap Reseptor RdRp SARS-CoV-2 (7BV2).** *Skripsi*. Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing (I) Prof. Dr. apt. Roihatul Muti'ah, M.Kes. Pembimbing (II) apt. Yen Yen Ari Indrawijaya, M. Farm. Klin.

Kandidat senyawa yang diduga berpotensi sebagai antivirus SARS-CoV-2 adalah senyawa golongan limonoid pada mimba meliputi *azadirachtin*, *azadirone*, *azadiradione*, *epoxyazadiradoine*, *gedunin* dan *deacetylgedunin* yang berperan dalam menghambat replikasi virus. Salah satu reseptor pada SARS-CoV-2 yang berperan proses replikasi virus adalah reseptor *RNA-dependent RNA polymerase* (RdRp). Pada penelitian ini senyawa golongan limonoid diuji aktivitasnya dalam menghambat reseptor RdRp SARS-CoV-2 (7BV2). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi senyawa limonoid tanaman mimba sebagai antivirus SARS-CoV-2. Untuk mengetahui potensi senyawa limonoid sebagai antivirus SARS-CoV-2 dilakukan penelitian secara *in silico* meliputi prediksi sifat fisikokimia, *molecular docking* dan prediksi toksisitas. Prediksi sifat fisikokimia mengacu pada Hukum Lima Lipinski pada situs *SwissADME*. Prediksi toksisitas menggunakan *ProTox Online Tool* dan *pkCSM Online Tool*. *Molecular docking* dilakukan menggunakan *Autodock Vina*. Hasil menunjukkan bahwa senyawa *azadirone*, *azadiradione*, *epoxyazadiradoine*, *gedunin* dan *deacetylgedunin* memenuhi Hukum Lima Lipinski sedangkan *azadirachtin* tidak. Hasil *molecular docking* menunjukkan senyawa limonoid memiliki afinitas lebih baik dibandingkan ligan asli dan remdesivir sebagai senyawa pembanding. Pada interaksi residu asam amino ditunjukkan bahwa senyawa limonoid mimba memiliki kesamaan interaksi pada ligan asli dan senyawa pembanding yang terletak pada sisi aktif reseptor. Berdasarkan hal tersebut senyawa limonoid mimba diprediksi berpotensi menghambat RdRp SARS-CoV-2 (7BV2).

**Kata Kunci** : *Azadirachta indica*, golongan limonoid, anti-SARS-CoV-2, *RNA-dependent RNA polymerase*, *molecular docking*.

## ABSTRACT

Ayuningrum, Mahfirani. 2021. **In Silico Study of Neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) Limonoid Compound Against SARS-CoV-2 (7BV2) RdRp Receptor.** *Thesis.* Department of Pharmacy, Faculty of Medicine and Health Sciences. Maulana Malik Ibrahim State Islamic University of Malang. Advisor (I) Prof. Dr. apt. Roihatul Muti'ah, M.Kes. Advisor (II) apt. Yen Yen Ari Indrawijaya, M. Farm. Klin.

Candidate compounds that are thought to be possible as antiviral agents for SARS-CoV-2 are limonoid compounds in neem including azadirachtin, azadirone, azadiradione, epoxyazadiradione, gedunin, and deacetylgedunin which play a role in supporting the development of antivirals. One of the receptors in SARS-CoV-2 that plays a role in the viral replication process is the RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) receptor. In the study, the limonoid compounds were tested for their activity at the SARS-CoV-2 RdRp receptor (7BV2). This study aims to determine the potential of neem plant limonoids as an antiviral for SARS-CoV-2. To determine the potential of limonoid compounds as SARS-CoV-2 antiviral, an in silico study was carried out including prediction of physicochemical properties, molecular docking, and prediction of toxicity. Prediction of physicochemical properties refers to Lipinski's Rule of Five on the SwissADME website. Toxicity prediction using ProTox Online Tool and pkCSM Online Tool. Molecular docking is done using Autodock Vina. The results showed that azadirone, azadiradione, epoxyazadiradione, gedunin and deacetylgedunin compounds fulfill Lipinski's Rule of Five while azadirachtin did not. The results of molecular docking showed that the limonoid compounds had better affinity than the native ligand and remdesivir as a comparison. In the interaction of amino acid residues, it was shown that the neem limonoid compounds had similar interactions with the native ligand and the comparison compound located on the receptor active site. Based on this, neem limonoid compounds can be predicted to inhibited RdRp SARS-CoV-2 (7BV2).

**Keywords:** *Azadirachta indica*, limonoid group, anti-SARS-CoV-2, *RNA-dependent RNA polymerase*, molecular docking.

## مستخلص البحث

أيونيغروم، مغفري. ٢٠٢١. دراسة في السيليكون عن إمكانية مضادة الفيروس من مركب ليمونويد في نبات نيم شائع (أزاديراشتا إنديكا) على مستقبلات بوليميراز الرنا المعتمدة على الرنا (ردرب) لفيروس سارس-كوفيد-٢ (٧بف٢). البحث الجامعي. قسم الصيدلة، كلية الطب والعلوم الصحية بجامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرفة الأولى: أ. د. رائحة المطيعة، الماجستير. المشرفة الثانية: بين أري إنراويجايا، الماجستير.

المركبات المرشحة التي يشتبه في أن لها إمكانات كمركبات مضادة للفيروسات لسارس-كوفيد-٢ هي مركبات ليمونويد في النيم بما في ذلك أزاديراشتين ، أزاديرون ، أزاديراديون ، إيبوكسيأزاديراديون ، جدونين و ديسيتيل جوينين التي تلعب دورًا في تثبيط تكاثر الفيروس. أحد مستقبلات لسارس-كوفيد-٢ التي تلعب دورًا في عملية التكاثر الفيروسي هو مستقبل مستقبل بوليميراز الرنا المعتمدة على الرنا (ردرب). في هذه الدراسة ، تم اختبار مركبات الليمونويد لنشاطها في تثبيط مستقبلات لسارس-كوفيد-٢ (٧بف٢). تهدف هذه الدراسة إلى تحديد إمكانات ليمونويد نبات النيم كمضاد للفيروسات لسارس-كوفيد-٢. لتحديد إمكانات مركبات الليمون كمضاد للفيروسات لسارس-كوفيد-٢ ، أجريت دراسة في السيليكو بما في ذلك التنبؤ بالخصائص الفيزيائية والكيميائية والالتحام الجزيئي والتنبؤ بالسمية. يشير توقع الخصائص الفيزيائية والكيميائية إلى قوانين ليبينسكي الخمسة على موقع سويسري ادم الإلكتروني. التنبؤ بالسمية باستخدام أداة برتوكس ، وأداة بيكاسم. يتم الالتحام الجزيئي باستخدام أوتودوك فينا. أظهرت النتائج أن مركبات أزاديرون ، أزاديراديون ، إيبوكسي أزاديراديون ، جدونين و ديسيتيل غيدونين تمتثل لقوانين ليبينسكي الخمسة بينما أزاديراشتين لم تمتثل. أظهرت نتائج الالتحام الجزيئي أن مركبات الليمون لها تقارب أفضل من الليجند الأصلي وريمديسفير كمركب مقارنة. في تفاعل بقايا الأحماض الأمينية ، تبين أن مركب النيم ليمونويد له نفس التفاعل مع الترابط الأصلي ومركب المقارنة الموجود في الموقع النشط للمستقبل. بناءً على ذلك ، من المتوقع أن يكون لمركبات الليمونويد النيم القدرة على تثبيط لسارس-كوفيد-٢ (٧بف٢).

**الكلمات الرئيسية:** نيم شائع، مجموعة ليمونويد، مضادة فيروس السارس-كوفيد-٢، مستقبل بوليميراز الرنا المعتمدة على الرنا (ردرب)، الالتحام الجزيئي.

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Virus dianggap sebagai zat kimiawi biologis, hal ini didasarkan pada pendapat para ahli biologi yang menyatakan bahwa virus tidak hidup namun berada di daerah abu-abu antara kehidupan dan zat kimiawi. Virus berarti “racun” karena memiliki kemampuan untuk menyebabkan berbagai macam penyakit dan dapat bertransmisi ke organisme lain. Beberapa penyakit yang disebabkan karena virus bahkan menyebabkan wabah global (Campbell, 2008).

Dunia pada saat ini sedang digemparkan dengan adanya virus baru yang mewabah dan bahkan menyebabkan pandemi. Kasus pertama mengenai virus baru ini ditemukan pada bulan Desember 2019 dengan adanya kasus pneumonia misterius yang tidak diketahui etiologinya di Wuhan, Provinsi Hubei, China. (Rothan *et al.*, 2020). Sejak itu, jumlah kasus pneumonia dengan etiologi tidak diketahui ini meningkat secara pesat di Wuhan. Penyakit ini kemudian menyebar secara cepat, tidak sampai satu bulan telah menyebar di China, Thailand, Jepang, dan Korea Selatan. Transmisi yang sangat cepat hingga berbagai negara membuat berbagai peneliti melakukan studi mengenai kasus pneumonia misterius ini (Bogoch *et al.*, 2020).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kasus di Wuhan memiliki sekuensing genetik yang menunjukkan virus corona jenis baru sebagai organisme penyebab penyakit pneumonia tersebut (Bogoch *et al.*, 2020). Penyakit ini mulanya dinamakan sebagai 2019 *novel coronavirus* (2019-nCoV), kemudian oleh WHO

kasus ini diberi nama *Coronavirus Disease 19* (Covid-19) yang disebabkan oleh virus *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2* (SARS-CoV-2) (WHO, 2020). Virus ini memiliki kesamaan filogenetik dengan jenis *coronavirus* lainnya (Helmy *et al.*, 2020).

*Coronavirus* termasuk ke dalam RNA beruntai tunggal (ssRNA) yang dapat berperan sebagai mRNA (Campbell, 2008). Virus ini memiliki ukuran partikel 120-160 nm. Virus ini utamanya menginfeksi hewan, termasuk di antaranya adalah kelelawar dan unta. Secara khusus, kelelawar dianggap sebagai *reservoir* utama *coronavirus* dan banyak CoV pada manusia diyakini berasal dari kelelawar. Pada kasus SARS-CoV-2, ditemukan bahwa virus tersebut menyimpan satu gen (ORF8) yang secara filogenetis paling dekat dengan CoV mirip SARS, tetapi berbeda pada garis keturunan. Hal ini menunjukkan bahwa mereka menggunakan reseptor yang sama untuk masuk dalam inang yaitu *human Angiotensin Converting Enzyme* (hACE2) (Ren *et al.*, 2020 ; Wan *et al.*, 2020).

Penelitian terbaru menunjukkan bahwa virus SARS-CoV-2 lebih dapat diterima oleh reseptor *human Angiotensin Converting Enzyme 2* (hACE2) daripada SARS-CoV. Hal ini kemungkinan menyebabkan tingkat transmisi SARS-CoV-2 dari manusia ke manusia lebih tinggi dibandingkan SARS-CoV (Wan *et al.*, 2020). Penyebaran SARS-CoV-2 dari manusia ke manusia menjadi sumber transmisi utama sehingga penyebarannya menjadi lebih agresif. Transmisi SARS-CoV-2 terjadi melalui droplet yang keluar saat batuk atau bersin. Selain itu, virus dapat menyebar di lingkungan yang tidak berventilasi dengan tingkat aerosol virus yang tinggi. Virus ini dapat ditularkan oleh pasien tanpa gejala (Han, 2020). Faktor

transmisi yang tinggi menyebabkan SARS-CoV-2 mudah menyebar bahkan menjadi pandemi (Turista dkk., 2020).

*World Health Organization* (WHO) menetapkan status Covid-19 sebagai pandemi pada tanggal 11 Maret 2020 (WHO, 2020). Hingga saat ini jumlah kasus Covid-19 di seluruh dunia per tanggal 19 Juni 2021 mencapai angka 178.576.149 kasus dengan angka kematian 3.866.372 jiwa dan presentase kematian sebesar 2,1%. Jumlah kasus Covid-19 di Indonesia menurut SATGAS COVID-19 (2020) sampai tanggal 19 Juni 2021 mencapai angka 1.976.172 kasus dengan angka kematian 54.291 jiwa dan presentase kematian sebesar 2,8 %. Indonesia menjadi negara dengan angka kematian yang cukup tinggi dilihat dari *Case Fatality Rate* (CFR) atau angka kematian yang lebih tinggi dibandingkan CFR dunia. Setidaknya terdapat 5 Provinsi di Indonesia dengan tingkat CFR tertinggi yaitu Banten, Jawa Timur, DKI Jakarta, Jawa Tengah dan Jawa Barat (Turista dkk., 2020). Ketidaktersediaan terapi pengobatan yang sesuai untuk pasien Covid-19 menyebabkan tingkat kematian akibat pandemi ini cukup tinggi (Bimonte *et al.*, 2020).

Tatalaksana terapi untuk pasien Covid-19 pada saat awal muncul kasus ini meliputi terapi simptomatis dan terapi oksigen yang merupakan langkah pertama untuk mengatasi gangguan pernapasan. Saat ini untuk mengatasi keadaan yang mendesak peneliti melakukan identifikasi obat yang sudah ada dan efektif melawan SARS dan MERS untuk melihat apakah mereka berhasil diterapkan untuk mengatasi SARS-CoV-2 (Bimonte *et al.*, 2020). Terdapat beberapa golongan obat yang berada pada uji klinis terkait potensi mereka dalam mengatasi SARS- CoV-2 seperti inhibitor RNA polimerase (remdesivir dan favipiravir), penghambat

protease (lopinavir/ ritonavir), aminoquinolines (klorokuin dan hidroksilnya turunan) dan agen anti-inflamasi (kortikosteroid). Beberapa obat sintetis tersebut hingga saat ini digunakan dalam *guideline* terapi bagi pasien positif Covid-19 (Neldi dan Suhajarno, 2020). Namun, menurut WHO (2020) obat – obat tersebut belum dapat mengurangi tingkat kematian pasien.

Terapi pengobatan Covid-19 di China saat ini tidak hanya mengandalkan obat sintesis saja, namun juga obat herbal. Komisi Kesehatan Nasional China telah menyatakan penggunaan obat herbal yang dikombinasikan dengan pengobatan sintetis sebagai pengobatan Covid-19, dan telah banyak mengeluarkan pedoman terapi terkait obat – obatan herbal (Ang *et al.*, 2020). Penelitian menyebutkan bahwa obat herbal berperan penting dalam pengendalian penyakit menular. Bukti klinis dari berbagai penelitian tanaman herbal dalam pengobatan virus corona (SARS-CoV) telah menunjukkan hasil yang signifikan, dan mendukung gagasan bahwa obat herbal memiliki efek menguntungkan dalam pengobatan dan pencegahan penyakit epidemi (Yang *et al.*, 2020). Berdasarkan hal tersebut maka berbagai penelitian saat ini fokus pada potensi tanaman obat sebagai antivirus SARS-CoV-2.

Senyawa alami yang terdapat pada tanaman merupakan salah satu sumber daya untuk penemuan berbagai macam obat-obatan. Kandungan senyawa aktif pada tanaman terbukti digunakan sebagai pengobatan penyakit yang disebabkan oleh mikroba. Berbagai penelitian menyebutkan bahwa senyawa bioaktif pada tanaman memiliki aktivitas sebagai anti-inflamasi, antibakteri, antioksidan, antijamur dan bahkan antivirus. Berdasarkan hal ini maka tanaman obat dianggap sebagai sumber

yang baik salah satunya sebagai antivirus SARS-CoV-2 (Borkotoky and Manidipa, 2020).

Studi mengenai pemanfaatan tanaman obat menunjukkan bahwa senyawa bioaktif yang terdapat pada tanaman berpotensi dalam pengembangan obat-obatan untuk berbagai macam penyakit (Borkotoky and Manidipa, 2020). Studi mengenai pemanfaatan tanaman obat menunjukkan bahwa. Keberadaan senyawa bioaktif pada tanaman yang diyakini merupakan senyawa obat membuktikan maha penciptanya Allah (الخالق) dan maha agungnya Allah (العظيم). Hal ini memperkuat firman Allah SWT. yang berbunyi :

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَّكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً  
فَأَخْرَجْنَا بِهٖ أَزْوَاجًا مِّنْ نَّبَاتٍ شَتَّى (٥٣)

Artinya : “Yang telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan dan Yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berbagai jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam.” (Qur’an Surat Tâhâ 20:53)

Berdasarkan tafsir al Maraghi (1992) dijelaskan bahwa Allah SWT. menurunkan air hujan dari langit, lalu dengan air hujan tersebut Allah menumbuhkan berbagai jenis tumbuhan yang baik. Allah menciptakan tumbuhan yang memiliki berbagai macam manfaat, warna, aroma dan bentuk yang cocok untuk manusia dan hewan. Hal ini merupakan nikmat Allah yang diberikan kepada setiap makhluk ciptaannya. Berdasarkan tafsir tersebut maka setiap tumbuhan merupakan makhluk ciptaan Allah yang mempunyai banyak manfaat, salah satunya dalam bidang pengobatan. Salah satu tumbuhan yang disinyalir dapat digunakan sebagai obat antivirus SARS-CoV-2 adalah mimba.

Tanaman mimba (*Azadirachta indica* A. Juss.) biasa disebut 'Lilac India' atau 'Margosa', termasuk dalam keluarga Meliaceae. *Azadirachta indica* telah

digunakan secara medis sepanjang sejarah oleh banyak budaya yang berbeda. Banyak senyawa telah ditemukan dalam eksudat tanaman *Azadirachta indica* yang telah digunakan secara medis untuk pengobatan berbagai penyakit (Girish and Shankara, 2008). Penelitian menyebutkan bahwa ekstrak tanaman mimba berpotensi sebagai antivirus *Herpes Simplex Virus* tipe-1 (HSV-1), *Virus Dengue* tipe-2, *Coxsackie virus B-4*, dan *Human Immunodeficiency Virus 1* (HIV-1) (Tiwari *et al.*, 2010; Parida *et al.*, 2002; Trivedi *et al.*, 2019; Udeinya *et al.*, 2004). Disinyalir adanya kandungan senyawa metabolit yang kompleks dalam tanaman ini berperan dalam pengelolaan penyakit melalui modulasi berbagai jalur genetik dan aktivitas lainnya, salah satunya sebagai antivirus (Hossain *et al.*, 2013).

Tanaman mimba memiliki senyawa metabolit yang kompleks diantaranya yaitu flavanoid, triterpenoid dan glikosida yang disinyalir memiliki aktivitas antivirus (Trivedi *et al.*, 2019). Salah satu senyawa yang berpotensi sebagai antivirus adalah limonoid. Senyawa limonoid merupakan senyawa golongan triterpenoid. Berdasarkan literatur dari Xiao *et al* (2017) menjelaskan bahwa triterpenoid seringkali merupakan unsur aktif dari banyak tanaman obat penting. Senyawa triterpenoid banyak ditemukan memiliki potensi aktivitas antivirus seperti *Human Immunodeficiency Virus* (HIV), *Hepadnaviridae* (HBV), *Herpes Simplex Virus* (HSV), *Human enterovirus 71* (EV71) dan *Epstein-Barr Virus* (EBV). Senyawa triterpenoid pada tanaman mimba yang telah diketahui terdiri dari limonoid atau tetranortriterpenoid seperti *azadirachtin*, *azadirone* dan turunannya (*epoxyazadirone*, *azadiradione*), *gedunin* dan turunannya (*deacetylgedunin*) selain itu terdapat senyawa golongan *nimbin*. Senyawa *azadirachtin*, *azadirone*, *epoxyazadirone* dan *azadiradione* hanya ditemukan pada mimba sedangkan

senyawa *gedunin* dan *deacetylgedunin* banyak di isolasi dari mimba (Rochyhoudhury, 2016, Yasotha *et al.*, 2019). Studi *in silico* mengenai senyawa limonoid pada tanaman mimba menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki potensi sebagai antivirus *Dengue* tipe- 2 (Dwivedi *et al.*, 2016). Berdasarkan hasil penelitian tersebut untuk mengetahui potensi senyawa limonoid pada tanaman mimba sebagai antivirus SARS-CoV-2 maka perlu dilakukan studi *in silico*.

Skrining pertama untuk mengetahui potensi suatu tanaman sebagai antivirus dilakukan dengan studi *in silico* yaitu *molecular docking*. *Molecular docking* dapat memprediksi bagaimana protein (reseptor) berinteraksi dengan senyawa bioaktif (ligan) (Tallei *et al.*, 2020). Tujuan *molecular docking* adalah untuk mengetahui adanya ikatan antara ligan dengan protein berstruktur tiga dimensi yang diketahui. Pendekatan ini menggunakan metode komputasi dengan cara skrining molekul berdasarkan dari tingkat afinitasnya dan dengan hasil sebuah hipotesis struktural tentang bagaimana molekul dapat menghambat suatu target (Guariento *et al.*, 2018).

Penelitian menggunakan *molecular docking* membutuhkan adanya protein (reseptor) dan ligan. Reseptor merupakan suatu molekul protein yang berada didalam atau di permukaan sel target dan berfungsi untuk menerima sinyal kimiawi. Sinyal kimiawi ini kemudian dilepaskan dengan memberi sinyal pada sel dalam bentuk molekul kecil yang biasanya sifatnya mudah menguap atau larut disebut sebagai ligan (Rye *et al.*, 2017). Virus corona memiliki protein struktural yang terdiri atas *spike* (S), *enveloped* (E), *membran* (M), *nukleoprotein* (N), protein non struktural dan protein aksesoris. Empat protein muncul dalam urutan S – E – M– N di semua garis keturunan CoV yang diketahui. Protein-protein tersebut dapat berfungsi sebagai reseptor (Wrapp *et al.*, 2020). Sedangkan ligan diperoleh dari

senyawa bioaktif tanaman. Senyawa yang digunakan sebagai ligan yang bertujuan sebagai senyawa obat harus memenuhi hukum lima Lipinski yang merupakan parameter fisikokimia terkait dengan absorpsi obat dan permeabilitasnya (Lipinski, 2004). Terdapat penelitian mengenai tanaman mimba yang berpotensi sebagai antivirus SARS-CoV-2 secara *in silico* pada reseptor *papain like protease* (PLpro) PDBid : 6W9C hasil menunjukkan bahwa senyawa limonoid pada tanaman mimba yaitu *azadirachtin*, *azadirone*, *gedunin* dan *deacetylgedunin* memiliki *docking score* lebih baik dibandingkan *chloroquine* (Baildya *et al.*, 2021). Selain itu pada penelitian menggunakan reseptor *main protease* (Mpro) PDBid : 6LU7 senyawa *azadiradione* dan *epoxyazadiradione* memiliki *docking score* lebih baik dibandingkan nelfinavir (Sharon, 2020). Oleh karena itu pada penelitian ini digunakan senyawa golongan limonoid yaitu *azadirachtin*, *azadirone*, *azadiradione*, *epoxyazadiradione* *gedunin* dan *deacetylgedunin*.

Berdasarkan keterangan diatas, diketahui telah terdapat beberapa jurnal penelitian terkait studi *in silico* tanaman mimba baik pada reseptor Mpro dan PLpro, namun studi yang dilakukan oleh Baildya *et al* (2021) dan Sharon (2020) belum secara spesifik menunjukkan interaksi residu asam amino yang terlibat serta senyawa pembanding yang digunakan tidak memiliki target kerja spesifik pada reseptor PLpro. Hal ini menyebabkan hasil analisa tidak spesifik menunjukkan apakah senyawa mampu menginhibisi suatu reseptor lebih baik dibandingkan senyawa pembanding. Sehingga pada penelitian ini, peneliti melakukan studi *in silico molecular docking* senyawa yang terdapat pada mimba menggunakan reseptor *RNA-dependent RNA polymerase* (RdRp) yang diketahui merupakan target spesifik dari obat Remdesivir. Penelitian mengenai potensi tanaman mimba sebagai

antivirus menyebutkan bahwa ekstrak tanaman mimba disinyalir menghambat proses replikasi *Murine coronavirus* (M-CoV). (Sarkar *et al.*, 2020). Selain itu penelitian mengenai potensi senyawa limonoid tanaman mimba disinyalir dapat mengganggu replikasi virus, sehingga meminimalkan dampak infeksi virus (Chawla *et al.*, 2011). Hal ini tentunya sejalan dengan fungsi dari reseptor *RNA-dependent RNA polymerase* (RdRp) yang berperan dalam proses replikasi dan transkripsi genom RNA virus (Singh *et al.*, 2020). Salah satu reseptor RdRp SARS-CoV-2 yang telah *publish* adalah PDBid: 7BV2. Reseptor ini memiliki *native ligand* remdesivir yang merupakan obat sintesis yang bekerja pada RdRp (Koulgi *et al.*, 2020). Oleh karena itu pada penelitian ini digunakan reseptor *RNA-dependent RNA polymerase* (RdRp) (PDBid: 7BV2) sebagai reseptor uji.

Berdasarkan keterangan diatas diketahui bahwasanya saat ini pengobatan virus SARS-CoV-2 mengarah pada potensi tanaman herbal sebagai antivirus. Oleh karena itu, penelitian yang berjudul “Studi *In Silico* Potensi Antivirus Senyawa Limonoid Tanaman Mimba (*Azadirachta Indica* A. Juss.) Terhadap Reseptor RdRp SARS-CoV-2 (7BV2) ” layak untuk dilakukan. Adanya penelitian ini bermanfaat untuk mendapatkan informasi mengenai potensi senyawa limonoid tanaman mimba sebagai antivirus SARS-CoV-2.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini, yaitu :

1. Apakah sifat fisikokimia senyawa golongan limonoid (*azadirachtin*, *azadirone*, *azadiradione*, *epoxyazadiradione gedunin* dan *deacetylgedunin*) pada tanaman mimba memenuhi hukum lima Lipinski ?

2. Bagaimana prediksi toksisitas senyawa golongan limonoid (*azadirachtin*, *azadirone*, *azadiradione*, *epoxyazadiradione gedunin* dan *deacetylgedunin*) pada tanaman mimba secara *in silico* ?
3. Bagaimana interaksi senyawa golongan limonoid (*azadirachtin*, *azadirone*, *azadiradione*, *epoxyazadiradione*, *gedunin* dan *deacetylgedunin*) pada tanaman mimba dengan reseptor *RNA-dependent RNA polymerase* (RdRp) PDBid:7BV2 ?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah diatas, maka tujuan dari penelitian ini, yaitu:

1. Mengetahui karakteristik fisikokimia senyawa golongan limonoid (*azadirachtin*, *azadirone*, *azadiradione*, *epoxyazadiradione gedunin* dan *deacetylgedunin*) pada tanaman mimba (*Azadirachta indica* A.Juss) berdasarkan hukum lima Lipinski.
2. Mengetahui prediksi toksisitas senyawa golongan limonoid (*azadirachtin*, *azadirone*, *azadiradione*, *epoxyazadiradione gedunin* dan *deacetylgedunin*) pada tanaman mimba secara *in silico*.
3. Mengetahui interaksi senyawa golongan limonoid (*azadirachtin*, *azadirone*, *azadiradione*, *epoxyazadiradione gedunin* dan *deacetylgedunin*) pada tanaman mimba dengan reseptor *RNA-dependent RNA polymerase* (RdRp) PDBid: 7BV2.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

### **1.4.1 Manfaat Akademik**

#### 1. Bagi Ilmu Pengetahuan

Memberikan kontribusi mengenai pengembangan antivirus SARS-CoV-2 yang berdasar dari senyawa yang terdapat pada tanaman herbal.

#### 2. Bagi Penyusun

Menambah wawasan dan motivasi untuk berpikir kritis dalam memberikan penjelasan secara ilmiah mengenai potensi tanaman herbal dalam pengembangan antivirus SARS-CoV-2.

### **1.4.2 Manfaat Praktis**

#### 1. Bagi Masyarakat

Memberikan kontribusi informasi kepada masyarakat mengenai potensi senyawa golongan limonoid pada tanaman mimba sebagai antivirus SARS-CoV-2.

#### 2. Bagi Peneliti Lain

Memberikan kontribusi sebagai tambahan informasi untuk penelitian berikutnya.

## **1.5 Batasan Masalah**

Batasan masalah pada penelitian ini yaitu :

1. Ligan (senyawa) yang digunakan yaitu senyawa golongan limonoid (*azadirachtin*, *azadirone*, *azadiradione*, *epoxyazadiradione* *gedunin* dan *deacetylgedunin*) pada tanaman mimba.

2. Protein target (reseptor) yang digunakan yaitu reseptor *RNA-dependent RNA polymerase* (RdRp) (PDBid : 7BV2).

3. Uji *in silico* antara ligan (senyawa) *azadirachtin*, *azadirone*, *azadiradione*, *epoxyazadiradione gedunin* dan *deacetylgedunin* dengan protein target reseptor *RNA-dependent RNA polymerase* (RdRp) (PDBid : 7BV2) menggunakan aplikasi *ChemDraw*, *PyMol*, *Autodock Vina*, dan *Discovery Studio Visualizer*.
4. Parameter *molecular docking* yang digunakan meliputi nilai afinitas, nilai RMSD, ikatan hidrogen, interaksi elektrostatik, interaksi hidrofobik dan jarak ikatan.
5. Senyawa pembanding yang digunakan adalah Remdesivir.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

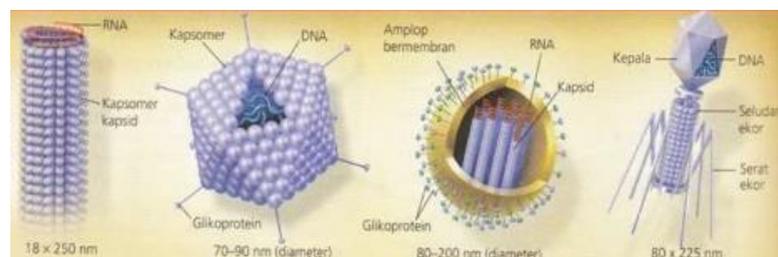
#### **2.1 Tinjauan SARS-CoV-2**

##### **2.1.1 Virus**

Virus dianggap sebagai zat kimiawi biologis. Kata virus berasal dari bahasa Latin yaitu '*virus*' yang berarti racun. Hal ini disebabkan karena virus mampu menyebabkan berbagai macam penyakit serta mampu menyebar diantara organisme, sehingga para peneliti pada tahun 1800-an menganggap virus sama seperti bakteri dan mengajukannya sebagai bentuk kehidupan yang paling sederhana. Akan tetapi, virus tidak memiliki kemampuan untuk bereproduksi maupun melaksanakan aktivitas metabolisme di luar sel inang. Sehingga, kebanyakan para ahli biologi yang meneliti virus saat ini menyetujui pendapat bahwa virus itu tidak hidup namun berada di wilayah abu-abu antara bentuk kehidupan dan zat kimiawi. Oleh karena itu, sebuah frase sederhana untuk menggambarkan virus menurut ahli adalah virus menjalani 'hidup pinjaman' (Campbell, 2008).

Penelitian mengenai virus membuktikan bahwa virus yang paling kecil memiliki diameter 20 nm (lebih kecil dari ribosom) dan virus terbesar diketahui hanya memiliki diameter beberapa ratus nanometer. Struktur virus terdiri atas asam nukleat yang berselubung protein dan beberapa kasus mengungkapkan terdapat beberapa virus yang dilindungi oleh amplop bermembran. Asam nukleat dari virus dapat berupa DNA atau RNA tergantung pada jenis virusnya, sehingga virus dikelompokkan sesuai dengan jenis asam nukleat penyusun genomnya (Campbell, 2008).

Genom virus diselubungi oleh cangkang protein yang disebut dengan kapsid. Bergantung pada tipe virus, kapsid dapat berbentuk batang, polihedral atau bentuk lain yang lebih kompleks. Kapsid tersusun atas banyak sub-unit protein yang disebut dengan kapsomer. Terdapat sejumlah virus yang memiliki struktur aksesori untuk membantu menginfeksi sel inang yaitu struktur amplop bermembran kapsid. Amplop virus yang berasal dari membran sel inang mengandung fosfolipid dan protein membran sel inang. Amplop juga mengandung protein dan glikoprotein dari virus (Campbell, 2008).



**Gambar 2.1** Struktur Virus (Campbell, 2008).

Virus tidak memiliki enzim – enzim metabolisme dan peralatan untuk membuat protein sehingga untuk bereproduksi harus didalam sel inang. Oleh karena itu setiap virus akan menginfeksi sel inang pada daerah *host range* dengan cara mengidentifikasi sel inang melalui kecocokan ‘lubang-dan-anak-kunci’ antara protein permukaan virus dengan molekul reseptor spesifik diluar sel. Sejumlah virus memiliki *host range* yang luas sehingga dapat menginfeksi baik hewan maupun manusia. Namun, terdapat virus lain yang memiliki *host range* yang sempit sehingga hanya dapat menginfeksi hewan atau manusia terlebih lagi hanya pada jaringan tertentu (Campbell, 2008).

### 2.1.2 SARS-CoV-2

Kasus mengenai SARS-CoV-2 dimulai pada bulan Desember 2019. Awal mula dari kasus ini yaitu dilaporkan terdapat kasus pneumonia misterius yang tidak diketahui etiologinya di Wuhan, Provinsi Hubei, China. Berdasarkan laporan tersebut belum diketahui secara pasti penyebaran kasus tersebut, tetapi sumber menyebutkan bahwa kasus pertama dikaitkan dengan pasar ikan di Wuhan (Rothan *et al.*, 2020). Selama tanggal 18 Desember hingga 29 Desember dilaporkan lima pasien dirawat di rumah sakit dengan gangguan pernapasan akut yang belum diketahui etiologinya dan salah satu dari pasien tersebut meninggal (Ren *et al.*, 2020). Sejak bulan Desember 2019, jumlah kasus pneumonia dengan etiologi tidak diketahui ini meningkat secara pesat di Wuhan. *World Health Organization* (WHO) pada 5 Januari 2020 menerbitkan berita yang berisi mereka meminta informasi lebih lanjut kepada otoritas kesehatan China tentang kasus ini, dimana telah terdapat 44 kasus dengan 121 kontak erat dengan pasien. Penyakit ini kemudian menyebar secara cepat, tidak sampai satu bulan telah menyebar di China, Thailand, Jepang, dan Korea Selatan (Bogoch *et al.*, 2020).

Rabu, 8 Januari 2019, outlet berita dan ProMED-mail melaporkan bahwa kasus di Wuhan memiliki sekuensing genetik yang menunjukkan virus corona jenis baru sebagai organisme penyebab penyakit pneumonia tersebut. Mengingat sejarah baru-baru ini, penularan zoonosis dari virus corona yang muncul dari pasar hewan hidup di China pada tahun 2002, dan potensi patogen baru untuk menyebar dengan cepat secara global melalui udara (Bogoch *et al.*, 2020). Penyakit ini mulanya dinamakan sebagai 2019 novel coronavirus (2019-nCoV), kemudian WHO mengumumkan pada 11 Februari 2020 bahwa telah terjadi epidemi *Coronavirus*

*Disease* (Covid-19) yang disebabkan oleh virus *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2* (SARS-CoV-2) (WHO, 2020).

Infeksi SARS-CoV-2 dilaporkan ditularkan langsung dari orang ke orang seperti kebanyakan virus pernapasan melalui kontak dekat dengan orang yang terinfeksi atau melalui droplet (aerosol) yang dihasilkan ketika orang yang terinfeksi batuk atau bersin. Droplet ini dihirup untuk mencapai paru-paru. Virus dapat ditularkan secara tidak langsung melalui menyentuh permukaan atau benda yang sebelumnya terkontaminasi dengan virus dan kemudian menyentuh wajah, mata, atau mulut (Lai *et al.*, 2020).

Gejala klinis infeksi SARS-CoV-2 sangat bervariasi dari satu pasien ke pasien lainnya. Virus diketahui pertama kali menyerang sel epitel pernafasan dan sel alveolar, diikuti oleh sistem pencernaan (Zhang *et al.*, 2020). Berdasarkan hal ini menunjukkan bahwa bahwa SARS-CoV-2 tidak jauh berbeda dari beberapa jenis *coronavirus* yang umumnya menyebabkan penyakit pernapasan ringan hingga berat pada manusia. Sehingga secara struktur SARS-CoV-2 dinilai memiliki kesamaan dengan *coronavirus* jenis lain (Su *et al.*, 2016; Cui *et al.*, 2019).

*Coronavirus* adalah virus RNA untai tunggal yang dapat menginfeksi berbagai inang termasuk unggas, hewan liar, spesies mamalia dan manusia. *Coronavirus* terkenal karena kemampuannya untuk bermutasi dengan cepat, mengubah tropisme jaringan, melewati barrier spesies, dan beradaptasi dengan situasi epidemiologis yang berbeda (Decaro *et al.*, 2010). Virus ini memiliki ukuran partikel 120-160 nm. Mereka termasuk dalam subfamili *Orthocoronavirinae* di bawah keluarga *Coronaviridae* (Wu *et al.*, 2020).

*Coronaviridae* dapat diklasifikasikan menjadi empat genus diantaranya yaitu *Alphacoronaviruses* ( $\alpha$ ), *Betacoronaviruses* ( $\beta$ ), *Gammacoronaviruses* ( $\gamma$ ), dan *Deltacoronaviruses* ( $\delta$ ). Virus yang berpotensi menginfeksi manusia ditempatkan di bawah genus  $\alpha$ -CoV dan  $\beta$ -CoV (SARS-CoV & MERS-CoV), sedangkan virus dari genus  $\gamma$ -CoV dan  $\delta$ -CoV paling banyak diketahui menginfeksi avians dan babi (Shah *et al.*, 2020). Virus corona utamanya menginfeksi hewan, termasuk di antaranya adalah kelelawar dan unta. Sebelum terjadinya wabah Covid-19, terdapat 6 jenis coronavirus yang dapat menginfeksi manusia, yaitu *alphacoronavirus* 229E, *alphacoronavirus* NL63, *betacoronavirus* OC43, *betacoronavirus* HKU1, *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus* (SARS-CoV), dan *Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus* (MERS-CoV) (Ren *et al.*, 2020). Dua diantaranya yaitu SARS-CoV dan MERS-CoV, telah menimbulkan masalah kesehatan masyarakat yang signifikan karena patogenesis dan tingkat kematian yang tinggi (Wu *et al.*, 2020).

SARS-CoV-2 termasuk dalam genus  $\beta$ -CoV. Berdasarkan filogenetis ditemukan bahwa SARS-CoV-2 menyimpan satu gen (ORF8) yang secara filogenetis paling dekat dengan CoV mirip SARS, tetapi berbeda di garis keturunan (Ren *et al.*, 2020). Hasil penelitian menunjukkan bahwa SARS-CoV-2 memiliki 96,3%, 89%, 79% dan 50% kesamaan genom dengan CoV kelelawar RaTG13, CoV ZXC21 mirip SARS, SARS-CoV, dan MERS-CoV yang menegaskan asal usul zoonosisnya. Dengan demikian, diketahui secara genom SARS-CoV-2 berasal dari kelelawar, yang kemudian menularkannya ke beberapa inang perantara yang tidak diketahui yang bertindak sebagai sumber penularan virus ke manusia (Helmy *et al.*, 2020, Shah *et al.*, 2020, Finkel, 2020).

Berikut adalah taksonomi dari SARS-CoV-2 berdasarkan hasil dari Tim kerja *Coronaviridae Study Group* (CSG), yang merupakan bagian dari *International Committee on Taxonomy of Viruses* (Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses, 2020) :

Kingdom: Riboviria

Ordo: Nidovirales

Subordo: Cornidovirineae

Famili : Coronaviridae

Subfamili: Orthocoronavirinae

Genus: Bethacoronavirus

Subgenus: Sarbecovirus

Spesies: SARS-related coronavirus

Individu: SARS-CoV-2 Wuhan-Hu-1

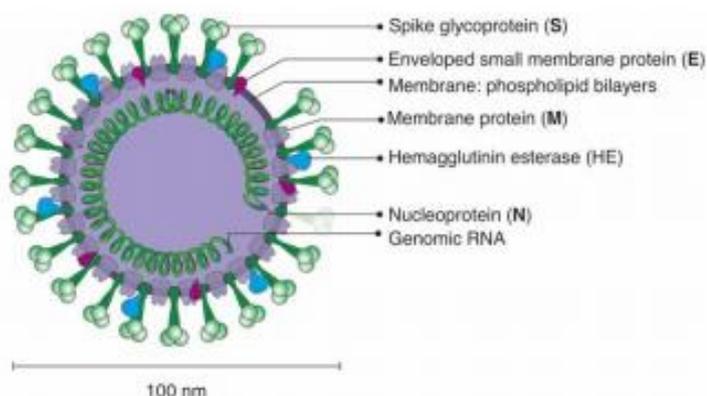
SARS-CoV-2 terdiri atas protein struktural, non struktural dan aksesori (Mittal *et al.*, 2020). Susunan genom SARS-CoV-2 mengandung 14 open reading frames (ORFs), yang mengkode 27 protein yang dibagi menjadi protein struktural dan non structural protein (NSP) (Zehra *et al.*, 2020). Dari total seluruh genom, sebanyak 33% bagian genom mengkode protein-protein struktural dan *accessory proteins* yang berperan penting dalam siklus hidup virus. Sedangkan 67% genom sisanya terdistribusi dalam 16 nonstruktural protein yang berbeda (seperti Mpro, helikase, RNA polimerase) yang lebih berperan dalam interaksi virus dengan reseptor sel (Wu *et al.*, 2020). Setidaknya virus ini memiliki empat protein struktural diantaranya yaitu *spike glikoprotein* (S), *membran protein* (M) *enveloped* (E), dan *protein nukleokapsid* (N), sedangkan protein pelengkap lainnya adalah

ORF3A, ORF6, ORF7A, ORF7B, ORF8, dan ORF10 (Helmy *et al.*, 2020). Semua *coronavirus* mengandung gen spesifik di daerah ORF1 yang mengkode protein untuk melakukan replikasi virus, pembentukan nukleokapsid, dan pembentukan *spikes*. *Spike* glikoprotein virus ini berwujud seperti mahkota di bawah mikroskop elektron; karenanya, mereka disebut sebagai *coronavirus*. Genom *coronavirus* menyandi beberapa protein struktural dan nonstruktural. Protein struktural bertanggung jawab untuk infeksi host, fusi membran, perakitan virus, morfogenesis, dan pelepasan partikel virus dan protein nonstruktural (nsp) memfasilitasi replikasi dan transkripsi virus (Mittal *et al.*, 2020).

*Spike* glikoprotein (S) pada permukaan luar bertanggungjawab atas perlekatan dan masuknya virus ke sel inang. *Receptor binding domain* (RBD) melekat di antara virus, oleh karena itu virus ini dapat menginfeksi beberapa host (Shereen *et al.*, 2020). *Spike* protein yang terdapat pada *envelope* berfungsi sebagai mediasi masuknya *coronavirus* ke dalam sel host dengan mengikat reseptor inang dan kemudian menggabungkan membran virus dan inang. Telah dilaporkan bahwa SARS-CoV-2 menggunakan host reseptor yang sama dengan SARS-CoV untuk masuk ke dalam sel yaitu *human Angiotensin Converting Enzyme* (hACE2). Analisis RBD dari S protein SARS-CoV dan SARS-CoV-2 mengungkapkan adanya afinitas pengikatan yang serupa (Wan *et al.*, 2020).

Protein M dan E adalah 2 protein struktural penting lainnya yang terdapat pada SARS-CoV 2. Protein M adalah glikoprotein transmembran khas yang terdiri dari *triple* domain membran yang mencakup 80 asam amino dan menyumbang sekitar sepertiga dari seluruh protein (total 221 residu). Protein ini bertindak sebagai protein struktural paling melimpah pada SARS-CoV selain itu juga memainkan

peran penting dalam respons humoral spesifik virus. Sedangkan protein E adalah polipeptida membran integral kecil yang membentuk saluran ion. Ketidakterdapatnya atau inaktivasi protein E dalam virulensi yang dilemahkan bisa disebabkan karena perubahan morfologi virion atau tropisme (Liu *et al.*, 2010). Protein N memiliki peran penting dalam patogenesis. Protein N berperan penting sebagai pembungkus RNA dan pelepasan partikel virus. Beberapa protein nonstruktural pada SARS-CoV-2 menyimpan aktivitas enzimatik, seperti aktivitas protease dan RNA polimerase yang diarahkan RNA. Memblokir aktivitas enzimatik ini akan menjadi strategi yang efektif untuk mengembangkan antivirus melawan SARS-CoV-2 (Li *et al.*, 2020).



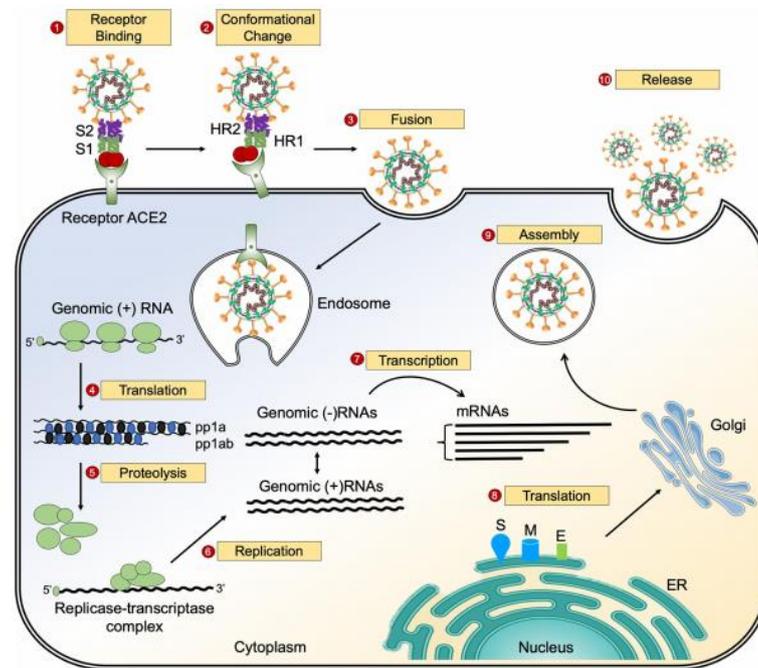
**Gambar 2.2** Struktur Virus SARS-CoV-2 (Mittal *et al.*, 2020)

Virus corona berikatan pada reseptor permukaan sel inang dan mengalami proses fusi membran dimediasi oleh protein *Spike* (S) yang terdiri dari dua subunit (S1 dan S2) (Zumla *et al.*, 2016). Dalam kasus SARS - CoV - 2, pembelahan dan aktivasi protein S diatur oleh TMPRSS2 protease intraseluler untuk menghasilkan bentuk tidak terkunci yang mempercepat fusi pada permukaan sel. Hal ini mendorong masuknya virus lebih awal (Hoffman *et al.*, 2020). Meskipun terdapat beberapa perbedaan dalam urutan asam amino protein S pada SARS - CoV - 2 dan

SARS - CoV, wilayah domain pengikat reseptor subunit S1 sangat mirip dan keduanya menggunakan reseptor seluler yang sama *human Angiotensin converting enzyme 2* (hACE2) untuk masuk ke sel target (Xu *et al.*, 2020).

Protein S pada SARS- CoV- 2 menunjukkan afinitas pada hACE2 yang sangat baik dimana dapat mengikat SARS-CoV-2 baik dalam konformasi terbuka maupun tertutup (Wrapp *et al.*, 2020). RBD dan kompleks spike hACE2 menunjukkan bahwa kapasitas pengikatan protein S SARS-CoV 2 dengan hACE2 secara signifikan lebih tinggi daripada SARS- CoV (Xu *et al.*, 2020). Selain itu, terdapat subunit S2 yang sangat kompleks berisi peptida, domain transmembran dan domain sitoplasma (de Abajo *et al.*, 2020). Khususnya, pada *hepeptide repeat 1* (HR1) dan *hepeptide repeat 2* (HR2) pada subunit S2 memainkan beberapa peran penting dalam regulasi fusi antara virus dan membran sel inang. HR1 dan HR2 berinteraksi membentuk bundel enam heliks, membuat virus dan membran sel mendekat dan fusi atau bergabung. SARS-CoV-2 memasuki sel target melalui fusi membran atau endositosis. Setelah masuknya virus ke dalam sel inang, RNA virus masuk ke dalam sitoplasma, poliprotein pp1a dan pp1ab diterjemahkan dan dibelah (proteolisis) untuk membentuk kompleks replikasi-transkripsi. Kompleks ini mendorong produksi RNA sense negatif [(D) RNA] melalui replikasi dan transkripsi. Selama replikasi, genom lengkap salinan (D) RNA dihasilkan dan digunakan sebagai template untuk genom (p) RNA . Selama transkripsi, RNA subgenomik yang lebih kecil digunakan untuk mengkodekan semua protein struktural yang akan dihasilkan. Nukleokapsid virus dirakit dari RNA genomik dan protein N dalam sitoplasma, kemudian bertunas ke dalam *ER-Golgi intermediate*

*cavity* (ERGIC). Partikel virus kemudian dilepaskan dari sel yang terinfeksi melalui eksositosis (Gambar 2.3) (Li *et al.*, 2020).



**Gambar 2.3** Mekanisme Masuknya SARS-CoV-2 (Li *et al.*, 2020)

## 2.2 Pemanfaatan Tanaman Obat dalam Perspektif Islam

Allah SWT memberikan banyak karunia-Nya kepada kita melalui setiap ciptaanNya. Jika kita merenung dan memikirkan semua ciptaan Allah SWT dapat di pastikan semua berguna dan bermanfaat bagi kehidupan manusia. Salah satu ciptaan Allah SWT. yang telah dibuktikan memiliki banyak manfaat bagi kehidupan manusia adalah tanaman. Allah SWT berfirman dalam (QS. Asy Syu'ara' 26:7) :

(٧) **أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَيْفَ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ**

Artinya : “Dan Apakah mereka tidak memperhatikan bumi, betapa banyak Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?”

Berdasarkan ayat tersebut dapat dipahami bahwa Allah SWT. menciptakan segala sesuatu dimuka bumi dengan tujuan yang baik dan segala yang diciptakan Allah SWT. pasti memiliki tujuan (Al Qarni, 2008). Salah satunya adalah tumbuhan yang dapat digunakan untuk pengobatan. Obat merupakan salah satu cara untuk menyembuhkan dan mencegah penyakit, berdasarkan hadist shahih yang diriwayatkan oleh Imam Bukhari, dari sahabat Abu Hurairah RA. bahwasanya Nabi Muhammad SAW. bersabda (Khan,1997) :

(HR. Bukhari No. 5678) مَا أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

Artinya: “Tidaklah Allah turunkan penyakit kecuali Allah turunkan pula obatnya”

Hadist tersebut menjelaskan bahwa Allah SWT merupakan Tuhan yang Maha Adil dan Bijaksana. Allah SWT. menguji hambaNya dengan suatu penyakit namun Allah SWT juga menyertakan obatnya dan penyakit tersebut akan sembuh sesuai kehendak-Nya (Fatah, 2010). Oleh karena itu, mengkaji pesan tersirat yang ada dalam QS. Surat Asy Syu'ara' 26:7 dan HR. Bukhari No. 5678 kita sebagai farmasis ulul albab harus memperhatikan manfaat dan khasiat tanaman bumi dengan melakukan penelitian dan pengembangan bidang tanaman obat untuk memperoleh berbagai obat potensial yang berasal dari tanaman yang berguna dalam bidang medis. Pada bidang farmasi tanaman dikenal memiliki potensi sebagai obat-obatan. Banyak obat sintesis yang berasal dari tanaman yang awalnya diuji komponennya kemudian disiolasi untuk mendapatkan senyawa aktifnya. Berdasarkan hal ini, maka Allah SWT. telah memberi kita ilmu untuk mengembangkan ilmu pengetahuan yang berguna bagi kehidupan manusia. Oleh karenanya, kita sebagai manusia harus mampu memaksimalkan karunia dari Allah SWT. yang merupakan bentuk rasa syukur kita kepada-Nya.

## **2.3 Tinjauan *Azadirachta indica* A. Juss. (Mimba)**

### **2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi *Azadirachta indica* A. Juss. (Mimba)**

Mimba atau dikenal juga *Neem* (*Azadirachta indica* A. Juss.), telah digunakan secara medis sepanjang sejarah oleh banyak budaya yang berbeda. Banyak senyawa telah ditemukan dalam eksudat tumbuhan *Azadirachta indica* yang telah digunakan secara medis oleh manusia. Nama sansekerta, 'arishtha' berarti 'pereda penyakit' dan dianggap sebagai 'kalpavriksh dari kalyuga'. Nama Persia adalah 'Azad- Darakth- E- Hind' yang berarti 'Pohon bebas di India'. Pohon mimba adalah pohon yang paling banyak diteliti di dunia dan konon menjadi pohon paling menjanjikan di abad ke-21 (Girish and Shankara,2008).

*Azadirachta indica* merupakan tumbuhan yang berasal dari India dan sebagian besar terdapat di negara-negara tropis dan subtropis, salah satunya adalah Indonesia (Hashmat *et al.*, 2012). Di Indonesia tumbuhan ini banyak ditemukan di pantai utara Lombok, Bali, Subang dan Jawa Timur, jumlah tumbuhan ini di Bali diperkirakan melebihi 500.000. Selain itu, pohon mimba juga banyak ditemukan di Lombok dengan perkiraan jumlah 250.000 hingga 300.000 ribu. Sedangkan di daerah lain di Indonesia jumlah tumbuhan ini cukup sedikit, yakni kurang dari 250.000 ribu pohon. Penyebaran pohon mimba yang cukup luas di Indonesia telah membuat tumbuhan ini dikenal di berbagai daerah di Bali dan Nusa Tenggara, disebut intaran sedangkan dikenal dengan mimba. Di Madura tumbuhan ini disebut dengan nama mimba, membha, atau mempheuh dan nama yang kemudian berkembang di masyarakat adalah mimba, namun ada juga yang menyebutnya nimba. Klasifikasi tumbuhan mimba adalah sebagai berikut (Sukrasno, 2003) :

Kingdom : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Subdivisi : Angiospermae

Class : Dicotyledonae

Ordo : Rutales

Familia : Meliaceae

Genus : *Azadirachta*

Species : *Azadirachta indica* A. Juss.



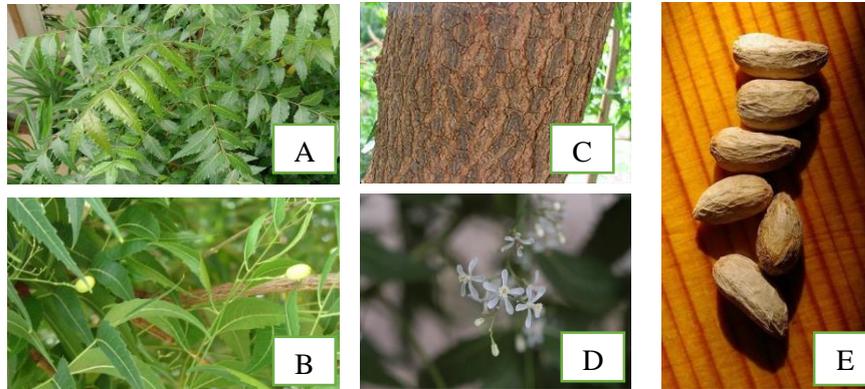
**Gambar 2.4** Pohon Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss.)  
(<https://www.feedipedia.org/node/182>)

Pohon mimba adalah pohon yang memiliki tinggi 20–23 m dengan batang tegak serta memiliki diameter sekitar 4-5 kaki (Girish and Shankara, 2008). Batang pohon ini tegak dan memiliki akar tunggang. Permukaan batangnya kasar, berbentuk bulat, berwarna coklat dan memiliki kulit kayu yang tebal (Ambarwati, 2011). Daunnya majemuk, dengan masing-masing terdiri dari 5–15 helai daun. Bentuk daun mimba lonjong dengan tepi yang bergerigi, ujung daun lancip sedangkan pangkal daunnya meruncing (Girish and Shankara, 2008; Ambarwati, 2011).

Bagian buah mimba berbentuk bulat lonjong dengan ukuran maksimal 2 cm, buah yang matang memiliki warna kuning atau hijau kekuningan. Umumnya buah

mimba dipanen setelah pohonnya berusia 3-5 tahun (Rukmana, 2002). Pada bagian biji mimba banyak dimanfaatkan sebagai pestisida alami karena didalamnya terdapat minyak mimba yang merupakan komponen aktif insektisida (Palupi dkk, 2016). Biji mimba terbungkus oleh daging buah dengan perbandingan berat buah dan biji adalah 50% : 50%, diameter 1 cm dan berwarna putih (Ambarwati, 2011).

Bunga mimba memiliki warna putih dan tersusun pada ranting secara aksilar. Jenis bunga mimba termasuk dalam bunga biseksual atau berkelamin ganda karena dalam satu bunga terdapat putik dan benang sari. Bentuk putiknya lonjong serta berwarna cokelat muda. Kelopak bunga dan makhota bunga berjumlah masing – masing lima dimana kelopak bunga memiliki warna hijau sedangkan makhota bunganya bertekstur halus dan berwarna putih (Kardinan, 2000). Menurut Sukrasno (2003) aroma bunga mimba seperti madu sehingga disukai oleh lebah.



**Gambar 2.5** Struktur Tanaman Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss.) antara lain: a. Daun, b. Buah, c. Kayu, d. Bunga, e. Biji

(<https://www.feedipedia.org/node/182>; [https://keyserver.lucidcentral.org/weeds/data/media/Html/azadirachta\\_indica.html](https://keyserver.lucidcentral.org/weeds/data/media/Html/azadirachta_indica.html))

### 2.3.2 Kandungan Senyawa dalam *Azadirachta indica* A. Juss. (Mimba)

Setiap bagian pohon mimba memiliki berbagai khasiat sebagai obat terutama pada bagian daun, kulit kayu, minyak, bunga, buah dan biji. Khasiat tersebut antarlain yaitu antialergi, antifungi, antibiotik, antidermatik, antibakteri,

antiinflamasi, antivirus, antimalaria dan aktivitas biologi lainnya. Ekstrak mimba pada bagian yang berbeda – beda diketahui memiliki peran penting dalam penghambatan beberapa mikroba yang meliputi virus, jamur dan bakteri (Calderon *et al.*, 2019). Senyawa alami dan turunan pada mimba menyediakan sumber obat baru yang sangat baik untuk melawan virus (Parasuraman *et al.*, 2017).

*Azadirachta indica* memiliki lebih dari 140 senyawa aktif kimiawi yang diisolasi dari berbagai bagiannya, yaitu biji, akar, bunga, buah, daun, dan kulit kayu dan digunakan secara tradisional untuk menyembuhkan banyak penyakit (Sharon, 2020). Metabolit sekunder yang terkandung pada tanaman ini seperti alkaloid, flavonoid, kuinon, terpenoid (Kurniati dkk., 2018), senyawa fenolik, karotenoid, steroid, dan keton (Kumar *et al.*, 2018). Berdasarkan hasil penelitian ditemukan bahwa senyawa paling aktif dalam Mimba adalah tetranortriterpenoid (juga disebut limonoid atau melia) yang terdapat khusus pada tumbuhan dengan ordo Rutales. Lebih dari 300 limonoid dikenal saat ini dan sepertiganya terdapat pada anggota Meliaceae, Mimba (*Azadirachta indica*) dan China berry (*Melia azedarach*) (Roxyhoudhury, 2016). Senyawa pada tanaman mimba dibagi lagi dua kelas utama: yaitu isoprenoid dan lain-lain. Isoprenoid tersebut termasuk diterpenoid dan triterpenoid yang mengandung *azadirone* dan turunannya, gedunin dan turunannya, senyawa jenis seperti *nimbin*, *salanin* dan *azadirachtin*. Hampir seluruh senyawa isoprenoid pada mimba merupakan limonoid. Senyawa limonoid yang paling penting adalah *azadirachtin*, *salannin* dan *nimbin* (Yasothea *et al.*, 2019).

Penelitian dari Siddiqui *et al.* (2004) menemukan konstituen aktif ekstrak daun mimba di antaranya yaitu *isomeldenin*, *nimbin*, *nimbinene*, *6-desacetylnimbinene*, *nimbandiol*, *immobile*, *nimocinol*, *quercetin*, dan  $\beta$ -sitosterol.

Selain kandungan senyawa aktif tersebut ditemukan adanya kandungan sterol pada Mimba diantaranya yaitu  $\beta$ -sitosterol, stigmasterol  $\Delta$ 5-avenasterol dan  $\Delta$ 5-24 stigmastadienol. Dimana kandungan  $\beta$ -sitosterol ditemukan paling banyak dibandingkan dengan sterol jenis lain (Djenontin *et al.*, 2012). Berikut adalah tabel sejumlah besar senyawa aktif yang di isolasi dari tanaman mimba :

**Tabel 2.1** Senyawa Pada Mimba (Sadeghian and Forough, 2007; Pankaj *et al.*, 2011; Roehyoudhury, 2016; Brushett, 2018)

No	Nama Senyawa	Asal
1.	<i>Nimbidin</i>	Minyak Biji Mimba, Daun
2.	<i>Sodium nimbate</i>	Minyak Biji Mimba, Daun
3.	<i>Salannin</i> dan turunannya	Biji, Minyak
4.	<i>Azadirachtin</i>	Biji, Daun, Kulit Kayu
5.	<i>Nimbin</i>	Biji, Daun
6.	<i>Nimbolide</i>	Daun
7.	<i>Gedunin</i> dan turunannya	Buah, Kulit Kayu
8.	<i>Azadirone</i>	Buah, Minyak, Daun
9.	<i>Azadiradione</i>	Buah, Minyak, Daun
10.	<i>Epoxyazadiradione</i>	Buah, Daun, Kulit kayu
11.	<i>Azadirachtol</i>	Biji
12.	<i>Quercetin</i>	Daun
13.	<i>Mahmoodin</i>	Minyak Biji Mimba
14.	<i>Gallic acid</i> , epikatekin dan katekin	Kulit Batang
15.	<i>Margolone</i> , <i>margolonone</i> dan <i>isomargolonone</i>	Kulit Batang
16.	<i>Cyclic trisulphide</i> dan <i>cyclic tetrasulphide</i>	Daun, Kulit Batang
17.	Polisakarida	Daun
18.	Polisakarida GIA, GIB	Kulit Batang
19.	<i>NB-II peptidoglucan</i>	Kulit Batang

### 2.3.3 Senyawa Limonoid dari *Azadirachta indica* A. Juss. (Mimba)

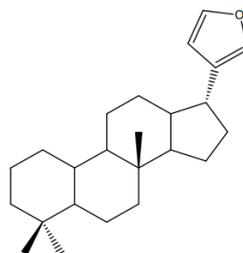
Terpenoid merupakan senyawa organik bahan alam terbesar dan termasuk metabolisme sekunder pada tanaman. Senyawa ini memiliki rumus dasar  $(C_5H_8)_n$ . Ciri khas dari senyawa terpen adalah terdiri dari unit berulang lima karbon yang disebut dengan unit isoprena (Heliawati, 2018). Senyawa terpenoid umumnya bersifat non polar sampai semi polar. Eksistensi senyawa terpenoid

dalam suatu tanaman dapat diidentifikasi dengan menggunakan reagen Liebermann-Burchard. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna ungu atau merah (Nurdin dkk, 2018). Umumnya senyawa terpenoid yang ditemukan pada keluarga Meliaceae merupakan golongan triterpenoid (Brushett, 2018).

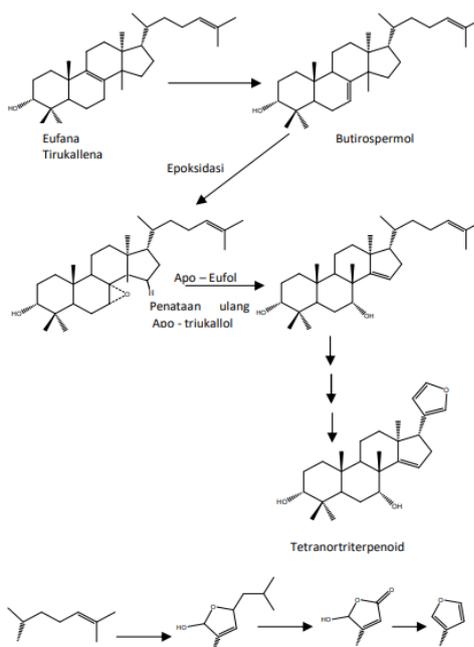
Triterpenoid merupakan senyawa yang ditemukan hampir diseluruh keluarga Meliaceae, dan khususnya pada kelas Rutaceae. Triterpenoid dalam bentuknya yang tidak diubah (atau tidak dimodifikasi) memiliki rumus molekul  $C_{30}H_{48}$ . Umumnya senyawa tersebut membentuk struktur tetrasiklik. Senyawa ini umumnya bersifat non polar sampai semi polar. Triterpenoid pada mimba termasuk dalam kelompok senyawa yang dikenal sebagai limonoid. Senyawa limonoid tersebut merupakan senyawa paling aktif pada tanaman mimba. Limonoid adalah tetranortriterpenoid, di mana "tetranor" mengacu pada hilangnya empat karbon dari kerangka  $C_{30}$  karena adanya degradasi oksidatif rantai  $C_{17}$ . Hal ini menyebabkan hilangnya empat atom karbon dan pembentukan furan. Limonoid dapat mengalami modifikasi lebih jauh termasuk terbukanya ring yang disebut dengan istilah seco. Misalnya, ring C seco atau ring D seco menunjukkan bahwa ring C atau D telah dibuka masing-masing cincin. Cincin C seco triterpen yang ditemukan dalam ekstrak mimba adalah *azadirachtin* dan cincin D seco yang ditemukan adalah *gedunin* (Brushett, 2018; Heliawati, 2018; Hodgson *et al.*, 2019; Kumar *et al.*, 2018).

Limonoid adalah suatu triterpenoid dengan atau turunan dari prekursor kerangka 4,4,8-trimetil-17-furanilsteroid (Gambar 2.6). Senyawa ini diperkirakan berasal dari struktur prekursor triterpenoid tetrasiklik dari dua jenis utama yaitu  $\Delta^7$ -tirukallol [H-20, C-20(R)] atau  $\Delta^7$ -euphol [H-20, C20(S)]. Menurut aturan

yang disepakati bahwa ikatan  $\Delta 7$  mengalami epoksidasi menjadi suatu 7-epoksida, yang kemudian epoksida tersebut terbuka dan menyebabkan terjadinya pergeseran Wagner-Meerwein dari metil pada karbon ke-14 ke karbon ke-8, sehingga dihasilkan gugus OH pada karbon ke-7 dan ikatan rangkap dua antara karbon ke-14 dan karbon ke-15. Rantai sampingnya membentuk siklik dengan kehilangan empat atom karbon dan membentuk cincin  $17\beta$ -furan. Tahap biosintesis ini selesai setelah terbentuknya kerangka 4,4,8- trimetilsteroid dengan sebuah rantai samping C-8 yang lengkap (Gambar 2.7). Pembentukan rangka limonoid berikutnya terjadi karena adanya suatu variasi oksidasi dan penataan ulang rangka, sehingga terdapat struktur ring C seco atau ring D seco (Mayanti, 2009).



**Gambar 2.6** Struktur Dasar Limonoid (Mayanti, 2009)

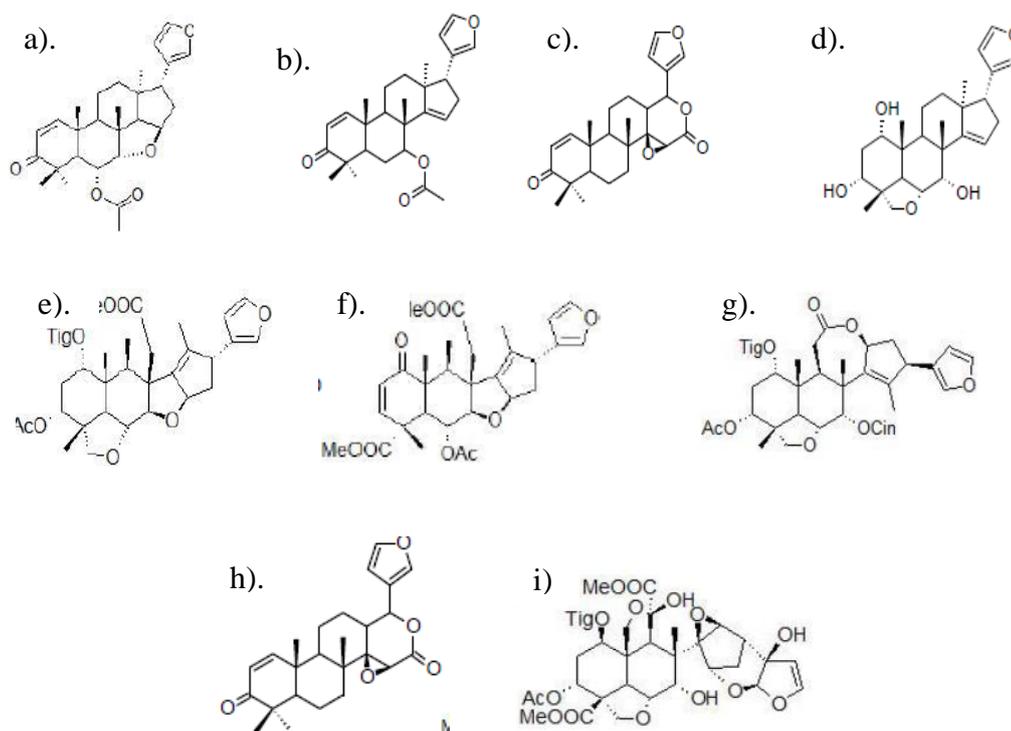


**Gambar 2.7** Jalur Biosintesis Limonoid (Mayanti, 2009)

Limonoid utama dalam inti biji dan minyak biji mimba adalah *azadirachtin*. Senyawa ini adalah senyawa kompleks dan cara kerjanya yang tepat masih belum sepenuhnya dipahami. *Azadirachtin* digunakan sebagai antifeedant serta pengatur pertumbuhan serangga. Selain itu terdapat senyawa aktif lainnya dari tanaman mimba yang memiliki antifeedant yang kuat diantaranya yaitu *salannin*, *salannol*, *salanolacetate*, *3-deacetylsalannin*, *epoxyazaradione*, *azadiradione*, *gedunin*, *nimbinen*, and *deacetylnimbinen*, *nimbolinin ohchinolide*, and *21-oxo-ohchinolid*. Senyawa – senyawa tersebut banyak ditemukan pada biji mimba dan daun mimba. Tetapi untuk senyawa *gedunin* juga ditemukan juga pada kulit batang mimba (Roxyhoudury, 2016). Selain itu penelitian dari Ponnusamy *et al* (2015) senyawa *azadirachtin A*, *azadirachtin B*, *salannin*, *nimbin* diisolasi dari inti biji mimba sedangkan *azadiradione*, *epoxyazadiradione*, *azadirone* banyak ditemukan dari kulit buah mimba.

Limonoid yang ditemukan pada pohon mimba termasuk dalam sembilan kelompok struktur dasar menunjukkan kelompok *azadirone*, *vepinnin*, *amoorastatin*, dan *vilasinnin* dengan empat cincin utuh dalam strukturnya. Kelompok *gedunin* dan turunannya (*deasectylgedunin*) memiliki cincin D terbuka (D seco). *Gedunin* adalah anggota paling representatif dari limonoid kelas ring d-seco. Dalam kelompok ini,  $\delta$ -laktone dalam cincin D yang berasal dari kelas *azadirone* mengalami ekspansi cincin oksidatif melalui reaksi tipe Baeyer-Villiger. Empat kelompok terakhir, *nimbin*, *nimbolinin*, *salannin*, dan *azadirachtin* adalah kelompok senyawa dengan cincin C seco. Mayoritas senyawa yang paling bioaktif dalam mimba adalah limonoid cincin C seco. Menarik untuk dicatat bahwa hanya tumbuhan yang termasuk dalam keluarga Meliaceae yang memproduksi C seco

triterpenoid, khususnya marga *Azadirachta* dan *Melia* (Brushett, 2018; Braga *et al.*, 2020). Berikut adalah gambar sembilan struktur dasar limonoid atau tetranortriterpenoid dari *Azadirachta indica* :



**Gambar 2.8** Struktur Dasar Tetranortriterpenoid pada Mimba a). Azadirone b). Vepininnin c). Amoorastatin d). Vilasinnin e). Gedunin f). Nimbin g). Nimbolinin h). Salannin i). Azadirachtin (Brushett, 2018)

Senyawa limonoid memiliki ciri khas utama yaitu sedikit hidrofilik dan dapat pelarut organik seperti hidrofilik, alkohol, keton dan ester. Adapun senyawa *azadirachtin*, senyawa yang paling banyak ditemukan pada tanaman mimba, senyawa ini memiliki sifat mudah teroksidasi, karena mudah mengalami oksidasi senyawa ini termasuk dalam triterpen polar disamping itu senyawa ini memiliki banyak gugus hidroksil yang meningkatkan sifat kepolarannya. Selain itu, senyawa ini memiliki kelarutan rendah dalam minyak. Triterpen utama lainnya, seperti *salannin*, *nimbin*, *gedunin* bersifat kurang polar sehingga memiliki kelarutan

yang lebih tinggi dalam minyak. Beberapa penelitian mengenai struktur atau aktivitas yang telah dilakukan senyawa terpenoid menunjukkan bahwa terpen hidrokarbon menunjukkan kemampuan penetrasi yang paling kecil, diikuti oleh terpen alkohol dan keton. Tingkat penetrasi tertinggi diamati pada terpen eter siklik (Brushett, 2018, Pankaj *et al.*, 2011).

#### **2.3.4 Penelitian Mengenai Potensi *Azadirachta indica* A. Juss (Mimba) sebagai Antivirus**

*Azadirachta indica* A. Juss. telah diteliti dan diketahui memiliki potensi sebagai antivirus (Chundran dkk., 2015). Penelitian mengenai tanaman *Azadirachta indica* telah dilakukan sejak lama dimulai dari penelitian dari SaiRam *et al* (2000) yang menguji ekstrak *neem oil* sebagai antivirus untuk *poliovirus*. *Neem oil* memiliki kandungan senyawa triterpenoid khususnya limonoid yaitu *azadirachtin*, *salannin*, *nimbin*, *nimbidin*, *sodium nimbate*, *nimbolide*, *gedunin* dan *mahmoodin* (Kumar *et al.*, 2018).. Hasil menunjukkan *neem oil* sangat menghambat replikasi virus polio dalam sel vero dibuktikan dengan peningkatan serapan merah oleh sel yang terinfeksi virus yang diberi *neem oil* dibandingkan dengan sel yang terinfeksi virus saja. Namun fakta menunjukkan bahwa *neem oil* tidak menghambat replikasi virus ketika infeksi sudah dimulai menunjukkan bahwa aktivitas antivirus *neem oil* lebih disebabkan oleh inaktivasi virus secara langsung daripada menghambat replikasinya (SaiRam *et al.*, 2000).

Parida *et al* (2002) pada penelitian ini dilakukan penelitian potensi antivirus *Dengue* tipe-2 pada ekstrak *aqueous* daun mimba. Diketahui bahwa ekstrak *aqueous* mengandung senyawa aktif utama yaitu *azadirachtin*, *deacetylnimbin*, *azadiradione*, *epoxyazadiradione*, *nimbin*, *salannin*, *nimbolide*, *nimbolin*,

*nimbinene*, dan *azadirone* (Sadeghian and Forough, 2007). Hasil penelitian menunjukkan studi in vivo ekstrak *aqueous* daun mimba pada mencit menyusui melalui inokulasi intraserebral menunjukkan adanya efek penghambatan pada virus *Dengue* tipe-2 dengan menekan replikasi virus baik secara in vitro maupun in vivo. Ekstrak *aqueous* daun mimba menghambat virus pada dosis non-toksik dalam kisaran 120-30 mg ml yang ditunjukkan dengan tidak adanya patogenesis pada mencit menyusui serta tidak adanya ampikon spesifik virus 511 bp oleh RT-PCR. Daun mimba menunjukkan efek perlindungan pada virus *Dengue* tipe-2 dengan menghambat replikasi virus dalam sel C<sub>6</sub>/36 seperti yang ditunjukkan oleh tidak adanya *cytopathic effects* (CPE) pada sel yang terinfeksi serta tidak adanya manifestasi klinis/patogenesis pada mencit yang selanjutnya dikonfirmasi oleh RT-PCR dan menunjukkan penghambatan RNA virus (Parida *et al.*, 2002).

Penelitian mengenai potensi antivirus tanaman *Azadirachta inidica* pada virus *Human Immunodeficiency Virus* (HIV) telah dilakukan. Hasil studi menunjukkan ekstrak *aqueous-acetone* daun mimba memiliki potensi sebagai agen antiretroviral dengan kemungkinan mekanismenya melibatkan penghambatan invasi virus ke sel inang. Selain itu hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak daun mimba memiliki aktivitas *anticytoadhesion* yang mungkin terkait dengan mekanisme aktivitas antiretroviralnya (Udeinya *et al.*, 2004).

Penelitian mengenai potensi antivirus dari tanaman mimba dilakukan oleh Tiwari *et al* (2010) terhadap *Herpes Simplex Virus* (HSV) tipe 1. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kulit kayu mimba bila digunakan dalam konsentrasi 50 hingga 100µg/mL memiliki efek penghambatan pada penyebaran *Herpes Simplex Virus* (HSV) tipe 1. Ekstrak tersebut secara signifikan menghambat

masuknya HSV-1 dan glikoprotein virus memediasi fusi sel ke sel dalam model kultur sel. Hal ini menunjukkan adanya peran potensial ekstrak kulit kayu mimba pada proses fusi virus. Selain itu, terdapat penelitian yang menguji ekstrak biji mimba sebagai antivirus *Duck Plague Virus* (DPV). Biji mimba mengandung senyawa *azadirachtin salannin, salannol, salannolacetate, 3-deacetylsalannin, azadiradione, 14-epoxyazaradione, gedunin, nimbinen, and deacetylnimbinen, vilasinin derivatives, meliantriol, azadiradione, and 14-epoxyazadiradione, 6-O-acetylnimbandiol* dan *3-deacetylsalannin* (Roehyoudhury, 2016). Hasil aktivitas antivirus ekstrak biji mimba terhadap DPV menunjukkan ekstrak biji Mimba memiliki aktivitas antivirus terhadap DPV dalam *Duck Embryo Fibroblasts* (DEF) dengan nilai dengan  $IC_{50}$  (inhibisi replikasi)  $10,9 \mu\text{g} / \text{mL}$  dan  $CC_{50}$  (efek sitotoksik)  $182 \mu\text{g} / \text{mL}$ . Berdasarkan hasil tersebut terdapat pengurangan jumlah plak yang menunjukkan efek antivirus dari ekstrak biji mimba (Xu *et al.*, 2012). Penelitian dari Trivedi *et al* (2019) yang menggunakan ekstrak daun mimba sebagai antivirus *Coxsackievirus* B-4 juga menunjukkan hasil yang positif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun mimba memiliki aktivitas melawan virus *Coxsackievirus* B-4 dan diduga mengganggu tahapan awal replikasi siklus virus. Aktivitas antivirus pada daun mimba disinyalir karena adanya flavonoid, triterpenoid dan glikosida pada daun mimba .

Sarkar *et al* (2020) meneliti potensi ekstrak kulit kayu mimba sebagai antivirus pada *Murine coronavirus* (M-CoV) atau dikenal dengan *Mouse Hepatitis Virus* (MHV). MHV merupakan virus yang termasuk dalam family coronavirus dengan genus *betacoronavirus*, virus ini menginfeksi tikus dengan berikatan pada reseptor CEACAM1. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kulit kayu

mimba bertindak sebagai agen anti-virus langsung yang menghambat masuknya virus dan penyebaran virus ketika masa inkubasi sebelum terjadi infeksi. Pemberian ekstrak kulit kayu mimba pada masa preinkubasi virus menyebabkan berkurangnya virus yang masuk dan replikasi virus bersama dengan menghambat proses replikasi virus. Hasilnya, ekstrak kulit kayu mimba mengurangi peradangan saraf akut dan kronis. Pengobatan ekstrak kulit kayu mimba pada infeksi virus di neuroblastoma murine sel mengurangi fusi sel ke sel dan ekspresi gen nukleokapsid virus pada tingkat mRNA. Diketahui bahwa kulit kayu mimba mengandung senyawa 6-*diterpenoids*, *gedunin*, *tannins*, *polisakarida*, *18-diterpenoid*, *nimbin*, *nimbinin* (*epoxyazadiradione*), *nimbidin* (Rochyhoudhury, 2016). Kemungkinan senyawa – senyawa tersebutlah yang berperan sebagai antivirus.

## **2.4 Tinjauan Reseptor SARS-CoV-2**

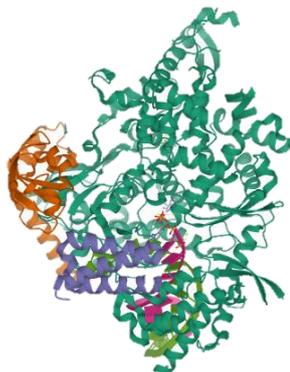
### **2.4.1 Reseptor SARS-CoV-2 RdRp (PDBid: 7BV2)**

*Corona Virus Disease – 19* (Covid-19) yang menjadi pandemi disebabkan oleh virus SARS-CoV-2. Virus ini terdiri atas protein struktural dan non struktural (Mittal *et al.*, 2020). Salah satu protein yang berperan dalam replikasi virus adalah non struktural protein 12 (nsp12) atau yang dikenal dengan *RNA-dependent RNA polymerase* (RdRp). *RNA-dependent RNA polymerase* (RdRp) adalah subunit sentral yang berperan untuk mesintesis RNA dan terdapat pada hampir semua virus RNA untai positif. Diasumsikan bahwa replikasi dan transkripsi genom RNA *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus* (SARS-CoV) dikatalisis oleh domain RdRp di bagian C-terminal dari protein non struktural 12 (nsp12), satu dari 16 subunit replikase yang bertanggung jawab untuk produksi untai negatif RNA (-RNA), genom molekul baru dan pada banyak kelompok virus juga berperan sebagai

subgenomik (sg) *messenger* RNA (mRNA) (Singh *et al.*, 2020). Diketahui bahwasanya sebagian besar virus RNA memerlukan RdRp untuk replikasi dan transkripsi genom virus, sehingga penting untuk kelangsungan hidupnya. RdRp memainkan peran penting dalam siklus hidup virus, dan karena tempat aktif RdRp adalah wilayah yang dapat diakses sehingga menargetkan wilayah ini untuk penghambatan replikasi virus mungkin merupakan pendekatan terapeutik yang efektif (Aftab *et al.*, 2020). Terdapat obat sintesis yang bekerja pada RdRp protein salah satunya yaitu Remdesivir, namun hingga saat ini belum diketahui efektivitasnya dalam melawan SARS-CoV-2. Walaupun belum diketahui pasti efektivitasnya obat ini banyak digunakan sebagai *guideline* penanganan Covid-19 di beberapa negara termasuk Indonesia (Neldi dan Suhajarno, 2020).

Salah satu struktur RdRp SARS-CoV-2 yang dirilis oleh *Protein Data Bank* (PDB) adalah 7BV2. Struktur ini merupakan struktur kompleks *nsp12–nsp7–nsp8 complex bound to 12 primer* dengan remdesvir dipublikasikan pada minggu pertama Mei 2020. Koreksi atas struktur ini juga dilaporkan pada bulan Juni 2020 yang memiliki tambahan pada ujung terminal-C dan penghapusan ion  $Mg^{2+}$ . Struktur ini telah memungkinkan para peneliti untuk mengembangkan inhibitor terhadap SARS-CoV-2 RdRp dengan mempertimbangkan interaksi yang diamati antara RdRp dan remdesivir dan memahami perannya dalam efek penghambatan. Struktur telah mengungkapkan peran Lys545, Leu759 dan Ser814 dengan membentuk interaksi non-kovalen yang kuat antara obat dan target. Berdasarkan hasil penelitian ini juga didapatkan nilai RMSD struktur PDBid:7BV2 yang terbaik yaitu 1,68 °A (Koulgi *et al.*, 2020). Penelitian lain dari Dahab *et al* (2020) menggunakan reseptor PDBid:7BV2 sebagai target mengemukakan hasil bahwa

binding interaction antara reseptor PDBid:7BV2 dengan *native ligand* (Remdesivir) memiliki docking score -5.9 dan diketahui bahwa terdapat 5 ikatan dengan Arg553, Asp623, Asn691, Leu759 dan Ser682.



**Gambar 2.9** Struktur nsp12-nsp7-nsp8 complex bound to the template-primer RNA and triphosphate form of Remdesivir (RTP) (PDBid : 7BV2)

<https://www.rcsb.org/structure/7BV2>

## 2.5 Penambatan Molekuler

### 2.5.1 Penambatan Molekuler (*Molecular docking*)

Metode pengujian dengan simulasi komputer disebut dengan *in silico*. Metode ini banyak digunakan sebagai screening awal penemuan senyawa obat baru. Kegunaan dari uji *in silico* yaitu mampu memprediksi, memberikan hipotesis dan gambaran inetraksi senyawa obat baru dan memberikan kemajuan dalam bidang pengobatan (Hardjono, 2013). Metode ini terdiri dari tiga ruang lingkup yang pertama adalah studi *docking*, mengarah pada pendekatan ikatan antara ligan dengan. Selain itu terdapat ruang lingkup bioinformatika yang mengarah pada pengelolaan data informasi biologis mengenai target obat yang berasal dari genom

dan ruang lingkup yang terakhir adalah formasi kimia yang mengarah pada korelasi antara aktivitas dan struktur kimia dengan pemodelan statistika (Suharna, 2012).

*Molecular docking* atau penambatan molekuler merupakan salah satu jenis uji *in silico* yang banyak digunakan. *Molecular docking* berperan penting dalam keberhasilan desain obat secara struktural dan telah banyak digunakan di dunia industri maupun akademis (Irwin *et al.*, 2009). Pengembangan obat-obatan dengan *molecular docking* diharapkan dapat menghemat biaya dan waktu pencarian senyawa obat baru (Huang and Zou, 2007). Teknologi *molecular docking* digunakan untuk tiga tujuan utama dalam beberapa tahapan proses pengembangan obat, yaitu (Leach, Shoicet, and Peishoff, 2006) :

1. Memprediksi model ikatan ligan aktif yang telah diketahui
2. Menggunakan skrining virtual untuk menemukan ligan baru
3. Memprediksi afinitas ikatan dari beberapa senyawa aktif

Adanya dua molekul (sebagai reseptor dan ligan) diharapkan metode *molecular docking* merupakan suatu upaya untuk memprediksi model pengikatan dengan menggunakan fungsi nilai tertentu untuk mengevaluasi nilai energi dari konformasi ikatan yang berbeda (Huang and Zou, 2007).

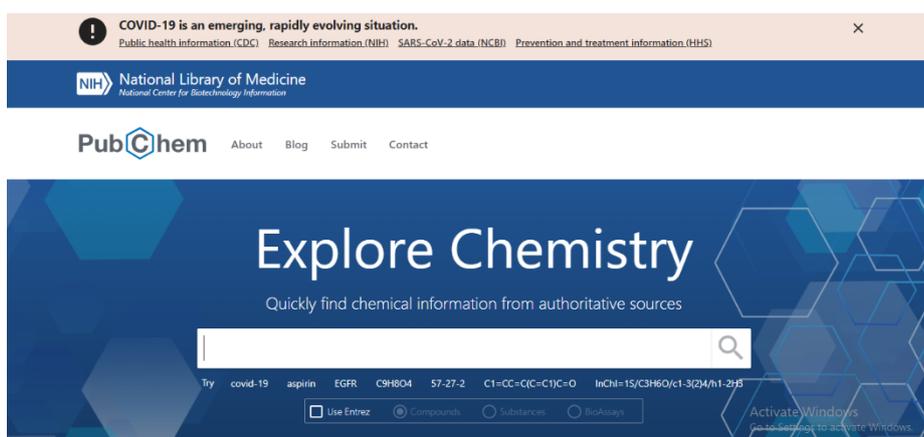
### **2.5.2 Database Reseptor dan Ligan**

Sumber database yang digunakan untuk memperoleh data mengenai ligan didapatkan dari *PubChem* (<http://PubChem.ncbi.nlm.nih.gov>) sedangkan reseptor diperoleh dari *Protein Data Bank* (PDB; <http://www.rcsb.org.pd>). *PubChem* merupakan database publik yang berisi informasi tentang senyawa kimia dan aktivitas biologisnya, diluncurkan pada tahun 2004 sebagai komponen dari *the Molecular Libraries Roadmap Initiatives* dari *National Institutes of Health* (NIH).

*PubChem* terdiri dari tiga database yang saling terkait yaitu *Substance*, *Compound*, dan *BioAssay* (Kim *et al.*, 2016). Situs ini dapat digunakan untuk mengakses data mengenai struktur kimia suatu senyawa yang berfungsi sebagai ligan pada proses *docking*. Sedangkan *Protein Data Bank* (PDB) merupakan suatu database yang menyimpan data struktur tiga dimensi makromolekuler biologis. Situs ini dikelola oleh *Research Collaboratory for Structural Bioinformatics* (RSCB) (Berman *et al.*, 2000). PDB digunakan untuk mengakses data mengenai reseptor yang digunakan pada proses *docking*.



**Gambar 2.10** Sumber Database Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>)



**Gambar 2.11** Sumber Database PubChem(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)

## 2.6 Aplikasi Penunjang

### 2.6.1 SwissADME

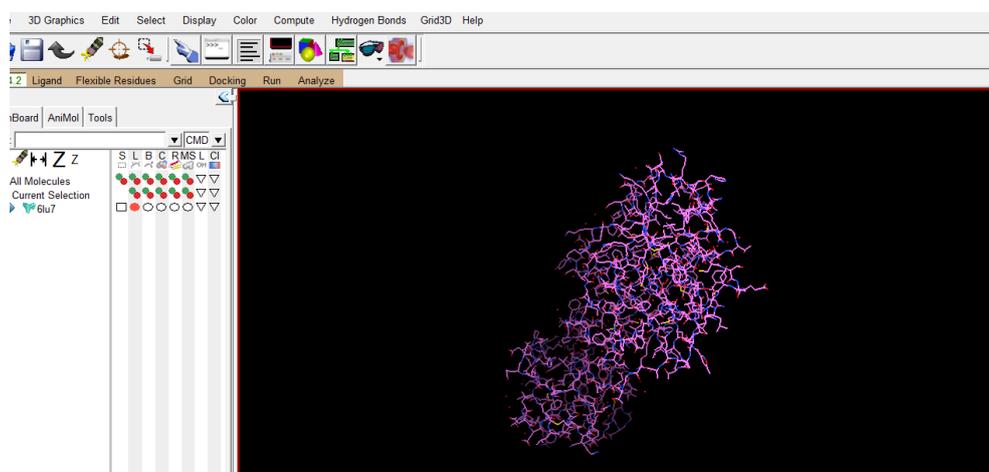
SwissADME dijalankan oleh *Institut Bioinformatika Swiss* (SIB). SwissADME merupakan aplikasi *online* yang dapat diakses secara bebas pada website (<http://www.swissadme.ch>) dan dimaksudkan untuk memudahkan analisis ADME (*Absorption, Distribution, Metabolism and Excretion*) dan farmakokinetik dari suatu molekul. Dibandingkan aplikasi berbasis *website* gratis lain untuk analisis ADME dan farmakokinetik, SwissADME memiliki kelebihan yaitu: metode masukan yang berbeda, dapat menghitung beberapa molekul sekaligus, dan kemungkinan untuk menampilkan, menyimpan, dan berbagai hasil per molekul individu atau melalui grafik yang intuitif dan interaktif. Aplikasi ini juga dilengkapi dengan *physicochemical descriptor* yang dapat digunakan untuk memprediksi aktivitas suatu senyawa berdasarkan strukturnya, sehingga dapat digunakan untuk prediksi sifat fiiskokimia pada proses penemuan senyawa obat baru sesuai dengan aturan dari hukum lima Lipinski (Dania *et al.*, 2017).



**Gambar 2.12** Aplikasi SwissADME (<http://www.swissadme.ch/index.php>)

### 2.6.2 Autodock Vina

*Autodock Vina* merupakan sebuah program yang digunakan untuk proses *molecular docking*. *Autodock Vina* memiliki akurasi sangat baik dan banyak digunakan untuk menghitung *binding affinity* antara ligan (molekul) dengan protein. Kelebihan lain dari *Autodock Vina* yaitu pada saat proses *molecular docking*, dapat dilakukan lebih dari satu molekul sekaligus dengan tidak adanya batasan jumlah atom maksimum dan ukuran maksimum *grid map*. Penggunaan software *Autodock Vina*, terintegrasi dengan *MGLTools* untuk preparasi berkas masukan, *Python* sebagai bahasa pemrograman yang digunakan, *wxPython* sebagai antarmuka pengguna grafis (GUI/ *graphical user interface*), serta *Open Babel* untuk mengubah format berkas dari *sdf*. dan *mol* (Troott and Olson, 2009; Wolf,2009).



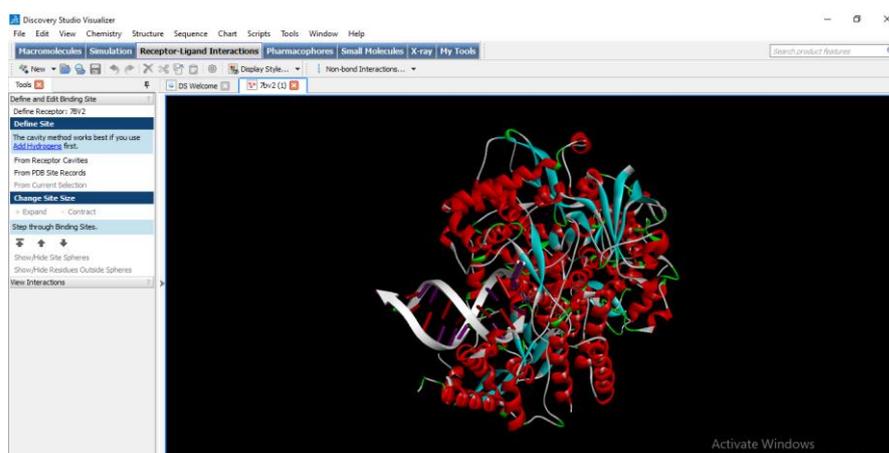
**Gambar 2.13** Tampilan Autodock

(Sumber Menggunakan Aplikasi *Autodock*)

### 2.6.3 Discovery Studio Visualizer

*Discovery Studio Visualizer* merupakan software gratis yang dapat digunakan untuk preparasi serta analisis data pada proses penambatan molekuler. Perangkat ini memiliki visualisasi gambar yang interaktif untuk melihat struktur molekul, urut, data refleksi X-ray, *script* dan data lainnya (Accelrys Enterprise

Platform, 2005). Selain itu, perangkat lunak ini dapat digunakan untuk menganalisis interaksi ligan terhadap *active binding site* pada reseptor secara 2D termasuk pada jenis ikatan dan asam amino yang berinteraksi. Analisis ini disebut dengan analisis *pharmacophore*. Dengan adanya analisis ini dapat diketahui ikatan ligan yang mempengaruhi aktivitas reseptor (Widodo dkk., 2018).



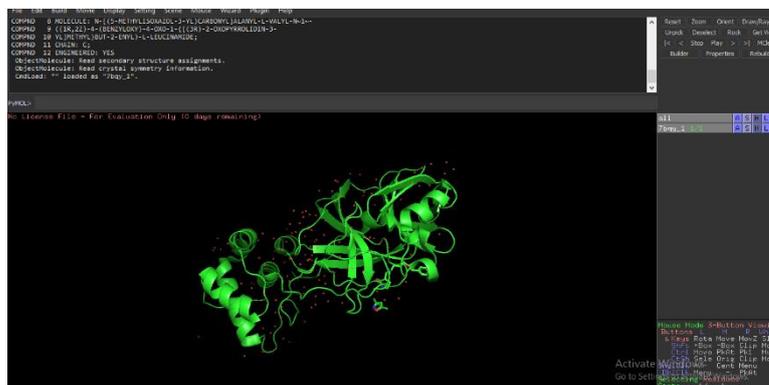
**Gambar 2.14** Aplikasi *Discovery Studio Visualizer*

(Sumber Menggunakan Aplikasi *Discovery Studio Visualizer*)

#### 2.6.4 PyMol

PyMol merupakan suatu program yang dapat digunakan untuk preparasi protein sebelum dilakukan proses *docking*. Program ini dapat membantu untuk menghilangkan *native ligand*, air dan residu yang tidak diinginkan yang berikatan pada protein yang akan *didocking*. Selain untuk preparasi PyMol dapat digunakan untuk visualisasi senyawa kimia dalam bentuk tiga dimensi serta dapat digunakan untuk menghitung RMSD. Visualisasi berguna untuk lebih memahami dan struktur suatu molekul dan PyMol mampu menampilkan hasil visualisasi lebih dari satu struktur (mulai dari molekul kecil sampai makromolekul) dalam beberapa warna. Sistem grafik molekuler PyMol telah berkembang menjadi penampil molekuler

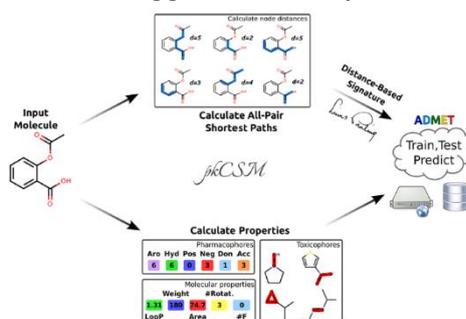
yang kuat dan pemrograman menggunakan *Python* menjadikan *software* ini mudah digunakan secara luas tanpa mengubah kode-kode utama. Perangkat lunak ini dikembangkan DeLano Scientific LLC (DeLano and Bromberg, 2004; Widodo dkk., 2018).



**Gambar 2.15** Aplikasi PyMol  
(Sumber Menggunakan Aplikasi PyMol)

### 2.6.5 pkCSM Online Tool

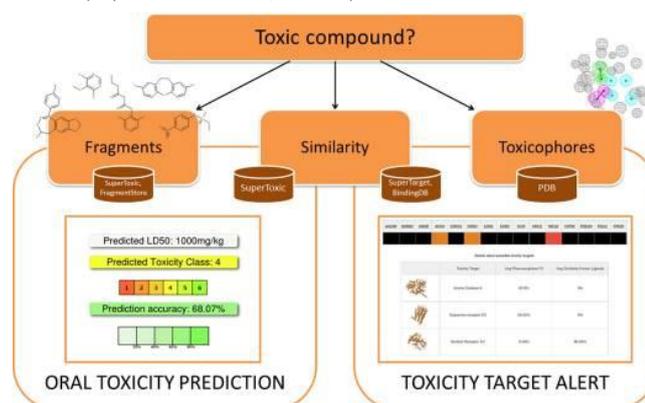
Pendekatan secara *in silico* untuk memprediksi sifat farmakokinetik dan toksisitas senyawa dari struktur kimianya telah banyak dikembangkan. Hal ini dikarenakan interaksi antara farmakokinetik, toksisitas, dan potensi sangat penting untuk mengetahui efektivitas suatu obat. Salah satu aplikasi gratis yang digunakan untuk optimalisasi farmakokinetik dan toksisitas adalah *pkCSM Online Tool*. Aplikasi ini memiliki kemampuan yang baik untuk menangani kumpulan data yang besar dan telah menyusun data toksisitas tikus lebih dari 10.000 molekul dan mengklasifikasi metabolisme hingga 18.000 senyawa (Pires *et al.*, 2015).



**Gambar 2.16** Mekanisme Aplikasi pkCSM Online Tool (Pires *et al.*, 2015).

### 2.6.6 Protox Online Tool

*Protox online tool* merupakan salah satu aplikasi yang dapat digunakan untuk memprediksi toksisitas suatu senyawa. Biasanya, prediksi toksisitas untuk satu senyawa dapat diketahui dalam hitungan detik setelah kita memasukkan kode SMILES atau struktur suatu senyawa. Hasil yang didapatkan dibagi menjadi dua bagian yakni prediksi toksisitas oral akut dan indikasi kemungkinan target toksisitas (Gambar 2.17). Hasil prediksi toksisitas secara oral didasarkan pada analisis kesamaan 2D dan pengenalan fragmen toksik. Selain prediksi LD<sub>50</sub> dalam mg / kg, senyawa juga diklasifikasikan ke dalam kelas toksisitas mulai dari I hingga VI, menurut sistem klasifikasi pelabelan bahan kimia yang diselaraskan secara global (GHS, United Nations) (Drwal *et al.*, 2014).



**Gambar 2.17** Mekanisme Aplikasi *Protox Online Tool* (Drwal *et al.*, 2015)

## 2.7 Ikatan Reseptor – Ligan

### a. Interaksi Elektrostatik

Ikatan pada interaksi elektrostatik yaitu ikatan ion dan ikatan van der Waals. Ikatan ion merupakan suatu ikatan yang terjadi ketika 2 gugus protein yang mempunyai muatan berlawanan (pasangan ion) saling berinteraksi. Ikatan ion merupakan ikatan yang kuat tetapi dalam menstabilkan struktur suatu protein tidak terlalu berperan banyak. Hal ini disebabkan karena pasangan ion yang tersembunyi

(*unsolvated*) tidak banyak ditemukan pada protein dan pasangan ion dibagian luar. Interaksi elektostatik yang lain adalah ikatan van der Waals. Ikatan ini terjadi karena adanya interaksi elektostatik diantara dipol-dipol. Ikatan ini khas untuk molekul yang bersifat nonpolar dan bertanggung jawab pada berbagai macam interaksi atom-atom yang berdekatan. Interaksi yang penting dalam pengikatan protein diantaranya yaitu interaksi dipol permanen, antara gugus karboksil, dan gugus amida. Walaupun ikatan van der Waals lemah namun terjadi dalam jumlah besar sehingga mempunyai peran yang penting dalam menentukan stabilitas protein (Voet and Judith, 2011).

#### **b. Ikatan Hidrogen**

Ikatan hidrogen merupakan suatu interaksi elektostatik antara gugus donor yang bersifat asam lemah dengan atom dari suatu reseptor yang membentuk pasangan elektron bebas. Ikatan hidrogen ini terbentuk diantara sesama molekul internal (dalam polipeptida) atau antara molekul internal dengan air. Ikatan hidrogen merupakan ikatan utama yang menjaga kestabilan protein (Voet and Judith, 2011).

#### **c. Interaksi Hidrofobik**

Interaksi hidrofobik disebabkan oleh adanya suatu gaya sehingga senyawa non polar mengatur dirinya sedemikian rupa untuk meminimalkan kontak dengan air atau senyawa amphipatik, membentuk struktur seperti misel di dalam air. Protein yang membentuk misel sebagian besar rantai sampingnya yang bersifat non polar akan menjauhi kontak dengan air, maka adanya interaksi hidrofobik dapat mendukung kestabilan suatu protein (Voet and Judith, 2011).

## 2.8 Hukum Lima Lipinski

Sifat fisikokimia suatu senyawa dapat dianalisis berdasarkan hukum lima Lipinski atau yang dikenal dengan RO5 (*Rule of Five*), yang berarti bahwa nilai dari setiap aturan merupakan kelipatan lima (Leo, 1971). Hukum lima Lipinski mendefinisikan empat rentang parameter fisikokimia meliputi berat molekul suatu senyawa  $\leq 500$  Da, *Hydrogen Bond Donors* (HBD) yang dinyatakan dengan jumlah gugus O-H dan N-H  $\leq 5$ , *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA) yang dinyatakan dengan jumlah atom O dan N  $\leq 10$ , dan nilai logaritma koefisien partisi oktanol/ air (Log P)  $\leq 5$ . Parameter tersebut sesuai dengan 90 % obat oral yang telah mencapai fase klinis II. Dalam penelitian lebih lanjut ditambahkan parameter berupa nilai *Topological Polar Surface Area* (TPSA) tidak lebih dari  $140 \text{ \AA}^2$  dan tidak memiliki lebih dari 10 ikatan hidrogen yang berotasi (*Torsion*). Adanya parameter fisikokimia ini terkait absorpsi obat yang dapat diterima serta permeabilitasnya yang merupakan langkah awal dalam ketersediaan hayati obat oral. Jika suatu senyawa gagal memenuhi hukum lima Lipinski maka kemungkinan besar terdapat masalah terkait absorpsi obat secara oral. Namun, suatu senyawa yang memenuhi hukum lima Lipinski tidak menjamin memiliki aktivitas yang baik karena hukum ini tidak berkaitan dengan struktur kimia tertentu yang terdapat dalam suatu senyawa (Lipinski, 2004; Chagas *et al.*, 2018).

## 2.9 Toksisitas

Toksisitas adalah pengujian untuk mendeteksi efek toksik guna memperoleh informasi atau data yang berkaitan dengan toksisitas suatu zat tertentu pada hewan uji. Uji toksisitas diklasifikasikan menjadi uji toksisitas umum dan uji toksisitas spesifik. Uji toksisitas umum meliputi uji toksisitas akut 24 jam, uji

toksistas subkronis 26 minggu, dan uji toksistas kronik 1 tahun. Uji toksistas khusus meliputi uji teratogen atau kelainan janin, uji mutagenesis atau uji dengan mengubah informasi DNA, dan uji karsinogenisitas (Ngatidjan, 2006). Toksistas akut ini diteliti pada hewan uji untuk mendapatkan penilaian keamanan terhadap komponen kimia yang digunakan dalam produk rumah tangga, bahan tambahan makanan, kosmetik, dan obat-obatan (Donatus, 2005).

Uji toksistas akut digunakan untuk mendeteksi gejala toksistas yang akan muncul pada tubuh manusia dalam waktu singkat setelah pemberian oral sediaan uji dalam dosis tunggal atau berulang dalam waktu 24 jam, kemudian dilakukan pengamatan selama 14 hari (BPOM RI, 2014). Tes toksistas akut biasanya berhubungan dengan *Lethal Dose* 50 (LD<sub>50</sub>), yang merupakan dosis tunggal suatu zat yang dapat menyebabkan kematian 50% hewan percobaan (Lu, 1991). Semakin besar nilai LD<sub>50</sub> maka bahan uji semakin aman. Nilai LD<sub>50</sub> digunakan sebagai indikator kuantitatif dalam uji toksistas akut (Hodgson, 2010). Selain parameter LD<sub>50</sub>, terdapat parameter lain yang terkait dengan pengujian toksistas yaitu *skin sensitization*, *hepatotoxicity* dan *ames toxicity*.

*Skin sensitization* berkaitan dengan aalergi pada kulit. Pengujian *skin sensitization* merupakan suatu pengujian reaksi sensitivitas pada kulit terhadap suatu zat (Wang *et al.*, 2017). Sedangkan *hepatotoxicity* adalah suatu reaksi yang timbul pada hepar karena adanya penumpukan zat berbahaya sehingga menyebabkan kerusakan hepar. Penyebab *hepatotoxicity* disebabkan karena obat dan bahan kimia yang berbahaya.(Andrade *et al.*, 2007).

*Ames toxicity* merupakan suatu pengujian yang dilakukan untuk menilai adanya potensi mutagenik suatu senyawa dengan menggunakan bakteri (Kesuma

dkk., 2018). *Ames toxicity* termasuk dalam pengujian toksisitas jenagka pendek. Uji ini paling sering diterapkan dalam toksikologi dan digunakan oleh industri farmasi saat mengembangkan obat terapeutik baru. *Ames toxicity* menjadi alat penting untuk penilaian risiko genotoksik (Arriaga-Alba, *et al.*, 2012)

## **2.10 Senyawa Pembanding (Remdesivir)**

Remdesivir merupakan *phosphoramidate prodrug* yang dimetabolisme dalam tubuh menjadi *C-adenosine nucleoside analogue* GS-441524, yang merupakan metabolit aktifnya dan menghambat aktivitas *RNA-dependent RNA Polymerase* (RdRp). RdRp merupakan protein yang berperan penting dalam replikasi virus corona di sel epitel pernapasan. Selain itu, Remdesivir secara efektif menunjukkan efek farmakologis aktif dari nukleosida trifosfat (NTP) sebagai substrat alternatif dan rantai terminator RNA. NTP dapat menghambat virus corona dengan memasukkan trifosfat aktif ke dalam RNA virus (Neldi dan Suharjono, 2020). Mekanisme kerja Remdesivir terkait dengan replikasi virus. Remdesivir adalah analog nukleosida adenosin yang dapat mengganggu RNA polimerase virus dan selanjutnya mengurangi kemampuannya untuk mereplikasi virus. Karena kesamaan antara remdesivir dan adenosin (salah satu nukleotida yang digunakan untuk membentuk RNA), RNA polimerase mungkin salah mengira remdesivir sebagai adenosin. Hal ini menyebabkan proses transkripsi terhenti dan pada akhirnya mencegah virus mereplikasi atau menginfeksi sel lain (Setiadi dkk., 2020).

Remdesivir adalah obat yang awalnya digunakan untuk mengobati virus ebola dan kemudian dicoba untuk untuk virus corona seperti MERS-CoV dan SARS-CoV (Setiadi dkk., 2020). Saat ini, Remdesivir dalam tahap uji klinis

sebagai obat yang berpotensi sebagai antivirus SARS-CoV-2. Beberapa laporan kasus pasien Covid-19 yang menggunakan Remdesivir menunjukkan pemulihan tanpa efek samping. Remdesivir adalah salah satu obat antivirus yang paling banyak dipelajari untuk pengobatan Covid-19. Hal ini terkait dengan kemungkinan efektivitas remdesivir terhadap SARS-CoV-2 (Neldi dan Suharjono, 2020). Sebuah studi in vitro menunjukkan bahwa remdesivir memiliki aktivitas menghambat virus SARS dan MERS, yang merupakan jenis virus corona lainnya (Ahsan *et al.*, 2020; Cao *et al.*, 2020). Obat ini termasuk dalam obat antivirus spektrum luas. Aktivitas antivirusnya ditunjukkan pada virus RNA untai tunggal, dan lebih efektif jika diberikan saat virus mulai berkembang biak di saluran pernapasan bagian atas pada tahap awal infeksi (Yavuz and Unal, 2020).

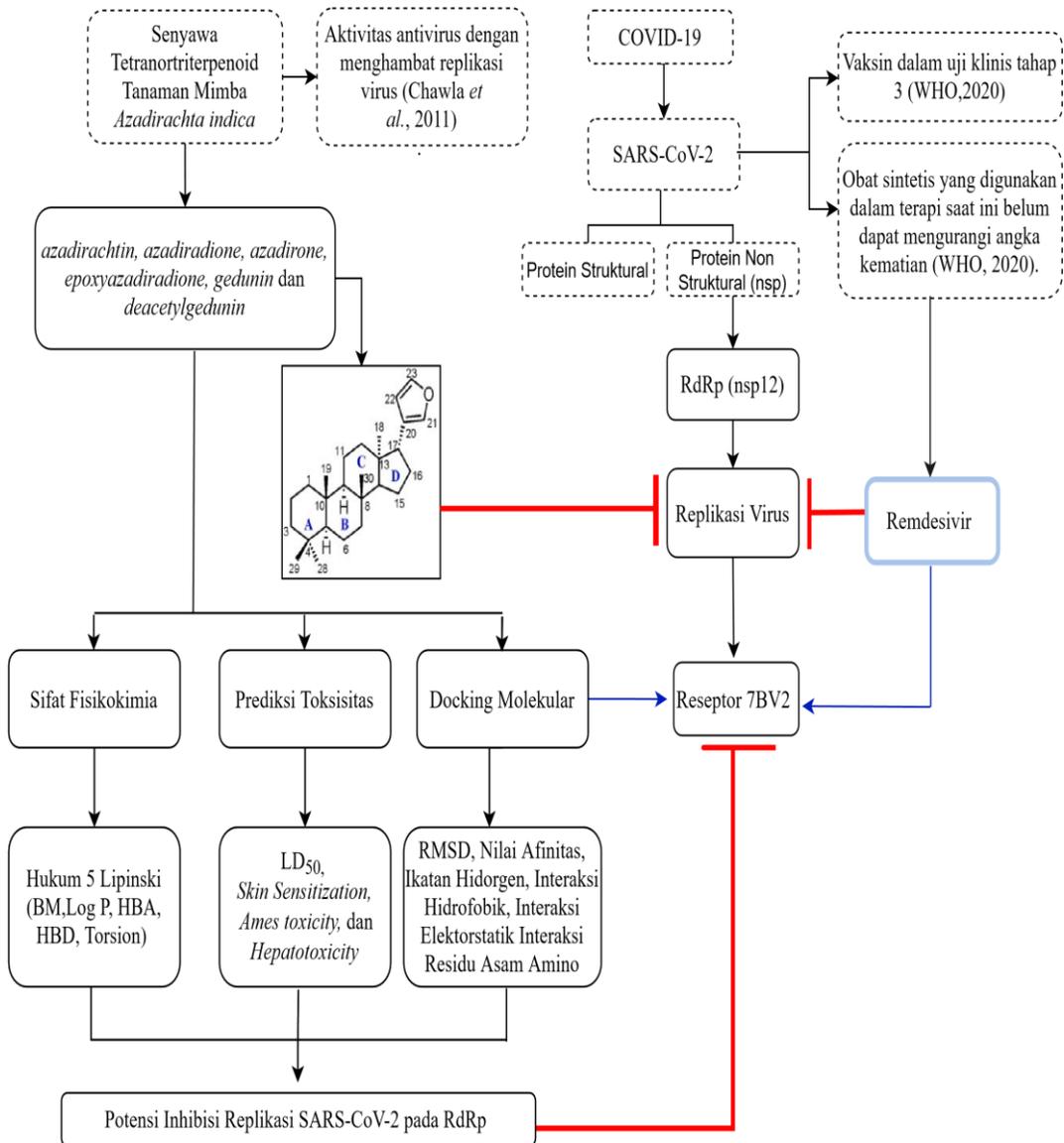
*Guideline* terapi Covid-19 di Amerika Serikat salah satunya menggunakan Remdesivir. Berdasarkan laporan tentang efektivitas remdesivir dalam pengobatan pasien yang terinfeksi Covid-19, diperoleh hasil pasien berusia 35 tahun yang memiliki riwayat perjalanan ke Wuhan, China setelah CT scan paru-paru menunjukkan pneumonia dan saturasi O<sub>2</sub> pasien menurun hingga 90%, kemudian pasien menerima kombinasi vankomisin dan cefoperazone, memperhatikan bahwa hasil tidak membaik pasien mulai menggunakan remdesivir, dan situasi klinis membaik pada hari berikutnya. Mengenai efektivitas remdesivir dalam pengobatan pasien Covid-19, belum ada kesimpulan pasti. Namun, jika tidak ada obat tunggal yang disetujui untuk pasien Covid-19, remdesivir dapat digunakan sebagai terapi alternatif mengingat hasil uji in vitro menunjukkan hasil yang positif (Setiadi dkk., 2020).

## BAB III

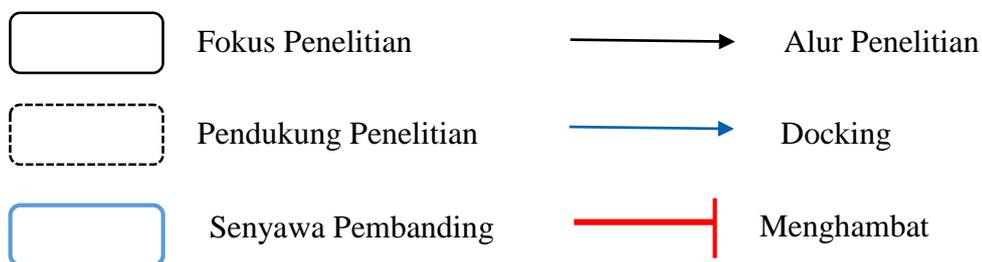
### KERANGKA KONSEPTUAL

#### 3.1 Kerangka Konseptual

##### 3.1.1 Bagan Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Bagan Kerangka Konseptual

**Keterangan :****3.1.2 Uraian Kerangka Konsep**

*Corona Virus Disease – 19* (Covid-19) yang menjadi pandemi disebabkan oleh virus SARS-CoV-2. Virus ini terdiri atas protein struktural dan non struktural (Mittal *et al.*,2020). Salah satu protein yang berperan dalam replikasi virus adalah protein non struktural 12 (nsp12) atau yang dikenal dengan *RNA-dependent RNA polymerase* (RdRp). Diketahui bahwasanya sebagian besar virus RNA memerlukan RdRp untuk replikasi dan transkripsi genom virus, sehingga penting untuk kelangsungan hidupnya (Aftab *et al.*, 2020). Terdapat obat sintesis yang bekerja pada RdRp protein yaitu Remdesivir, namun menurut penelitian WHO (2020) obat tersebut belum dapat mengurangi angka kematian pasien. Selain itu peneliti saat ini juga mengembangkan vaksin untuk mencegah penyebaran Covid-19 namun hingga saat ini masih dalam uji klinis tahap 3 (WHO, 2020). Oleh karena itu perlu adanya pendekatan lain salah satunya dengan pengobatan obat herbal. Tanaman herbal yang digunakan pada penelitian ini adalah Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss.)

Setiap bagian dari tanamam mimba (*Azadirachta indica* A. Juss.) memiliki khasiat sebagai obat (Calderon *et al.*, 2019). Senyawa triterpenoid dalam tanaman mimba merupakan senyawa aktif yang hampir terdapat di seluruh bagiannya dan sering digunakan. Umumnya senyawa ini terdiri dari limonoid atau

tetranortriterpenoid seperti *azadirachtin*, *azadirone* dan turunannya (*azadiradione* dan *epoxyazadiradione*), *gedunin* dan turunannya (*deacetylgedunin*) (Yasotha *et al.*, 2019). Meskipun para peneliti masih belum menunjukkan secara tepat mekanisme kerja senyawa aktif mimba, bukti menunjukkan bahwa senyawa tetranortriterpenoid tanaman mimba dapat mengganggu replikasi virus, sehingga meminimalkan dampak infeksi virus (Chawla *et al.*, 2011).

Potensi antivirus suatu tanaman dapat diketahui dengan uji *in silico* yaitu *molecular docking*. Metode *molecular docking* banyak digunakan sebagai skrining awal senyawa bioaktif untuk kandidat obat, dimana metode ini akan memprediksi afinitas dan aktivitas dari suatu molekul calon obat serta melihat geometri tiga dimensi dari senyawa yang terikat pada sisi aktif protein (Young *et al.*, 2011). Namun sebelum dilakukan docking terlebih dahulu dilakukan skrining sifat fisikokimia suatu senyawa berdasarkan hukum lima Lipinski, untuk memprediksi sifat absorpsi dan permeabilitas senyawa (Lipinski, 2004). Penentuan sifat fisikokimia dilakukan terhadap 6 senyawa uji yaitu *azadirachtin*, *azadirone*, *azadiradione*, *epoxyazadiradione*, *gedunin* dan *deacetylgedunin*. Senyawa yang memenuhi hukum lima Lipinski dan senyawa pembanding (remdesivir) *didocking* dengan protein target RdRp (PDBid : 7BV2). Kemudian diamati nilai RMSD, nilai ikatan afinitas, ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, interaksi elektrostatik, jarak ikatan, interaksi residu asam amino dan untuk mengetahui aktivitasnya dibandingkan dengan obat remdesivir.

Uji terakhir yang dilakukan dalam penelitian ini adalah prediksi toksisitas. Prediksi toksisitas berfungsi untuk menentukan derajat efek toksik suatu senyawa (Jumain dkk., 2018). Prediksi ini dilakukan menggunakan aplikasi *pKCSM Online*

*Tool* dan *Protox Online Tool* dengan parameter uji meliputi  $LD_{50}$ , *Skin Sensitization*, *Ames toxicity*, dan *Hepatotoxicity*.

### **3.2 Hipotesis**

Hipotesis dari penelitian ini adalah senyawa limonoid (tetranortriterpenoid) pada tanaman mimba yaitu *azadirachtin*, *azadirone*, *azadiradione*, *epoxyazadiradione*, *gedunin* dan *deacetylgedunin* memiliki interaksi residu asam amino yang hampir sama dengan remdesivir dengan nilai afinitas lebih baik.

## **BAB IV**

### **METODE PENELITIAN**

#### **4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian**

Penelitian ini merupakan jenis penelitian *pre experimental design* berbasis komputer yang dilakukan secara *in silico* dari enam senyawa limonoid pada tanaman *Azadirachta indica* Juss. (Mimba) yaitu *azadirachtin*, *azadirone*, *azadiradione*, *epoxyazadiradione*, *gedunin* dan *deacetylgedunin* terhadap reseptor *RNA-dependent RNA polymerase* (RdRp) dengan kode PDBid:7BV2 menggunakan perangkat lunak *Chem Bio Draw Ultra* versi 19.0, *Chem 3D Ultra* versi 19.0, *Discovery Studio Visualizer*, *SwissADME*, *Autodock Vina*, *MGLTools*, *PyMol*, *pkCSM Online Tool*, *Prottox Online Tool* dan Microsoft Excel 2013.

#### **4.2 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Februari sampai April 2021 bertempat di Gedung Progam Studi Sarjana Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

#### **4.3 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional**

##### **4.3.1 Variabel Penelitian**

###### **a. Variabel Bebas**

Variabel bebas pada penelitian ini adalah senyawa limonoid pada tanaman *Azadirachta indica* Juss. (Mimba) yaitu *azadirachtin*, *azadirone*, *azadiradione*, *epoxyazadiradione*, *gedunin* dan *deacetylgedunin*.

#### b. Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah berat molekul (BM), logaritma koefisien partisi oktanol/air (Log P), jumlah ikatan antar atom yang dapat berotasi (*Torsion*), *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA), *Hydrogen Bond Donor* (HBD), nilai RMSD, nilai afinitas, ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, interaksi elektrostatik, jarak ikatan, interaksi residu asam amino, LD<sub>50</sub>, *Skin Sensitization*, *Ames toxicity*, dan *Hepatotoxicity*.

#### c. Variabel Kontrol

Variabel kontrol pada penelitian ini adalah aplikasi yang digunakan *Chem Bio Draw Ultra* versi 19.0, *Chem 3D Ultra* versi 19.0, *Discovery Studio Visualizer*, *SwissADME*, *Autodock Vina*, *MGLTools*, *PyMol*, *pkCSM Online Tool*, *Protox Online Tool*, Microsoft Excel 2013 dan reseptor *RNA-dependent RNA polymerase* (RdRp) dengan kode PDBid:7BV2.

### 4.3.2 Definisi Operasional

#### a. Parameter Uji Fisikokimia

Parameter uji fisikokimia meliputi hukum 5 Lipinski yang terdiri atas :

**Tabel 4.1** Parameter Uji Fisikokimia

No.	Parameter	Keterangan	Rentang
1.	Berat Molekul (BM)	Berat setiap atom berdasarkan struktur kimianya dan tidak memperhitungkan kompleksitas, ukuran, atau bentuk molekul (Chagas, <i>et al</i> , 2018)	$\leq 500$ Da (Lipinski, 2004)  130 – 725 g/mol (Chander <i>et al.</i> , 2017)
2.	Log P	Nilai logaritma koefisien partisi oktanol/air	$\leq +5$ (Lipinski, 2004)  -2 sampai +6,5 (Chander <i>et al.</i> , 2017)

Lanjutan Tabel 4.1

3.	<i>Hydrogen Bond Acceptors</i> (HBA)	Ikatan hidrogen (H) akseptor.	$\leq 10$ (Lipisnki, 2004) 2 – 20 (Chander <i>et al.</i> , 2017)
4.	<i>Hydrogen Bond Donor</i> (HBD)	Ikatan hidrogen (H) donor.	$\leq 5$ (Lipisnki, 2004) 0 – 6 (Chander <i>et al.</i> , 2017)
5.	Torsion	Ikatan antar atom yang dapat berotasi	$\leq 10$ (Chagas <i>et al.</i> , 2018)

## b. Parameter Prediksi Toksisitas

Parameter prediksi toksisitas menggunakan *pkCSM Online Tool* meliputi :

**Tabel 4.2** Parameter Prediksi Toksisitas

No.	Parameter	Keterangan	Kriteria
1.	LD <sub>50</sub>	Dosis atau konsentrasi dari suatu zat yang diberikan secara tunggal maupun beberapa kali dalam waktu 24 jam dan diharapkan menyebabkan kematian 50% hewan coba (Priyanto,2010).	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kelas I (fatal jika tertelan): (LD<sub>50</sub> ≤ 5 mg/kg)</li> <li>• Kelas II (fatal jika tertelan): (5 &lt; LD<sub>50</sub> ≤ 50 mg/kg)</li> <li>• Kelas III (beracun jika tertelan): ( 50 &lt; LD<sub>50</sub> ≤ 300 mg/kg)</li> <li>• Kelas IV (berbahaya jika tertelan): (300 &lt; LD<sub>50</sub> ≤ 2000 mg/kg)</li> <li>• Kelas V (bisa berbahaya jika tertelan): (2000 &lt; LD<sub>50</sub> ≤ 5000 mg/kg)</li> <li>• Kelas VI (tidak beracun) : (LD<sub>50</sub> &gt; 5000 mg/kg)</li> </ul> <p>(El din <i>et al.</i>, 2016)</p>

Lanjutan Tabel 4.2

2.	<i>Skin Sensitization</i>	Uji ini dilakukan untuk mengetahui adanya reaksi sensitivitas pada kulit terhadap suatu zat (Wang <i>et al.</i> , 2017).	Yes / No
3.	<i>Ames toxicity</i>	Uji ini dilakukan untuk menilai adanya potensi mutagenik suatu senyawa dengan menggunakan bakteri (Kesuma dkk, 2018).	Yes / No
4.	<i>Hepatotoxicity</i>	Uji dilakukan untuk mengetahui apakah sel-sel hati mengalami kerusakan akibat suatu senyawa yang bersifat toksik (Juliarta dkk, 2018).	Yes / No

c. Parameter *Molecular docking*

Parameter *molecular docking* meliputi :

**Tabel 4.3** Parameter *Molecular docking*

No.	Parameter	Keterangan
1.	Ligan	Molekul kecil yang berinteraksi dengan reseptor pada tempat tertentu ( <i>binding site</i> ) kimiawi (Rye, <i>et al.</i> , 2017).
2.	Reseptor	Reseptor merupakan suatu molekul protein yang berada didalam atau di permukaan sel target dan berfungsi untuk menerima sinyal kimiawi (Rye, <i>et al.</i> , 2017).
3.	<i>Root Mean Square Deviation (RMSD)</i>	RMSD ( <i>Root Mean Square Deviation</i> ) adalah parameter validasi yang digunakan untuk mengukur dua pose struktur dengan membandingkan posisi atom antara struktur eksperimental dengan struktur yang <i>didocking</i> pada protein (Lestari, 2015). Nilai RMSD yang baik < 2Å (Sanyoto <i>et al.</i> , 2013).
4.	Ikatan Hidrogen	Ikatan yang terjadi karena adanya interaksi atom hidrogen yang terikat secara kovalen dengan atom elektronegatif seperti flour (F), nitrogen (N), oksigen (O) (Arwansyah dkk, 2014).

Lanjutan Tabel 4.3

5.	Interaksi Hidrofobik	Interaksi hidrofobik merupakan interaksi yang bersifat menghindari lingkungan cair dan cenderung berkelompok di sebelah dalam struktur globular dari protein (Lins & Brasseur 1995). Pembentukan ikatan hidrofobik meminimalkan interaksi residu nonpolar dengan air (Arwansyah dkk, 2014).
6.	Interaksi elektrostatik	Interaksi elektrostatik adalah interaksi antara atom yang disebabkan perbedaan kepolaran (Sharp and Honis, 1990).
7.	Jarak antar ikatan	Jarak interaksi antara dua atom yang berikatan (Lodish <i>et al.</i> , 2000).
8.	Interaksi residu asam amino	Interaksi ini digunakan untuk mengetahui adanya interaksi ligan dengan residu asam amino pada protein (reseptor) (Arwansyah dkk, 2014). Residu asam amino merupakan asam amino yang terdapat dalam suatu protein (Murray <i>et al.</i> , 2000).
9.	Nilai Afinitas	Nilai afinitas merupakan suatu parameter dalam docking untuk melihat kemampuan senyawa berikatan dengan reseptor (protein) (Sheinerman <i>et al.</i> , 2005).

#### 4.4 Alat dan Bahan Penelitian

##### 4.4.1 Alat Penelitian

Penelitian ini menggunakan perangkat yang terdiri atas perangkat keras dan perangkat lunak. Perangkat keras yang digunakan adalah satu set Laptop Asus X55LAB dengan spesifikasi *processor* Intel(R) Core(TM) i3-4005U, RAM 4 GB, dan *hard disk* 500 GB. Sedangkan perangkat lunak yang digunakan berupa sistem operasi *Windows 10 Pro*, *Chem Bio Draw Ultra* versi 19.0, *Chem 3D Ultra* versi 19.0, *Discovery Studio Visualizer*, *SwissADME*, *AutoDock Vina*, *MGLTools*, *PyMol*, *pkCSM Online Tool*, *Prottox Online Tool*, dan Microsoft Excel 2013.

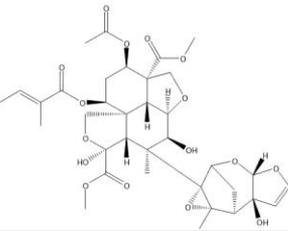
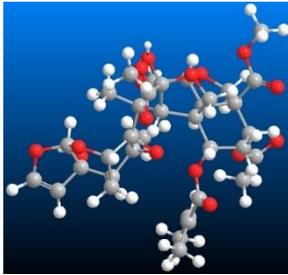
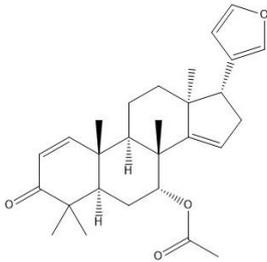
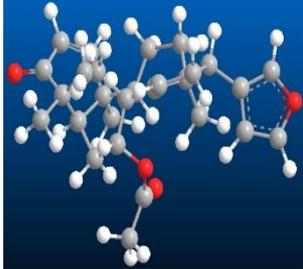
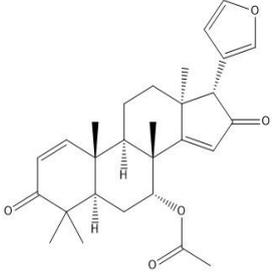
#### 4.4.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian yaitu reseptor *RNA-dependent RNA polymerase* (RdRp) yang berasal dari SARS-CoV-2 dan senyawa limonoid pada tanaman *Azadirachta indica* Juss. (Mimba) yaitu *azadirachtin*, *azadirone*, *azadiradione*, *epoxyazadiradione*, *gedunin* dan *deacetylgedunin*.

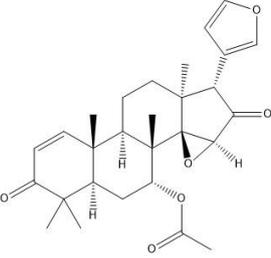
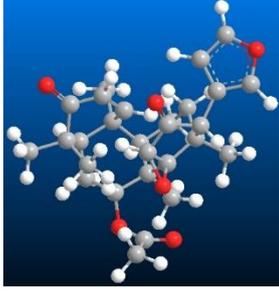
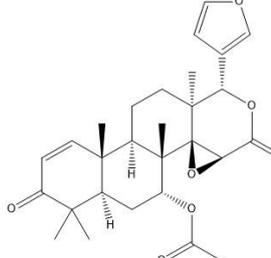
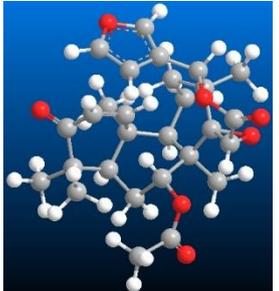
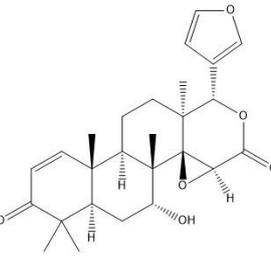
**Tabel 4.4** Struktur 3D Reseptor *RNA-dependent RNA polymerase* (RdRp) dengan PDBid : 7BV2

Kode Reseptor	Struktur 3D Reseptor
<i>RNA-dependent RNA polymerase</i> (RdRp) dengan PDBid : 7BV2	 <p data-bbox="715 1621 1321 1653">Sumber : <a href="https://www.rcsb.org/structure/7BV2">https://www.rcsb.org/structure/7BV2</a></p>

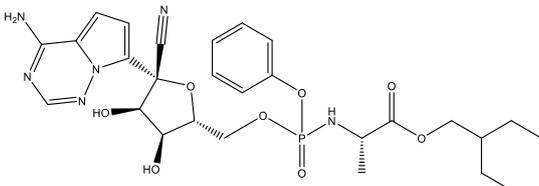
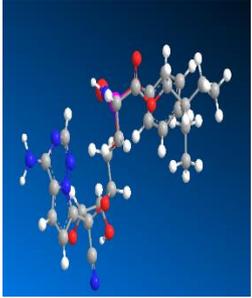
**Tabel 4.5** Struktur Ligan 2D dan 3D (Digambar dengan *Chem Bio Draw Ultra* versi 19.0)

Ligan (Senyawa)	Struktur 2D	Struktur 3D
<p><i>Azadirachtin</i> dimethyl (1<i>S</i>,4<i>S</i>,5<i>R</i>,6<i>S</i>,7<i>S</i>,8<i>R</i>,11<i>S</i>,12<i>R</i>,14<i>S</i>,15<i>R</i>)-12-acetyloxy-4,7-dihydroxy-6-[(1<i>S</i>,2<i>S</i>,6<i>S</i>,8<i>S</i>,9<i>R</i>,11<i>S</i>)-2-hydroxy-11-methyl-5,7,10-trioxatetracyclo[6.3.1.0<sup>2,6</sup>.0<sup>9,11</sup>]dodec-3-en-9-yl]-6-methyl-14-[(<i>E</i>)-2-methylbut-2-enoyl]oxy-3,9-dioxatetracyclo[6.6.1.0<sup>1,5</sup>.0<sup>11,15</sup>]pentadecane-4,11-dicarboxylate</p>		
<p><i>Azadirone</i> [(5<i>R</i>,7<i>R</i>,8<i>R</i>,9<i>R</i>,10<i>R</i>,13<i>S</i>,17<i>R</i>)-17-(furan-3-yl)-4,4,8,10,13-pentamethyl-3-oxo-5,6,7,9,11,12,16,17-octahydrocyclopenta[<i>a</i>]phenanthren-7-yl] acetate</p>		
<p><i>Azadiradione</i> [(5<i>R</i>,7<i>R</i>,8<i>R</i>,9<i>R</i>,10<i>R</i>,13<i>S</i>,17<i>R</i>)-17-(furan-3-yl)-4,4,8,10,13-pentamethyl-3,16-dioxo-6,7,9,11,12,17-hexahydro-5<i>H</i>-cyclopenta[<i>a</i>]phenanthren-7-yl] acetate</p>		

Lanjutan Tabel 4.5

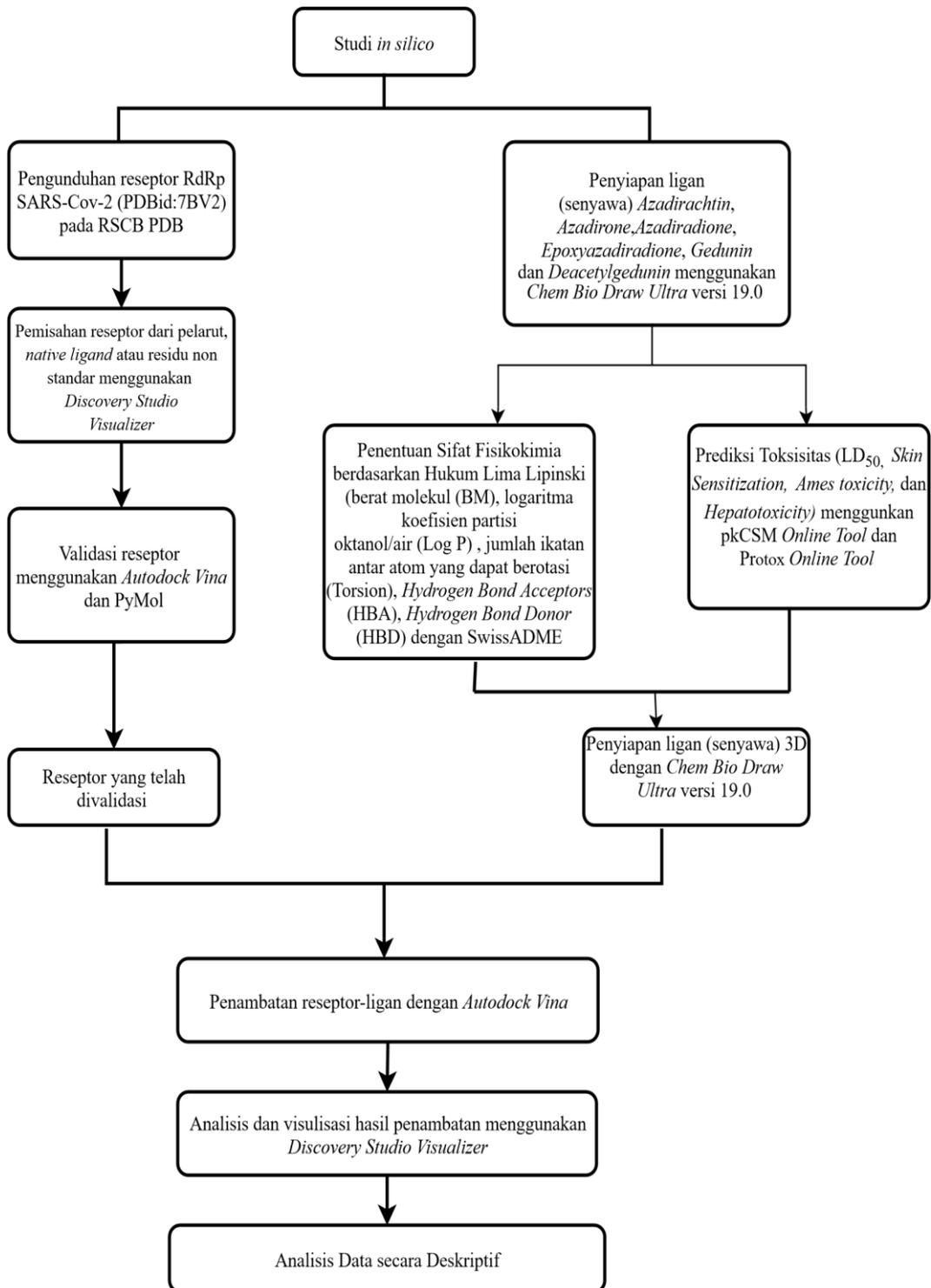
<p><i>Epoxyazadiradione</i></p> <p>[(1<i>S</i>,2<i>R</i>,4<i>S</i>,6<i>S</i>,7<i>S</i>,10<i>R</i>,11<i>R</i>,16<i>R</i>,18<i>R</i>)-6-(furan-3-yl)-1,7,11,15,15-pentamethyl-5,14-dioxo-3-oxapentacyclo[8.8.0.0<sup>2,4</sup>.0<sup>2,7</sup>.0<sup>11,16</sup>]octadec-12-en-18-yl] acetate</p>	 <p>The chemical structure shows a complex polycyclic system with a furan ring at the top, a decalin-like core, and an acetate group at the bottom. Stereochemistry is indicated with wedges and dashes.</p>	 <p>A 3D ball-and-stick model of the Epoxyazadiradione acetate molecule, showing carbon (grey), oxygen (red), and hydrogen (white) atoms.</p>
<p><i>Gedunin</i></p> <p>[(1<i>S</i>,2<i>R</i>,4<i>S</i>,7<i>S</i>,8<i>S</i>,11<i>R</i>,12<i>R</i>,17<i>R</i>,19<i>R</i>)-7-(furan-3-yl)-1,8,12,16,16-pentamethyl-5,15-dioxo-3,6-dioxapentacyclo[9.8.0.0<sup>2,4</sup>.0<sup>2,8</sup>.0<sup>12,17</sup>]nonadec-13-en-19-yl] acetate</p>	 <p>The chemical structure shows a complex polycyclic system with a furan ring at the top, a decalin-like core, and an acetate group at the bottom. Stereochemistry is indicated with wedges and dashes.</p>	 <p>A 3D ball-and-stick model of the Gedunin acetate molecule, showing carbon (grey), oxygen (red), and hydrogen (white) atoms.</p>
<p><i>Deacetylgedunin</i></p> <p>(1<i>S</i>,2<i>R</i>,4<i>S</i>,7<i>S</i>,8<i>S</i>,11<i>R</i>,12<i>R</i>,17<i>R</i>,19<i>R</i>)-7-(furan-3-yl)-19-hydroxy-1,8,12,16,16-pentamethyl-3,6-dioxapentacyclo[9.8.0.0<sup>2,4</sup>.0<sup>2,8</sup>.0<sup>12,17</sup>]nonadec-13-ene-5,15-dione</p>	 <p>The chemical structure shows a complex polycyclic system with a furan ring at the top, a decalin-like core, and a hydroxyl group at the bottom. Stereochemistry is indicated with wedges and dashes.</p>	 <p>A 3D ball-and-stick model of the Deacetylgedunin molecule, showing carbon (grey), oxygen (red), and hydrogen (white) atoms.</p>

**Tabel 4.6** Struktur 2D dan 3D Senyawa Perbandingan (Digambar dengan *Chem Bio Draw Ultra* versi 19.0)

<b>Ligan (Senyawa Perbandingan)</b>	<b>Struktur 2D</b>	<b>Struktur 3D</b>
Remdesivir	 <p>The image shows the 2D chemical structure of Remdesivir. It features a central ribose sugar ring with a cytosine base at the C1 position, a cyano group at the C2 position, and a hydroxyl group at the C3 position. The C4 position is linked to a phosphonate group, which is further connected to a propanoic acid derivative with a methyl group and a butyl ester group.</p>	 <p>The image shows a 3D ball-and-stick model of the Remdesivir molecule. Carbon atoms are represented by grey spheres, oxygen by red, nitrogen by blue, and hydrogen by white. The model illustrates the spatial arrangement and stereochemistry of the molecule.</p>

## 4.5 Skema Kerja Penelitian dan Prosedur Kerja

### 4.5.1 Skema Kerja Penelitian



**Gambar 4.1** Bagan Skema Kerja Penelitian

## 4.5.2 Prosedur Kerja

### 4.5.2.1 Skrining Senyawa

Berikut adalah langkah yang dilakukan dalam skrining senyawa yaitu:

1. Digambar struktur molekul 2D senyawa *azadirachtin*, *azadirone*, *azadiradione*, *epoxyazadiradione*, *gedunin* dan *deacetylgedunin* menggunakan aplikasi *Chem Bio Draw Ultra* versi 19.0.
2. Disalin kode SMILES setiap senyawa kemudian dilakukan skrining senyawa menggunakan aplikasi *online SwissADME*.
3. Diseleksi senyawa yang memenuhi Hukum Lima Lipinski.

### 4.5.2.2 Preparasi Ligan

Berikut adalah langkah yang dilakukan dalam preparasi ligan (senyawa) yaitu :

1. Dikonversikan struktur molekul 2D senyawa *azadirachtin*, *azadirone*, *azadiradione*, *epoxyazadiradione*, *gedunin* dan *deacetylgedunin* ke dalam model struktur 3D dengan aplikasi *Chem 3D Ultra* versi 19.0 dengan cara klik *view*, klik *show chem 3D hotlink window*, lalu klik *launch chem 3D*.
2. Dilakukan minimalisasi energi sebanyak 3 kali pada setiap struktur senyawa 3D pada *Chem 3D Ultra* versi 19.0 dengan cara klik *calculation*, klik *MMF94*, klik *perform MMF94 minimization*, klik *run*.
3. Disimpan struktur senyawa 3D dengan format *.pdb* file.
4. Dubah format file *.pdb* senyawa uji menjadi format *.pdbqt* menggunakan aplikasi *MGLTools*.

#### 4.5.2.3 Preparasi Protein

Berikut langkah yang dilakukan dalam preparasi protein yaitu:

1. Diunduh reseptor (protein) RdRp SARS-CoV-2 dengan kode PDBid : 7BV2 pada website RSCB PDB (<https://www.rcsb.org/structure/7BV2>) dengan format PDB.
2. Dipisahkan struktur protein dari pelarut, *native ligand* atau residu non standar menggunakan aplikasi *Discovery Studio Visualizer* , dengan langkah klik *file* kemudian *open*, dicari folder tempat file reseptor yang akan dipisahkan, maka akan muncul tampilan tiga dimensi struktur protein. Rantai molekul, *native ligand* dan residu yang tidak diperlukan dihilangkan dengan langkah klik , klik *water/ligand/protein chains* kemudian di klik *remove*. File reseptor tersebut disimpan dalam format .pdb.
3. Dipisahkan *native ligand* dari struktur protein untuk validasi reseptor menggunakan *Discovery Studio Visualizer*, dengan langkah klik *file* kemudian *open*, dicari folder tempat file reseptor yang akan dipisahkan, sehingga muncul tampilan tiga dimensi struktur protein. Protein (Asam amino) dan pelarut yang tidak diperlukan dihilangkan dengan langkah klik *water /protein chains* kemudian di klik *remove*. File *native ligand* tersebut disimpan dalam format .pdb.
4. Dipreparasi protein yang sudah dihilangkan dari residu yang tidak dibutuhkan serta *native ligand* pada MGLTools. Kemudian disimpan dalam format .pdbqt

#### 4.5.2.4 Penentuan Binding Site dan Grid Box

Berikut langkah yang dilakukan dalam tahapan ini yaitu:

1. Dibuka reseptor (protein) RdRp SARS-CoV-2 dengan kode PDBid : 7BV2 yang telah diunduh menggunakan aplikasi *Discovery Studio Visualizer*, dengan langkah klik *file* kemudian *open*, dicari folder tempat file reseptor yang akan dipisahkan, maka akan muncul tampilan tiga dimensi struktur protein.
2. Ditentukan *binding site* reseptor dengan cara diklik *define and edit binding site* kemudian klik *from receptor cavities* untuk melihat cavity dari suatu reseptor. Selanjutnya klik *from PDB site records* untuk melihat binding site berdasarkan website PDB. Setelah itu klik residu asam amino sesuai dengan literatur kemudian klik *from current selection*. Selanjutnya klik *native ligand*, klik *from current selection*. Kemudian pilih cavities dan binding site yang masuk dalam residu asam amino dari literatur dan *native ligand* kemudian klik kanan pilih *Attributes* untuk melihat *binding site*.
3. Dicatat hasil *binding site* reseptor dengan format .txt.
4. Dibuka aplikasi *MGLTools* kemudian dimasukkan file reseptor dan native ligand kemudian klik *grid* selanjutnya *center on ligand* untuk menentukan besar grid box yang diperlukan. File *grid box* disimpan dalam format .txt.

#### 4.5.2.5 Validasi Reseptor

Berikut langkah yang dilakukan dalam validasi reseptor yaitu:

1. Dilakukan re-docking reseptor dengan *native ligand* untuk validasi reseptor pada aplikasi *Autodock Vina*.

2. Dibuka aplikasi *CMD* kemudian klik *vina.exe* dicari folder tempat file reseptor yang telah dipreparasi dan *native ligand*. Kemudian *copy* alamat folder file reseptor dan *native ligand*.
3. Dilakukan proses docking dengan cara ketik *vina.exe - - config grid.txt - - cpu 4* selanjutnya ditunggu hingga proses docking selesai.
4. Dilakukan pengulangan docking sebanyak 3 kali.
5. Dianalisa hasil docking dengan cara dihitung nilai RMSD antara *native ligand* yang tidak didocking dan *native ligand* hasil re-docking menggunakan *PyMol*.

#### 4.5.2.6 Penambatan Ligan-Protein

Berikut langkah yang dilakukan dalam penambatan ligan-protein yaitu:

1. Dilakukan docking reseptor dengan ligan (struktur senyawa 3D yang telah diskining) menggunakan aplikasi *Autdock Vina*.
2. Dibuka aplikasi *CMD* kemudian klik *vina.exe* dicari folder tempat file reseptor yang telah dipreparasi dan senyawa uji serta pembanding. Kemudian *copy* alamat folder file reseptor dan senyawa uji serta pembanding.
3. Dilakukan proses docking dengan cara ketik *vina.exe - - config grid.txt - - cpu 4* selanjutnya ditunggu hingga proses docking selesai.
4. Dilakukan pengulangan docking sebanyak 3 kali.
5. Disimpan senyawa hasil docking dengan format *pdqt*.

#### 4.5.2.7 Analisa dan Visulisasi

Hasil *docking* dapat dilihat pada *output* (berupa tabel) pada aplikasi *Autodock Vina*. Hasil *docking* dilakukan dengan memilih ligan yang memiliki

energi ikatan yang paling rendah, nilai ikatan dapat dilihat pada tabel '*binding affinity*'. Kemudian divisualisasikan interaksi ligan-protein secara 2D dan 3D dengan menggunakan *Discovery Studio Visualizer*.

#### 4.5.2.8 Prediksi Toksisitas

Prediksi sifat toksisitas senyawa dengan digambar struktur molekul 2D dengan program *Chem Bio Draw Ultra* versi 19.0. Kemudian senyawa sebagai kandidat kuat bahan obat diubah dalam bentuk format SMILES, selanjutnya senyawa diproses menggunakan *pkCSM Online Tool* dan *Protox Online Tool* untuk memprediksi toksisitas senyawa berdasarkan  $LD_{50}$ , *Skin Sensitization*, *Hepatotoxicity*, dan *Ames Toxicity*.

#### 4.6 Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini dilakukan berdasarkan data hasil uji sifat fisikokimia, *docking* molekular, dan prediksi toksisitas terhadap senyawa yang berpotensi sebagai bahan obat. Pada uji sifat fisikokimia parameter uji berdasarkan terpenuhinya hukum lima Lipinski yang meliputi berat molekul (BM), logaritma koefisien partisi oktanol/air (Log P), jumlah ikatan antar atom yang dapat berotasi (*Torsion*), *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA), *Hydrogen Bond Donor* (fHBD). Pada prediksi toksisitas berdasarkan parameter  $LD_{50}$ , *Hepatotoxicity*, *Skin sensitization* dan *Ames Toxicity*. Sedangkan untuk analisis data hasil *docking* molekular hal pertama yang dianalisa yaitu validasi antara reseptor dan *native ligand* dengan target nilai  $RMSD < 2 \text{ \AA}$ . Setelah validasi reseptor mencapai hasil yang sesuai dilakukan analisis data pada senyawa uji dan pembanding remdesivir. Analisis data dilakukan berdasarkan Nilai RMSD, nilai afinitas, ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, interaksi elektrostatik, dan interaksi residu asam amino. Semua

pengujian dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Hasil yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel statistik. Analisa dilakukan secara deskriptif untuk mengetahui perbedaan nilai afinitas dan interaksi residu asam amino senyawa uji dengan senyawa pembanding.

## BAB V

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Tumbuhan memiliki manfaat yang sangat banyak bagi kehidupan manusia. Hal ini telah disebutkan dalam Al-Qur'an secara eksplisit agar umat manusia dapat memanfaatkan tumbuhan – tumbuhan yang ada untuk hal kebaikan, salah satunya sebagai bahan obat. Sesuai dengan Firman Allah SWT. dalam QS. Asy-Syu'ara' ayat 7 yang berbunyi :

(۷) *أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ*

Artinya : “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?” (QS. Asy-Syu'ara' : 7 )

Berdasarkan tafsir Ibnu Katsir dalam buku Abdul Ghoffur (2004) menjelaskan bahwa Allah SWT. telah menciptakan bumi dan menumbuhkan didalamnya tumbuh-tumbuhan yang baik berupa tanaman, buah-buahan yang bermanfaat bagi manusia. Salah satu manfaat tumbuhan adalah sebagai obat untuk berbagai macam penyakit. Banyak bagian tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai obat yaitu daun, batang, akar, rimpang, bunga, buah dan bijinya. Hal ini merupakan anugerah dari Allah SWT. yang harus dipelajari (Savitri, 2008).

Penelitian mengenai potensi antivirus senyawa limonoid pada tanaman mimba (*Azadirachta indica* A. Juss.) dilakukan menggunakan metode komputasi secara *in silico*. Metode *in silico* sering digunakan sebagai *screening* awal dalam penemuan obat baru (Hardjono,2013). Ruang lingkup metode *in silico* yang digunakan adalah studi *docking*. Pemilihan studi *docking* didasarkan pada peran *molecular docking* yakni bertujuan mengetahui ikatan antara ligan dengan reseptor.

Metode ini dapat berperan penting dalam keberhasilan desain obat secara struktural. Selain itu metode ini memiliki kelebihan dapat menghemat biaya dan waktu pencarian obat baru (Huang and Zou, 2007, Irwin *et al.*, 2009).

Pada penelitian ini digunakan senyawa limonoid yaitu *azadirachtin*, *azadirone*, *azadiradione*, *epoxyazadiradione*, *gedunin* dan *deacetylgedunin*. Senyawa tersebut banyak ditemukan dibagian daun, biji dan batang tanaman mimba (Roehyoudhury, 2016). Penelitian mengenai senyawa limonoid pada mimba mengungkapkan potensinya sebagai antivirus dengan menghambat replikasi dari virus (Chawla *et al.*, 2011). Untuk mengetahui apakah senyawa limonoid pada tanaman mimba berpotensi sebagai antivirus SARS-CoV-2 metode pendekatan secara *in silico* yang dilakukan meliputi pengujian sifat fisikokimia, toksisitas serta prediksi aktivitas anatra ligand dengan reseptor secara *molecular docking*.

## **5.1 Preparasi Sampel In Silico**

Preparasi sampel yang digunakan dalam proses *in silico* merupakan tahapan yang penting untuk mendapatkan hasil yang optimal (Lionta *et al.*, 2014). Menurut Sliwoski *et al.* (2014) tahap preparasi sampel *in silico* meliputi preparasi terhadap ligan dan reseptor (protein target) yang digunakan dalam penelitian. Sampel yang dipreparasi dalam penelitian ini adalah reseptor (protein target) RdRp SARS CoV-2 dengan kode PDBid : 7BV2 dan senyawa yang diuji yaitu *azadirachtin*, *azadirone*, *azadiradione*, *epoxyazadiradione*, *gedunin* dan *deacetylgedunin*.

### **5.1.1 Pengunduhan Reseptor RdRp SARS-CoV-2**

Tahapan awal yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu pengunduhan reseptor RdRp SARS-CoV-2 sebagai protein target. Pengunduhan reseptor dilakukan melalui database *Protein Data Bank* (PDB; <http://www.rcsb.org/pd>)

dengan format .pdb. Reseptor yang diunduh merupakan suatu makromolekul dengan identitas (PDBid) 7BV2. Struktur ini memiliki tiga jenis subunit yang berbeda (hetero-3-mer) dengan *native ligand* yang merupakan hasil dari mikroskop elektron. Kondisi dan kualitas dari struktur RdRp SARS-CoV-2 yang diunduh tercantum dalam Tabel 5.1

**Tabel 5.1** Struktur RdRp SARS-CoV-2 yang diunduh dari *Protein Data Bank*

No.	Identitas	Jumlah Sub Unit	Ligan yang Terkait	Resolusi (Å)
1.	7BV2	3	[(2~{R},3~{S},4~{R},5~{R})-5-(4-azanylpyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-cyano-3,4-bis(oxidanyl)oxolan-2-yl]methyl dihydrogen phosphate.	2.50

Struktur RdRp SARS-CoV-2 yang tersedia dalam *Protein Data Bank* merupakan struktur makromolekul yang terikat dengan *native ligand*. Struktur tersebut terdiri dari tiga rantai (sub unit) yaitu nsp 7, nsp 8 dan nsp 12. Rantai A pada struktur 7BV2 merupakan nsp 12 atau yang disebut juga RdRp sedangkan rantai B (nsp 8) dan rantai C (nsp7) (Yin *et al.*, 2020).

### 5.1.2 Preparasi Reseptor RdRp SARS-CoV-2

Tahap dalam awal dalam preparasi reseptor meliputi pemisahan rantai makromolekul untuk target penambatan. Dari pengunduhan reseptor RdRp SARS-CoV-2 dengan identitas 7BV2 pada *Protein Data Bank* didapatkan struktur makromolekul berupa protein yang terikat dengan ligan, pelarut serta residu non-standar. Selanjutnya, dilakukan tahapan pemisahan struktur dengan ligan, pelarut serta residu non-standar menggunakan aplikasi *Discovery Studio Visualizer*. Hasil dari pemisahan ini didapatkan struktur reseptor yang siap untuk dilakukan optimasi makromolekul. Struktur ini disimpan dalam format .pdb.

Pada pengunduhan reseptor dengan identitas 7BV2 melalui *Protein Data Bank*, strukturnya berada dalam bentuk satu kesatuan dengan *native ligand*, molekul air maupun residu non-standar lainnya yang merupakan bentuk sisa hasil pengkristalan protein sebelumnya. Residu – residu nonstandar tersebut harus dihilangkan agar tidak mengganggu proses penambatan. Residu non standar yang dihilangkan merupakan nsp 7 dan nsp 8, residu tersebut dalam hal ini merupakan suatu kesatuan yang kompleks dengan RdRp (nsp 12). *Native ligand* pada reseptor juga perlu untuk dihilangkan karena ligan tersebut terikat pada sisi aktif reseptor sehingga dapat menghalangi ligan lain untuk berikatan. Sedangkan adanya molekul air juga akan mempengaruhi hasil penambatan sehingga perlu dihilangkan (Lionta *et al.*, 2014, Yin *et al.*, 2020). Struktur yang telah dipisahkan tersebut disimpan dalam format .pdb.

Langkah selanjutnya setelah pemisahan rantai makromolekul adalah tahap optimasi struktur makromolekul. Pada tahap ini digunakan aplikasi *MGL Tools*. Adapun tahap optimasi yang dilakukan adalah dilakukan kembali penghilangan molekul air dan penambahan atom hidrogen. Penghilangan molekul air bertujuan agar air tidak berinteraksi dengan senyawa yang akan ditambatkan dengan reseptor (Lemmon and Jens, 2013). Sedangkan penambahan atom hidrogen perlu dilakukan karena keberadaan hidrogen mempengaruhi hasil penambatan dengan terbentuknya ikatan hidrogen. Setelah itu, ditambahkan *Kollman charges* untuk menambahkan muatan pada residu asam amino yaitu energi potensial elektrostatik. Selanjutnya reseptor ditambahkan muatan *gasteiger* yang bertujuan untuk menyesuaikan dengan lingkungan penambatan molekul (Huey *et al.*, 2016, Kolina dkk., 2018). Struktur tersebut kemudian disimpan dalam format .pdbqt.



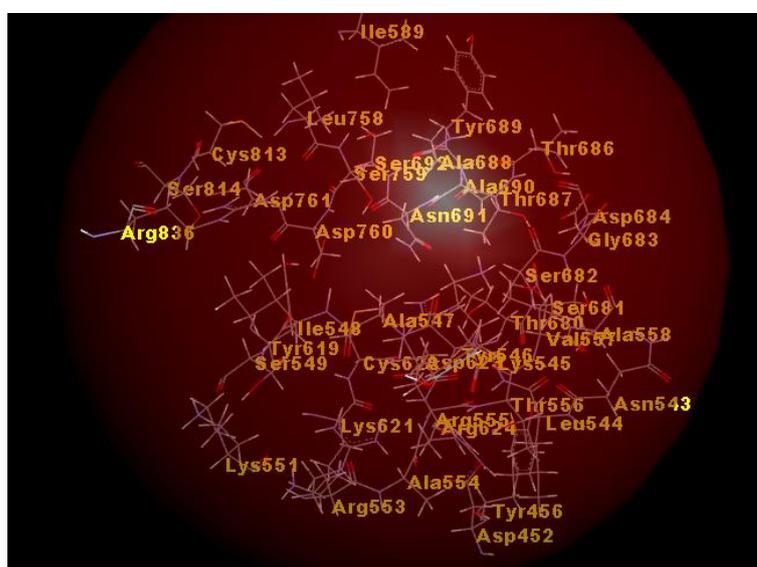
**Gambar 5.1** Hasil Preparasi Reseptor 7BV2 Menggunakan Aplikasi *Discovery Studio Visualizer*

### 5.1.3 Penentuan Binding Site dan Grid Box

Studi *docking* umumnya dimulai dengan penentuan *binding site* atau area pengikatan, hal ini dikarenakan secara umum protein memiliki wilayah pengikatan yang terbatas. Ukuran (*grid box*) dan tempat pengikatan protein dapat divisualisasikan dalam aplikasi *docking* dan dapat disesuaikan secara interaktif. Secara opsional, residu dalam area pengikatan bersifat fleksibel selama proses *docking* (Seeliger and Bert, 2010).

Pada penentuan *binding site* dan *grid box* menggunakan aplikasi *Discovery Studio Visualizer* dan *MGL Tools*. Pada aplikasi *Discovery Studio Visualizer* dapat ditentukan tempat pengikatan berdasarkan data struktur yang diperoleh dari *Protein Data Bank*, aplikasi *Discovery Studio Visualizer* dan berdasarkan jurnal penelitian sebelumnya. Menurut Koulgi *et al* (2020) dan Dahab *et al* (2020) diketahui bahwa residu asam amino Lys545, Arg553, Asp623, Asn691, Ser682 dan Leu759 membentuk interaksi antara protein dengan remdesivir. Penentuan *binding site* berdasarkan reseptor 7BV2 ditinjau berdasarkan residu asam amino yang terletak disekitar *native ligand* reseptor, dimana posisi *native ligand* disinyalir sebagai sisi aktif dari reseptor (Yin *et al.*, 2020). Berdasarkan hal tersebut ditemukan *binding*

site yang sesuai kemudian didapatkan ukuran center  $x = 91.776$ ,  $y = 91.56$  dan  $z = 104.863$ . Tahap selanjutnya penentuan *grid box* menggunakan aplikasi *MGL Tools*. Penentuan *grid box* bertujuan untuk menentukan ukuran area yang akan *didocking* dengan senyawa tertentu (Seeliger and Bert, 2010). Berdasarkan hasil *MGL Tools* didapatkan ukuran *grid box* sebesar  $x = 8 \text{ \AA}$ ,  $y = 8 \text{ \AA}$ , dan  $z = 10 \text{ \AA}$  dengan spacing sebesar  $1 \text{ \AA}$ . Hasil penentuan *binding site* dan *grid box* tersebut kemudian disimpan dalam format .txt sebagai data yang digunakan dalam proses *docking*.



**Gambar 5.2** Daerah Binding Site Reseptor 7BV2 Menggunakan *Discovery Studio Visualizer*

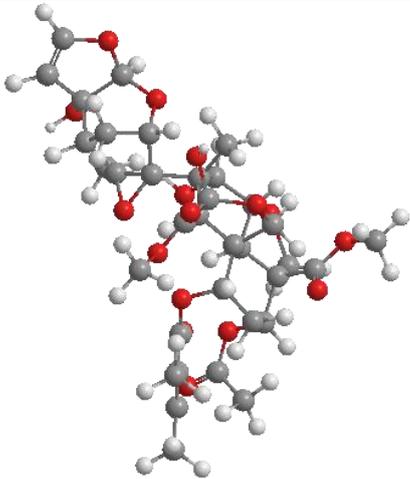
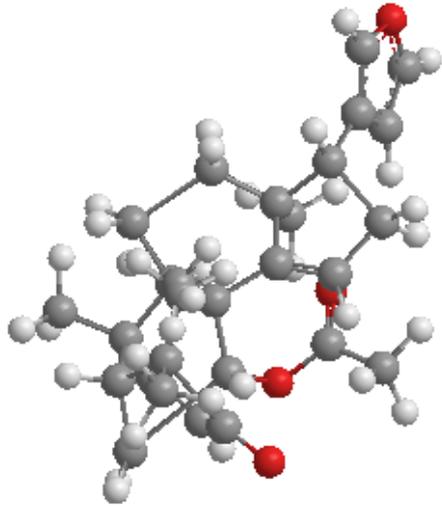
#### 5.1.4 Preparasi Senyawa Uji

##### 5.1.4.1 Pembuatan Struktur Senyawa 2D, 3D dan Kode SMILES

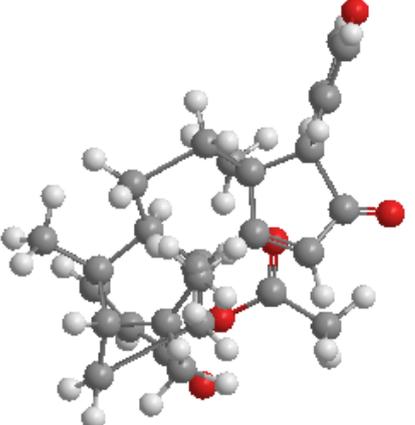
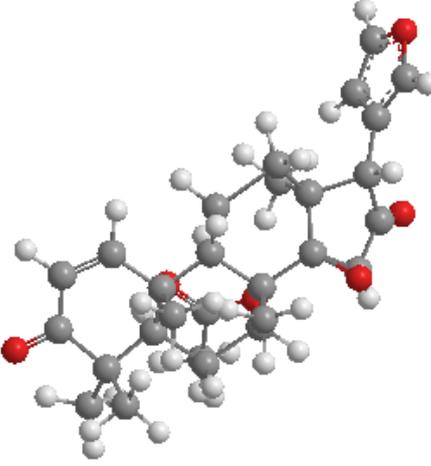
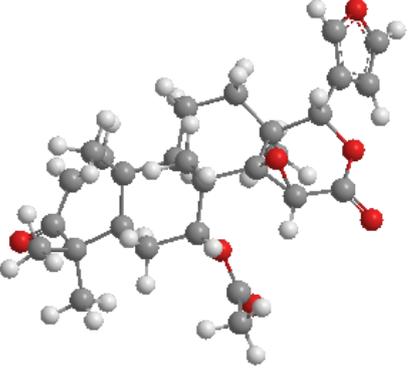
Struktur senyawa 2D dan 3D dibuat menggunakan aplikasi *ChemDraw*. *ChemDraw* merupakan aplikasi dari *ChemOffice* yang berguna dalam menggambar struktur molekul kimia. Kelebihan aplikasi ini adalah penggunaannya yang mudah dan tidak membutuhkan keahlian komputasi khusus (Yuanita dkk., 2018). Struktur senyawa yang akan diuji sebelumnya digambar menggunakan aplikasi *ChemDraw* 2D versi 19.0. Adapun struktur senyawa yang digambar meliputi senyawa

*azadirachtin*, *azadirone*, *azadiradione*, *epoxyazadiradione*, *gedunin* dan *deacetylgedunin*. Selain itu digambar juga struktur senyawa pembanding yang digunakan yakni remdesivir. Setelah senyawa – senyawa tersebut digambar kemudian divisualisasikan dalam bentuk 3D menggunakan aplikasi *ChemDraw 3D* versi 19.0. Berikut adalah tabel gambar senyawa uji secara 3D :

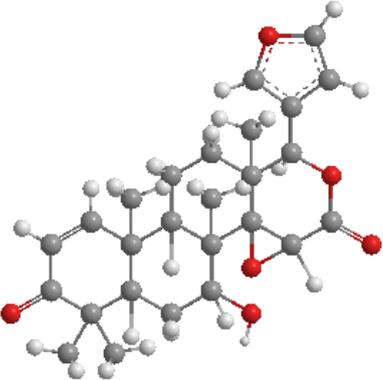
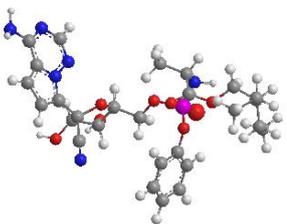
**Tabel 5.2** Gambar Struktur Senyawa Uji dan Pembanding Secara 3D

Nama Senyawa	Struktur 3D
<p><b>Azadirachtin</b>            (dimethyl(1<i>S</i>,4<i>S</i>,5<i>R</i>,6<i>S</i>,7<i>S</i>,8<i>R</i>,11<i>S</i>,12<i>R</i>,14<i>S</i>,15<i>R</i>)-12-acetyloxy-4,7-dihydroxy-6-[(1<i>S</i>,2<i>S</i>,6<i>S</i>,8<i>S</i>,9<i>R</i>,11<i>S</i>)-2-hydroxy-11-methyl-5,7,10-trioxatetracyclo [6.3.1.0<sup>2,6</sup>.0<sup>9,11</sup>]dodec-3-en-9-yl]-6-methyl-14-[(<i>E</i>)-2-methylbut-2-enoyl]oxy-3,9-dioxatetracyclo[6.6.1.0<sup>1,5</sup>.0<sup>11,15</sup>]pentadecane-4,11-dicarboxylate)</p>	
<p><b>Azadirone</b>            ([[(5<i>R</i>,7<i>R</i>,8<i>R</i>,9<i>R</i>,10<i>R</i>,13<i>S</i>,17<i>R</i>)-17-(furan-3-yl)-4,4,8,10,13-pentamethyl-3-oxo-5,6,7,9,11,12,16,17 octahydrocyclopenta [a]phenanthren-7-yl] acetate)</p>	

Lanjutan Tabel 5.2

<p><b>Azadiradione</b>            ((<i>5R,7R,8R,9R,10R,13S,17R</i>)-17-(furan-3-yl)-4,4,8,10,13-pentamethyl-3,16-dioxo-6,7,9,11,12,17-hexahydro-5<i>H</i>-cyclopenta[<i>a</i>]phenanthren-7-yl] acetate)</p>	
<p><b>Epoxyazadiradione</b>            ((<i>1S,2R,4S,6S,7S,10R,11R,16R,18R</i>)-6-(furan-3-yl)-1,7,11,15,15-pentamethyl-5,14-dioxo-3-oxapentacyclo[8.8.0.0<sup>2,4</sup>.0<sup>2,7</sup>.0<sup>11,16</sup>]octadec-12-en-18-yl] acetate)</p>	
<p><b>Gedunin</b>            [(<i>1S,2R,4S,7S,8S,11R,12R,17R,19R</i>)-7-(furan-3-yl)-1,8,12,16,16-pentamethyl-5,15-dioxo-3,6-dioxapentacyclo[9.8.0.0<sup>2,4</sup>.0<sup>2,8</sup>.0<sup>12,17</sup>]nonadec-13-en-19-yl] acetate)</p>	

Lanjutan Tabel 5.2

<p>Deacetylgedunin            (1<i>S</i>,2<i>R</i>,4<i>S</i>,7<i>S</i>,8<i>S</i>,11<i>R</i>,12<i>R</i>,17<i>R</i>,19<i>R</i>)-7-(furan-3-yl)-19-hydroxy-1,8,12,16,16-pentamethyl-3,6-dioxapentacyclo [9.8.0.0<sup>2,4</sup>.0<sup>2,8</sup>.0<sup>12,17</sup>] nonadec-13-ene-5,15-dione)</p>	
<p>Remdesivir            (2-ethylbutyl (2<i>S</i>)-2-[[[(2<i>R</i>,3<i>S</i>,4<i>R</i>,5<i>R</i>)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-<i>f</i>][1,2,4]triazin-7-yl)-5-cyano-3,4-dihydroxyoxolan-2-yl]methoxy-phenoxyphosphoryl] amino]propanoate)</p>	

Berdasarkan tabel 5.2 diketahui bahwa baik senyawa uji termasuk dalam kelompok ligan polidentat. Diketahui bahwa ligan dikelompokkan berdasarkan jumlah dari atom penyumbanganya (donor atom) dan ligan polidentat dapat menyumbang lebih dari dua atom (Fajri, 2017). Pada struktur senyawa uji terdapat lenih dari dua atom donor dimana atom yang berperan sebagai donor ialah atom oksigen (O). Tahap selanjutnya setelah membuat struktur 2D dan 3D adalah pengunduhan kode SMILES masing – maisng senyawa uji yang diambil dari aplikasi *ChemDraw* serta senyawa pembanding yakni remdesivir. Kode *Simplified Molecular Input Line Entry System* (SMILES) adalah suatu cara untuk membaca kode ikatan kimia. Hal ini bertujuan untuk melakukan pengenalan senyawa dan mengetahui informasi kimia secara komputasi. Senyawa memiliki susunan yang sulit diproses pada komputer, sehingga diciptakan kode SMILES yang merupakan suatu kode ikatan kimia modern yang dikonversi menjadi sebuah baris sehingga memudahkan proses klasifikasi pada sistem (Alfiyanti dkk., 2019). Pada pengujian

ini kode SMILES setiap senyawa digunakan untuk melakukan uji sifat fisikokimia dan toksisitas. Berikut adalah tabel 5.3 yang berisi kode SMILES setiap senyawa uji dan pembanding.

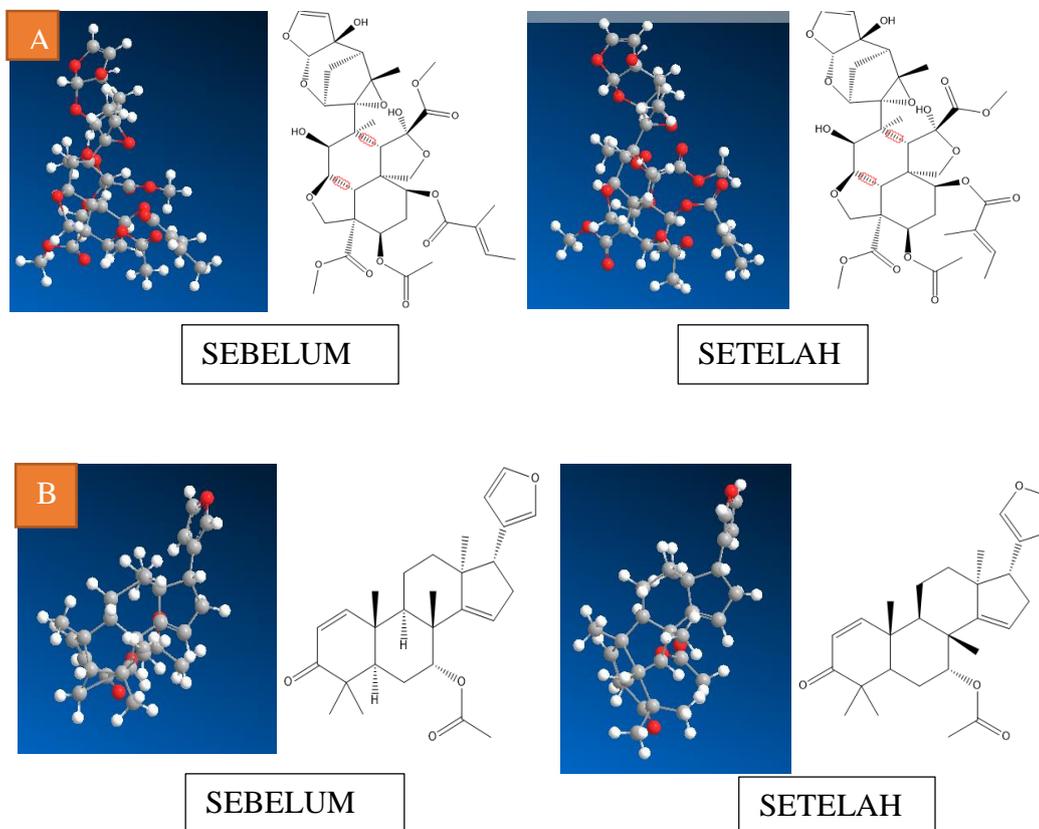
**Tabel 5.3** Kode SMILES Senyawa Uji dan Pembanding

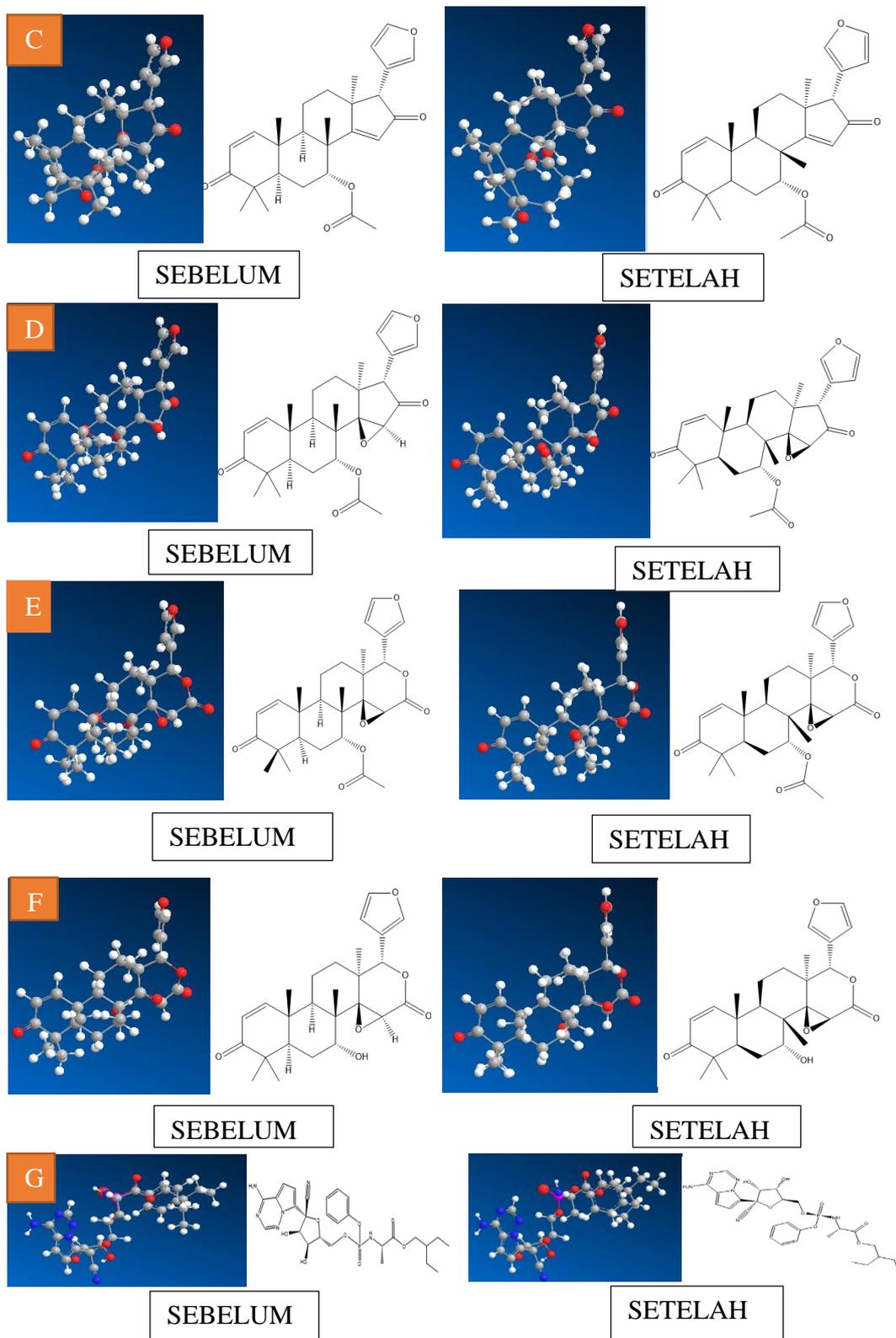
Nama Senyawa	Kode SMILES
Azadirachtin	<chem>O=C([C@@]1(O)OC[C@@]2([C@@]34[H])[C@@H](OC/C(C)=C/C)=O)[C@@H](OC(C)=O)[C@@]4(C(OC)=O)CO[C@@]3([H])[C@@H](O)[C@@](C)([C@@]56[C@@]7([H])O[C@]8([H])OC=C[C@]8(O)[C@@](C7)([H])[C@]5(C)O6)[C@]12[H])OC</chem>
Azadirone	<chem>CC(O[C@@H]1C[C@@]2([H])C(C)(C)C(C=C[C@]2(C)[C@@]3([H])CC[C@@]4(C)[C@H](C5=COC=C5)CC=C4[C@]13C)=O)=O</chem>
Azadiradione	<chem>CC(O[C@@H]([C@@]1(C)C2=C3)[C@@]4([H])C(C)(C)C(C=C[C@]4(C)[C@@]1([H])CC[C@@]2(C)[C@H](C5=COC=C5)C3=O)=O)=O</chem>
Epoxyazadiradione	<chem>CC(O[C@@H]([C@@]1(C)[C@@]23O[C@]2([H])C([C@@H](C4=COC=C4)[C@]3(C)CC[C@]1([H])[C@@]5(C)C=C6)=O)[C@@]5([H])C(C)(C)C6=O)=O</chem>
Gedunin	<chem>CC(O[C@@H]([C@@]1(C)[C@@]23O[C@]2([H])C(O[C@@H](C4=COC=C4)[C@]3(C)CC[C@]1([H])[C@@]5(C)C=C6)=O)[C@@]5([H])C(C)(C)C6=O)=O</chem>
Deacetylgedunin	<chem>O=C(O[C@@H](C1=COC=C1)[C@]2(C)CC[C@]3([H])[C@@]4(C)C=C5)[C@@]6([H])O[C@@]26[C@]3(C)[C@H](O)[C@@]4([H])C(C)(C)C5=O</chem>
Remdesivir	<chem>C[C@H](NP(OC1=CC=CC=C1)(OC[C@H]2O[C@@](C#N)(C3=CC=C4C(N)=NC=NN43)[C@H](O)[C@@H]2O)=O)C(OCC(C)C)=O</chem>

#### 5.1.4.2 Optimasi Senyawa Uji

Optimasi senyawa uji merupakan tahap akhir dalam proses preparasi senyawa. Tahap ini bertujuan untuk menemukan konformasi yang paling sesuai dengan energi minimal suatu molekul untuk berikatan dengan molekul lainnya,

sehingga menstabilkan susunan ikatan selama penambatan molekul (Kolina dkk., 2018, Hanif dkk., 2020). Aplikasi yang digunakan untuk optimasi senyawa uji dan pembandingan adalah *ChemDraw 3D* versi 19.0. Struktur senyawa 3D yang sebelumnya telah dibuat dilakukan optimasi dengan metode MMFF94. Metode MMFF94 merupakan suatu metode untuk minimalisasi energi berdasarkan medan gaya (*force field*). Penggunaan metode ini mampu membantu meningkatkan ketepatan dan performa hasil penambatan molekular (Hanif dkk., 2020). Optimasi senyawa yang diuji dilakukan sebanyak 3 kali untuk mendapatkan hasil energi minimal senyawa yang valid. Senyawa yang telah dioptimasi tersebut kemudian disimpan dalam format .pdb. Selanjutnya senyawa tersebut dikoversi menjadi format .pdbqt menggunakan aplikasi *MGL Tools*. Berikut adalah gambar dan tabel energi minimalisasi senyawa uji dan pembandingan :





**Gambar 5.3** Optimasi Senyawa a) Azdirachtin b) Azadirone c) Azadiradione d) Epoxyazadiradione e) Gedunin f) Deacetylgedunin g) Remdesivir  
*ChemDraw 3D*

**Tabel 5.4** Hasil Energi Minimalisasi Senyawa Uji dan Pemanding

Senyawa	Energi Minimalisasi (kcal/mol)			
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rata – Rata
Azadirachtin	241,603	241,602	241,602	241,602
Azadirone	734,326	734,325	734,319	734,323
Azadiradione	741,147	741,146	741,146	741,147
Epoxyazadiradione	153,384	153,383	153,383	153,383
Gedunin	132,930	132,929	132,929	132,929
Deacetylgedunin	150,698	150,694	150,694	150,695
Remdesivir	-1,939	-1,945	-1,947	-1,944

**Keterangan**

Nama IUPAC Senyawa :

1. Azadirachtin : dimethyl(1*S*,4*S*,5*R*,6*S*,7*S*,8*R*,11*S*,12*R*,14*S*,15*R*)-12-acetyloxy-4,7-dihydroxy-6-[(1*S*,2*S*,6*S*,8*S*,9*R*,11*S*)-2-hydroxy-11-methyl-5,7,10-trioxatetracyclo[6.3.1.0<sup>2,6</sup>.0<sup>9,11</sup>]dodec-3-en-9-yl]-6-methyl-14-[(*E*)-2-methylbut-2-enoyl]oxy-3,9-dioxatetracyclo[6.6.1.0<sup>1,5</sup>.0<sup>11,15</sup>]pentadecane-4,11-dicarboxylate)
2. Azadirone : ((5*R*,7*R*,8*R*,9*R*,10*R*,13*S*,17*R*)-17-(furan-3-yl)-4,4,8,10,13-pentamethyl-3-oxo-5,6,7,9,11,12,16,17 octahydrocyclopenta [a]phenanthren-7-yl) acetate)
3. Azadiradione : ((5*R*,7*R*,8*R*,9*R*,10*R*,13*S*,17*R*)-17-(furan-3-yl)-4,4,8,10,13-pentamethyl-3,16-dioxo-6,7,9,11,12,17-hexahydro-5*H*-cyclopenta[a]phenanthren-7-yl) acetate)
4. Epoxyazadiradione : ((1*S*,2*R*,4*S*,6*S*,7*S*,10*R*,11*R*,16*R*,18*R*)-6-(furan-3-yl)-1,7,11,15,15-pentamethyl-5,14-dioxo-3-oxapentacyclo [8.8.0.0<sup>2,4</sup>.0<sup>2,7</sup>.0<sup>11,16</sup>] octadec-12-en-18-yl) acetate)
5. Gedunin : ((1*S*,2*R*,4*S*,7*S*,8*S*,11*R*,12*R*,17*R*,19*R*)-7-(furan-3-yl)-1,8,12,16,16-pentamethyl-5,15-dioxo-3,6-dioxapentacyclo[9.8.0.0<sup>2,4</sup>.0<sup>2,8</sup>.0<sup>12,17</sup>]nonadec-13-en-19-yl) acetate)
6. Deacetylgedunin : (1*S*,2*R*,4*S*,7*S*,8*S*,11*R*,12*R*,17*R*,19*R*)-7-(furan-3-yl)-19-hydroxy-1,8,12,16,16-pentamethyl-3,6-dioxapentacyclo [9.8.0.0<sup>2,4</sup>.0<sup>2,8</sup>.0<sup>12,17</sup>] nonadec-13-ene-5,15-dione)
7. Remdesivir : (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-dihydroxyoxolan-2-yl]methoxy-phenoxyphosphoryl]amino]propanoate)

Berdasarkan tabel 5.4 diperoleh nilai energi minimalisasi yang berbeda pada setiap senyawa. Hal ini dipengaruhi oleh jarak, sudut dan sudut torsi dari masing – masing senyawa. Hasil optimasi merupakan suatu nilai mutlak , dimana tanda negatif menunjukkan bahwa elektron terikat dalam atom karena tarikan pada intinya (Siregar, 2018).

## 5.2 Prediksi Sifat Fisikokimia

Sifat fisikokimia suatu senyawa berkaitan dengan absorpsi obat yang dapat diterima dan permeabilitasnya. Hal ini merupakan langkah awal dalam bioavailabilitas obat oral (Lipinski, 2004). Prediksi sifat fisikokimia yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan aplikasi SwissADME dengan metode hukum lima Lipinski. Parameter hukum lima Lipinski meliputi Log P, Berat Molekul, jumlah ikatan antar atom yang dapat berotasi (*Torsion*), Ikatan Hidrogen Aseptor dan Ikatan Hidrogen Donor. Untuk memprediksi sifat fisikokimia senyawa uji dilakukan dengan memasukkan kode SMILES pada aplikasi *SwissADME*. Hasil prediksi sifat fisikokimia senyawa uji ditunjukkan pada tabel 5.5 berikut.

**Tabel 5.5** Hasil Prediksi Sifat Fisikokimia Senyawa Uji dan Pembanding

Senyawa	Parameter					Kesesuaian
	BM (g/mol)	Log P	Ikatan Hidrogen Donor	Ikatan Hidrogen Aseptor	Atom Berotasi	
Azadirachtin	720.710	-0.47	3	16	10	Tidak (2 Penyimpangan)
Azadirone	436.580	4.19	0	4	3	Ya ( Tidak ada penyimpangan)
Azadiradione	450.570	3.28	0	5	3	Ya ( Tidak ada penyimpangan)
Epoxy azadiradione	466.570	2.54	0	6	3	Ya ( Tidak ada penyimpangan)
Gedunin	482.570	2.56	0	7	3	Ya ( Tidak ada penyimpangan)
Deacetyl gedunin	440.530	2.23	1	6	1	Ya ( Tidak ada penyimpangan)
Remdesivir	602.580	0.18	4	12	14	Tidak (3 Penyimpangan)

Keterangan:

BM (Berat Molekul)  $\leq 500$  g/mol

Log P (Koefisien Partisi)  $\leq 5$

Ikatan Hidrogen Donor  $\leq 5$

Ikatan Hidrogen Aseptor  $\leq 10$

Atom yang dapat berotasi  $\leq 10$

Menurut Lipinski (2004) hukum lima Lipinski mendefinisikan empat rentang parameter fisikokimia meliputi berat molekul suatu senyawa  $\leq 500$  g/mol, yang dinyatakan dengan jumlah gugus O-H dan Ikatan Hidrogen Donor N-H  $\leq 5$ , Ikatan Hidrogen Aseptor yang dinyatakan dengan jumlah atom O dan N  $\leq 10$ , dan nilai logaritma koefisien partisi oktanol/ air (Log P)  $\leq 5$ . Parameter tersebut sesuai dengan 90 % obat oral yang telah mencapai fase klinis II. Menurut Chagas *et al* (2018) dalam penelitian lebih lanjut ditambahkan parameter berupa nilai *torsion* dan senyawa yang dikatakan baik apabila tidak memiliki lebih dari 10 ikatan hidrogen yang berotasi (*torsion*).

Penelitian mengenai sifat fisikokimia suatu senyawa yang berpotensi sebagai obat berdasarkan hukum lima Lipinski dilakukan untuk mengetahui karakteristik senyawa berupa berat molekul, Log P, Ikatan Hidrogen Donor, Ikatan Hidrogen Aseptor dan *Torsion*. Berat molekul berpengaruh pada kemampuan suatu senyawa untuk melewati membran sel secara difusi pasif, apabila senyawa memiliki berat molekul (BM) lebih dari 500 g/mol maka kemampuan senyawa untuk berdifusi menembus membran sel semakin sulit. Pada parameter Log P menggambarkan mengenai kemampuan senyawa untuk dapat larut dalam oktanol/air (membran biologis). Apabila nilai Log P semakin tinggi maka senyawa tersebut semakin hidrofobik. Senyawa yang bersifat terlalu hidrofobik cenderung memiliki nilai toksisitas yang tinggi dikarenakan tertahan lebih lama pada lipid bilayer dan terdistribusi luas di dalam tubuh sehingga selektivitas ikatan pada target berkurang. Namun apabila nilai Log P suatu senyawa semakin negatif maka senyawa tersebut sulit melewati lipid bilayer. Senyawa limonoid termasuk dalam senyawa semipolar kecuali *azadirachtin* yang bersifat polar. Sifat semipolar

senyawa limonoid (*azadirone*, *azadiradione*, *epoxyazadiradione*, *gedunin* dan *deacetylgedunin*) disebabkan karena mengandung cincin karbon aromatik yang bersifat hidrofilik dan gugus karbonil yang bersifat polar. Hal ini membuat senyawa limonoid (*azadirone*, *azadiradione*, *epoxyazadiradione*, *gedunin* dan *deacetylgedunin*) memiliki nilai log P yang lebih besar daripada *azadirachtin*. Ikatan hidrogen donor dan ikatan hidrogen aseptor merupakan parameter yang digunakan untuk mendeskripsikan kapasitas ikatan hidrogen suatu senyawa yang dibutuhkan dalam proses absorpsi, sehingga apabila jumlah ikatan hidrogen donor  $\geq 10$  dan akseptor  $\geq 5$ , maka energi yang dibutuhkan dalam proses absorpsi semakin tinggi. Ikatan hidrogen dapat mempengaruhi sifat kimia-fisika senyawa seperti titik didih, titik lebur, kelarutan dalam air, kemampuan dalam pembentukan kelat dan keasaman. Secara umum adanya hukum lima lipinski digunakan untuk menggambarkan solubilitas senyawa dalam menembus sel oleh difusi pasif (Patrick, 2001, Lipinski, 2004, Widiarti, 2013, Syahputra dkk., 2014). Sedangkan parameter *torsion* berkaitan dengan fleksibilitas dan permeabilitas obat. Menurut Chagas *et al* (2018) dilaporkan bahwa obat IV biasanya memiliki BM lebih tinggi daripada obat oral dan nilai log P rendah, yang menunjukkan bahwa struktur ini lebih cenderung memiliki jumlah ikatan yang dapat berotasi (*torsion*) lebih tinggi. Hal ini menyebabkan molekul obat menjadi jauh lebih fleksibel secara struktural.

Berdasarkan tabel 5.4 diatas diketahui bahwa senyawa *azadirone*, *azadiradione*, *epoxyazadiradione*, *gedunin* dan *deacetylgedunin* memenuhi semua parameter hukum lima Lipinski tanpa ada satu penyimpangan dalam setiap parameternya. Dari hasil prediksi tersebut dapat diprediksi bahwa senyawa *azadirone*, *azadiradione*, *epoxyazadiradione*, *gedunin* dan *deacetylgedunin* mudah

untuk diabsorpsi serta memiliki permeabilitas yang baik. Sedangkan senyawa *azadirachtin* tidak memenuhi hukum lima Lipinski karena memiliki berat molekul lebih dari 500 g/mol dan hidrogen aseptor lebih dari 10. Senyawa pembanding yang digunakan yakni remdesivir juga tidak memenuhi hukum lima Lipinski karena memiliki 3 penyimpangan yaitu berat molekul lebih dari 500 g/mol, Hidrogen Aseptor lebih dari 10 dan *tosion* lebih dari 10. Menurut Lipinski (2004) jika senyawa gagal memenuhi hukum lima Lipinski maka kemungkinan besar terdapat masalah terkait absorpsi obat secara oral. Namun, suatu senyawa yang memenuhi hukum lima Lipinski tidak menjamin memiliki aktivitas yang baik karena hukum ini tidak berkaitan dengan struktur kimia tertentu yang terdapat dalam suatu senyawa. Namun berdasarkan pernyataan dari Chander *et al* (2017) dikemukakan bahwa 95% obat yang telah disetujui secara klinis sifat fisikokimia dengan kisaran senagai berikut : Berat Molekul (130 sampai 725 g/mol), Ikatan Hidrogen Donor (0 sampai 6), Ikatan Hidrogen Aseptor (2 sampai 20), Log P (-2 sampai 6.5), dan Atom yang dapat berotasi (0–15). Berdasarkan pernyataan dari Chander *et al* (2017) maka senyawa *azadirachtin* masih memenuhi syarat apabila akan digunakan sebagai senyawa obat baru dengan cara meningkatkan permeabilitasnya. Sedangkan senyawa pembanding remdesivir telah terbukti digunakan sebagai obat secara klinis dalam bentuk sediaan injeksi walaupun tidak memenuhi hukum 5 Lipinski.

Berdasarkan hasil hukum lima Lipinski dapat diperoleh pula prediksi interaksi ikatan antara senyawa uji (ligan) dengan reseptor. Diketahui bahwa interaksi antara ligan dengan reseptor dipengaruhi oleh ikatan yang terbentuk. Senyawa limonoid termasuk dalam senyawa semipolar kecuali *azadirachtin* yang bersifat polar. Sifat semipolar senyawa limonoid (*azadirone*, *azadiradione*,

*epoxyazadiradione*, *gedunin* dan *deacetylgedunin*). Hal ini membuat senyawa limonoid memiliki nilai log P yang cukup besar.

### 5.3 Penambatan Ligan – Reseptor

Skrining virtual saat ini telah menjadi teknologi standar dalam penemuan kandidat senyawa obat modern. Salah satu skrining virtual yang umum digunakan adalah penambatan ligan dengan reseptor melalui *molecular docking* (Seeliger and Bert, 2010). *Molecular docking* atau penambatan molekuler bertujuan untuk membantu memberikan gambaran interaksi antara obat (senyawa) dengan reseptor target (Setiawan dan Mohammad, 2017).

Prinsip dari *molecular docking* adalah adanya interaksi (ikatan) antara makromolekul (protein) dengan ligan ikatan tersebut terjadi secara *lock and key*. Pada saat *docking* dipertimbangkan kestabilan konformasi antara makromolekul dan ligan yang terbentuk. Secara umum *docking* dapat dilakukan dengan metode *rigid docking* dan fleksibel *docking*. Metode *docking* yang dilakukan pada penelitian ini adalah fleksibel *docking*, hal ini dikarenakan penggunaan metode *rigid docking* menyebabkan ligan mengalami rotasi yang terbatas. *Docking* secara fleksibel merupakan metode yang umum dilakukan karena ikatan kompleks dan fleksibilitas konformasi antara ligan dan protein menjadi parameter utama dalam penilaian afinitas *docking* (Sousa *et al.*, 2006).

*Molecular docking* dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak *Autodock Vina*. Pemilihan perangkat lunak *Autodock Vina* didasarkan pada kemampuannya yang lebih baik dibandingkan *Autodock 4*. Kelebihan program ini adalah memiliki kecepatan dan keakuratan yang lebih baik dibandingkan dengan program yang dikembangkan sebelumnya yaitu *Autodock 4* sehingga

memperpendek waktu *running* saat *docking* (Trott and Olson, 2010). Program *Autodock Vina* dijalankan menggunakan sistem *command prompt* yakni suatu sistem yang dapat dijalankan dengan menginput kode tertentu dalam bentuk teks. Parameter docking dalam *AutoDock Vina* adalah sebuah *scoring function* yaitu sebuah metode penilaian kualitas pengikatan ligan pada reseptor yang didasarkan pada fungsi perhitungan energi ikatan antara ligan dan reseptor (Widodo dkk., 2018).

```

C:\Windows\system32\cmd.exe - vina.exe --config grid2.txt --cpu 4
03/19/2021 12:12 PM          664,922 Makromolekul.pdbqt
03/20/2021 05:18 PM           6,697 Senyawa Deacetylgedunin.pdb
03/20/2021 05:18 PM          21,182 Senyawa Deacetylgedunin.png
          14 File(s)      1,459,465 bytes
          2 Dir(s)      30,728,392,704 bytes free

C:\Users\ASUS\Documents\Docking_Deacetylgedunin\vina.exe --config grid2.txt --cpu 4
#####
# If you used AutoDock Vina in your work, please cite: #
# #
# O. Trott, A. J. Olson, #
# AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking #
# with a new scoring function, efficient optimization and #
# multithreading, Journal of Computational Chemistry 31 (2010) #
# 455-461 #
# DOI 10.1002/jcc.21334 #
# #
# Please see http://vina.scripps.edu for more information. #
#####
Output will be Deacetylgedunin_out.pdbqt
Reading input ... done.
Setting up the scoring function ... done.
Analyzing the binding site ... done.
Using random seed: -1527888164
Performing search ...
0% 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100%
-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|

```

**Gambar 5.4** Proses Docking dengan Program AutoDock Vina

### 5.3.1 Validasi Metode Docking

Posisi dan orientasi ligan yang diperoleh setelah studi *docking* molekuler menunjukkan adanya pola pengikatan ligan dengan reseptor yang mungkin merupakan suatu inhibitor. Untuk mengetahui posisi dan metode *docking* yang sesuai maka perlu adanya validasi metode *docking*. Validasi metode *docking* dilakukan dengan dengan melakukan *redocking* reseptor (makromolekul) dengan *native ligand* (Shah *et al.*, 2019). Reseptor yang digunakan pada penelitian ini merupakan jenis reseptor RdRp dengan kode PDBid : 7BV2. Pada struktur reseptor ini didapatkan *native ligand* dengan nama F86 atau dengan nama kimia [(2~{R},3~{S},4~{R},5~{R})-5-(4-azanylpyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-cyano-3,4-bis(oxidanyl)oxolan-2-yl]methyl dihydrogen phosphate.

Parameter yang digunakan dalam proses validasi reseptor adalah *Root Mean Square Deviation* (RMSD). Parameter ini mengukur kesamaan pose antara ligan asli (*native ligand*) dari struktur kristal protein yang diunduh (reseptor) dengan pose ligan hasil *redocking*. Suatu metode *docking* dikatakan valid apabila memiliki nilai RMSD kurang dari 2 Å yang berarti bahwa metode *docking* yang digunakan dapat digunakan untuk senyawa uji (Sari dkk., 2020). Tujuan dilakukan analisis RMSD ialah untuk menggambarkan seberapa jauh keadaan kompleks protein – ligan berubah tiap waktunya sampai akhir simulasi serta memastikan stabilitas struktur kompleks protein – ligan (Muttaqqin, dkk., 2019).

Proses validasi dilakukan dengan cara *redocking native ligand* dan reseptor 7BV2 menggunakan aplikasi *Autodock Vina* dan dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Selanjutnya, untuk mengetahui nilai RMSD hasil *redocking* dianalisis dan divisualisasikan menggunakan aplikasi *PyMol*. Hasil rata – rata validasi pada reseptor RdRp SARS-CoV-2 (7BV2) menunjukkan nilai RMSD sebesar 1,213 Å. Hal ini menunjukkan bahwa metode *docking* yang digunakan memenuhi kriteria RMSD yang baik karena kurang dari 2 Å. Sehingga metode *docking* ini dapat digunakan untuk *docking* senyawa uji. Berikut adalah tabel 5.6 yang menyajikan hasil validasi metode *docking*.

**Tabel 5.6** Hasil Nilai RMSD *Redocking Native Ligand* dan Reseptor 7BV2

Senyawa	Nama Reseptor	Center	Grid Box (Å)	Nilai RMSD (Å)			
				I	II	III	Rata-Rata
[2- <i>R</i> ],3- <i>S</i> ),4- <i>R</i> ),5- <i>R</i> )-5-(4-azanylpyrrolo[2,1- <i>f</i> ][1,2,4]triazin-7-yl)-5-cyano-3,4-bis(oxidanyl)oxolan-2-yl]methyl dihydrogen phosphate.	RNA dependent RNA polymerase  PDB ID : 7BV2	X : 91.776 Y : 91.56 Z : 104.863	X : 8 Y : 8 Z : 10	1.236	1.201	1.203	1.213

Berdasarkan tabel 5.6 diatas diketahui bahwa pada hasil replikasi ke-1 hingga ke-3 memiliki nilai RMSD yang berbeda – berbeda. Hal ini menandakan bahwa *native ligand* menempati posisi *docking* yang berbeda, walaupun perbedaan posisi tidak terlalu besar. Perbedaan posisi antara hasil replikasi disebabkan karena metode *docking* yang digunakan adalah fleksibel *docking* kondisi ini menyebabkan ligan menjadi fleksibel sehingga memungkinkan ligan untuk melakukan penyesuaian struktur demi mencapai konformasi yang stabil saat berikatan dengan sisi aktif reseptor. Hasil menunjukkan bahwa tidak terjadi perbedaan nilai RMSD yang terlalu jauh antara replikasi ke-1 hingga ke-3 hal ini menegaskan bahwa interaksi protein dengan *native ligand* sangat stabil sehingga cenderung mempertahankan posisi strukturnya (Muttaqqin dkk., 2019).

### **5.3.2 Hasil Penambatan Ligan - Reseptor**

Hasil yang didapatkan pada penambatan molekul berupa nilai afinitas serta interaksi residu asam amino antara ligan dengan reseptor. Visualisasi interaksi ligan dengan reseptor menunjukkan residu-residu asam amino dari reseptor yang berperan penting pada area *binding site* (Arwansyah dkk., 2014). Untuk menentukan apakah suatu senyawa diprediksi mempunyai aktivitas yang lebih baik digunakan senyawa obat pembanding sebagai kontrol. Senyawa uji yang memiliki nilai afinitas lebih rendah dibanding senyawa pembanding diprediksi memiliki kemampuan berikatan yang lebih stabil dibandingkan senyawa pembanding (Suhadi dkk., 2019). Selain itu, interaksi residu asam amino menentukan apakah senyawa tersebut memiliki aktivitas biologis yang sama dengan pembanding maupun *native ligand* (Prasetiawati dkk., 2021).

### 5.3.2.1 Penentuan Nilai Binding Affinity

Reseptor dan ligan berikatan secara selektif yang ditentukan dari energi pembentukan ikatan ligan dan reseptor. Diketahui bahwa suatu senyawa (ligan) dinilai memiliki aktivitas biologis terhadap reseptor tertentu berdasarkan nilai *binding affinity*. Afinitas pengikatan (*binding affinity*) merupakan suatu ukuran kemampuan obat untuk berikatan pada reseptor. Nilai tersebut mempengaruhi kestabilan interaksi antara ligan dan reseptor pada daerah *binding site*. Apabila nilai *binding affinity* semakin kecil maka afinitas antara reseptor dengan ligan semakin tinggi begitu pula sebaliknya semakin besar nilai *binding affinity* maka afinitas antara reseptor dengan ligan semakin rendah (Ruswanto dkk., 2015, Adriani, 2018). Berikut adalah tabel 5.7 yang menunjukkan nilai *binding affinity* senyawa uji, pembandingan dan *native ligand*.

**Tabel 5.7** Hasil Penambatan dengan Autodock Vina

Senyawa	Binding Affinity (kcal/mol)			
	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III	Rata - Rata
Azadirachtin	-5.9	-5.9	-5.9	-5.9
Azadirone	-5.9	-5.9	-5.9	-5.9
Azadiradione	-5.5	-5.5	-5.5	-5.5
Epoxyazadiradione	-5.8	-5.8	-5.8	-5.8
Gedunin	-5.9	-5.9	-5.9	-5.9
Deacetylgedunin	-6.4	-6.4	-6.4	-6.4
Remdesivir	-5.2	-5.2	-5.2	-5.2
Native Ligand	-5.1	-5.1	-5.1	-5.1

Berdasarkan nilai *binding affinity* pada tabel 5.7 didapatkan hasil bahwa baik senyawa uji, pembandingan dan *native ligand* memiliki nilai *binding affinity* yang negatif (<0) terhadap reseptor RdRp (PDBid:7BV2). Apabila keseluruhan ligan uji memiliki nilai *binding affinity* < 0 menggambarkan bahwa keseluruhan ligan uji memiliki afinitas pada sisi aktif (*binding site*) reseptor (Muttaqin dkk.,

2019). Hasil *docking* terhadap 6 senyawa uji menunjukkan bahwa *azadiradione* memiliki nilai *binding affinity* tertinggi dengan hasil -5.5 kcal/mol sedangkan senyawa *deacetylgedunin* memiliki nilai *binding affinity* terendah dengan nilai sebesar -6.4 kcal/mol.

Berdasarkan hasil tersebut, untuk mengetahui aktivitas biologis senyawa yang lebih baik maka perlu dilakukan perbandingan nilai *binding affinity* antara senyawa uji dengan pembanding dan *native ligand*. Berdasarkan hasil pada tabel 5.7 maka semua senyawa uji yakni *azadirachtin*, *azadirone*, *azadiradione*, *epoxyazadiradione*, *gedunin* dan *deacetylgedunin* memiliki nilai *binding affinity* lebih kecil daripada senyawa pembanding dan *native ligand*. Menurut Mulatsari dkk. (2020) apabila nilai *binding affinity* senyawa uji lebih kecil daripada senyawa pembanding maka kemungkinan senyawa uji memiliki selektifitas yang lebih baik pada reseptor uji. Semakin rendah nilai *binding affinity*, maka daya ikat ligan dengan reseptor semakin kuat. Nilai *binding affinity* yang semakin rendah menunjukkan ikatan kompleks senyawa dengan reseptor akan semakin kuat karena terjadi kestabilan dan kekuatan interaksi non-kovalen pada senyawa dengan reseptor. Sehingga dapat dikatakan bahwa senyawa uji pada daerah *binding site* lebih mudah berinteraksi daripada senyawa pembanding dan *native ligand* (Prasetiawati dkk., 2021). Dari hal tersebut menunjukkan bahwa senyawa *deacetylgedunin* merupakan senyawa uji yang paling berpotensi sebagai inhibitor reseptor RdRp SARS-CoV-2 (PDB id: 7BV2) yang ditunjukkan dengan nilai *binding affinity* paling kecil dibandingkan senyawa lainnya.

### 5.3.2.2 Interaksi Ligan dan Reseptor

Visualisasi interaksi antar ligan dan reseptor bertujuan untuk mengidentifikasi residu-residu dari protein reseptor yang berperan penting pada area *binding site* (Arwansyah dkk., 2014). Area *binding site* pada protein reseptor melibatkan residu-residu asam amino yang berperan penting pada pengikatan dengan ligan (Syahputra dkk, 2014). Interaksi yang dapat diamati berupa ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik dan interaksi elektrostatis selain itu diamati pula jarak ikatan yang terjadi (Basuki, 2017, Prasetyawati dkk., 2021) Hasil visualisasi yang menunjukkan bahwa ligan uji dengan residu asam amino dan ikatan hidrogen yang mendekati ligan alami menunjukkan kemiripan jenis interaksi dalam hal ini menggambarkan kemiripan aktivitasnya (Cosconati *et al.*, 2010). Visualisasi dilakukan secara 2D dan 3D menggunakan *software Discovery Studio Visualizer*.

Hasil visualisasi dari penambatan antara *native ligand*, ligan uji, dan ligan pembanding (remdesivir) dengan reseptor RdRp PDBid : 7BV2 ditunjukkan pada gambar 5.5 (visualisasi secara 2D) dan 5.6 (visualisasi secara 3D) dan ikatan dengan residu asam amino ditunjukkan pada tabel 5.8.

**Tabel 5.8** Interaksi Residu Asam Amino Hasil Penambatan

No	Senyawa	Ikatan Hidrogen			Interaksi Elektrostatik	Interaksi Hidrofobik	
		Residu Asam Amino	Jarak (Å)	Asam Amino-Ligan			
1.	Native Ligand	Ser759 (A)***	3.08	N-H	Thr687 (A)***		
		Asn691 (A)*	3.33	N-H	Ala688 (A)*		
			3.16	O-H	Asp623 (A)***		
		Ser682 (A)*	3.04	O-H	Cys622 (A)*		
		Asp760 (A)*	3.39	O-H	Arg555(A)*		
2.	Remdesivir	Arg555(A)**	3.09	O-H	Arg553(A)**	Cys622 (A)	
			3.15	O-H	Lys545 (A)**	Val557 (A)	
		Ser759 (A)***	2.82	O-H	Asp623 (A)***		
					Ser682 (A)		
					Thr687 (A)***		
					Asp760 (A)**		
3.	Azadirachtin	Asp760 (A)*	2.09	O-H	Lys545 (A)**		
			Arg555(A)**	2.84	O-H		Ser682 (A)**
				3.10	O-H		Thr687 (A)***
				3.03	O-H		Ala688 (A)*
				3.13	O-H		Cys622 (A)*
		Ser759 (A)***	2.86	O-H	Asp623 (A)***		
		Asn691 (A)*	3.11	O-H	Arg553(A)**		
					Val557 (A)		
4.	Azadirone	Arg555(A)**	2.92	O-H	Ala688 (A)*		
					Ser759 (A)		
					Ser682 (A)**		
					Thr687 (A)*		
					Thr680 (A)		
					Asp623 (A)***		
					Cys622 (A)*		
					Asn691 (A)		
					Asp760 (A)**		
5.	Azadiradione	Arg555(A)**	3.11	O-H	Arg553(A)**		
					Asn691 (A)*		3.30
					Ser682 (A)**		
					Thr687 (A)***		
					Ala688 (A)*		
					Ser758 (A)		
					Ser759 (A)		
					Asp760 (A)**		

Lanjutan Tabel 5.8

6.	Epoxy azadiradione	Arg553 (A)	2.90	O-H	Ser759 (A)	Ala688 (A)
			3.04	O-H	Asn691 (A)	
		Arg555 (A)**	3.10	O-H	Asp623 (A)***	
		Ala688 (A)	3.04	O-H	Thr687 (A)***	
					Asp760 (A)**	
7.	Gedunin	Arg555(A)**	2.99	O-H	Lys545 (A)**	
		Ser682 (A)*	3.69	O-H	Val557 (A)	
					Ser759 (A)	
					Asp760 (A)**	
					Asn691 (A)	
					Thr680 (A)*	
					Thr687 (A)***	
					Cys622 (A)*	
					Asp623 (A)***	
					Asp618 (A)	
			Tyr619 (A)			
8.	Deacetyl gedunin	Arg555(A) **	2.86	O-H	Ser759 (A)	Ala688 (A)
			2.93	O-H	Arg553(A) **	Thr687 (A)
		Thr680 (A)	3.05	O-H	Asp623(A) ***	
		Asn691 (A) *	3.16	O-H	Ser682 (A) **	
					Asp760 (A) **	

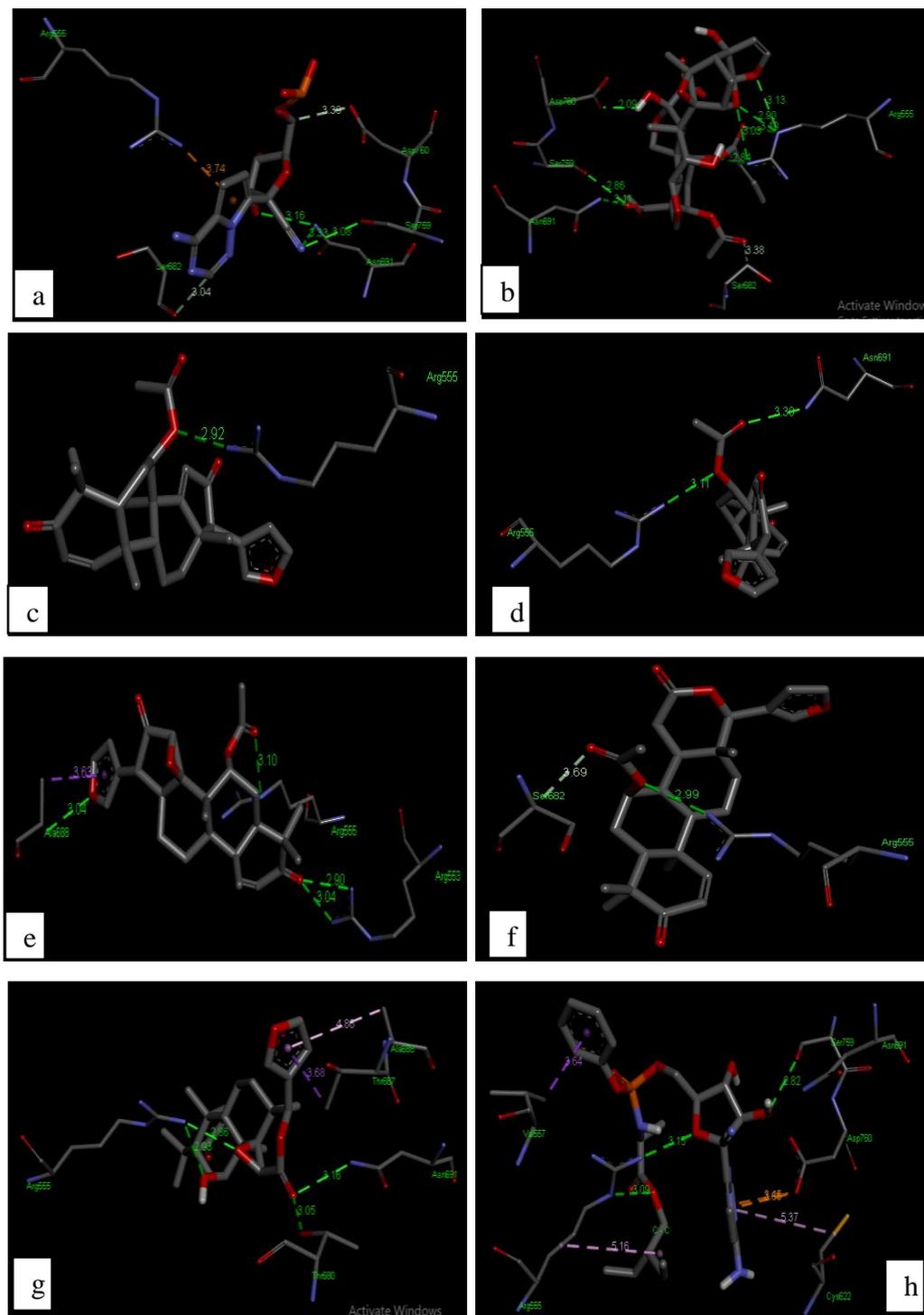
**Keterangan :**

\* : asam amino yang mirip dengan *native ligand*

\*\* : asam amino yang mirip dengan pembanding (remdesivir)

\*\*\* : asam amino yang mirip dengan *native ligand* dan pembanding (remdesivir)





**Gambar 5.6** Visualisasi 3D a) Native Ligand b) Azadirachtin c) Azadirone d) Azadiradione e) Epoxyazadiradione f) Gedunin g) Deacetylgedunin h) Remdesivir menggunakan *Discovery Studio Visualizer*

Berdasarkan hasil dari tabel 5.8 ditunjukkan bahwa *native ligand*, ligan uji dan ligan pembanding berinteraksi dengan reseptor RdRp SARS CoV-2. Hal ini dibuktikan dengan adanya interaksi residu asam amino antara ligan dengan reseptor. Adapun jenis interaksi yang dihasilkan adalah ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik dan interaksi elektrostatik. Interaksi tersebut menentukan kekuatan ikatan antara obat dan reseptor. Pada umumnya, ikatan antara obat-reseptor bersifat reversibel sehingga obat akan segera meninggalkan reseptor bila kadar obat dalam cairan luar sel menurun. Ikatan yang terlibat pada interaksi obat dan reseptor harus relatif lemah tetapi masih cukup kuat berkompetensi dengan ikatan lainnya (Basuki dan Neva, 2017). Oleh karena itu, kebanyakan pada hasil *docking* tidak ditemukan adanya ikatan kovalen karena ikatan kovalen bersifat irreversibel walaupun menghasilkan afinitas yang kuat dan interaksi yang stabil (Prabowo, 2018).

Hasil interaksi antara ligan dan reseptor pada tabel 5.8 menunjukkan bahwa senyawa uji memiliki kemiripan residu asam amino dengan *native ligand* dan *remdesivir* sebagai senyawa pembanding. Diketahui bahwa semua senyawa uji memiliki ikatan hidrogen pada jarak yang berbeda – beda. Ikatan hidrogen merupakan ikatan yang melibatkan interaksi atom hidrogen yang terikat secara kovalen dengan atom elektronegatif seperti flour (F), nitrogen (N), oksigen (O) (Glowacki *et al.*, 2013). Pada *molecular docking* ikatan hidrogen merupakan ikatan utama yang menjaga kestabilan protein (Voet and Judith, 2011). Menurut Tambunan *et al.* (2010) interaksi kompleks protein ligan yang kuat ditandai dengan nilai *binding affinity* yang rendah dan banyaknya jumlah ikatan hidrogen. Interaksi ikatan hidrogen yang terjadi salah satunya dipengaruhi oleh jarak ikatan yang terjadi. Jarak ikatan hidrogen yang baik umumnya berada diantara 2.5 - 3.5 Å

(Syahputra dkk., 2014). Berdasarkan pernyataan tersebut maka jarak ikatan hidrogen baik pada *native ligand*, ligan uji dan ligan pembanding memenuhi persyaratan kecuali ikatan hidrogen pada senyawa gedunin dengan jarak 3.69 pada interaksi antara residu Ser682 dengan gugus O senyawa gedunin. Jarak interaksi yang terlalu besar menyebabkan interaksi menjadi lemah, oleh karena itu kekuatan ikatan sangat tergantung pada jarak (Prasetiawati dkk., 2021).

Interaksi hidrofobik merupakan interaksi residu dari asam amino yang bersifat non polar (Prasetiawati dkk., 2021). Interaksi ini terjadi karena sebagian residu asam amino pada sisi aktif protein bersifat hidrofobik (Puspaningtyas, 2012). Interaksi hidrofobik juga berperan dalam menentukan stabilitas ligan terhadap reseptor (Arwasnyah dkk., 2014). Hasil analisa interaksi hidrofobik antara *native ligand*, senyawa uji dan senyawa pembanding pada tabel 5.8 menunjukkan bahwa pada senyawa uji *epoxyzadiradione* memiliki interaksi hidrofobik dengan residu Ala688, sedangkan senyawa *deacetylgedunin* memiliki interaksi hidrofobik dengan Ala688 dan Thr682. Pada senyawa pembanding yakni remdesivir memiliki interaksi hidrofobik dengan Cys622 dan Val557. Berdasarkan hasil tersebut tidak ditemukan adanya kemiripan interaksi hidrofobik pada senyawa pembanding dan senyawa uji. Sedangkan *native ligand* diketahui tidak memiliki interaksi hidrofobik. Hasil interaksi hidrofobik tidak banyak ditemukan pada penelitian ini hal ini disebabkan karena daerah *binding site* memiliki sisi polar yang lebih dominan hal ini diketahui dari residu asam amino yang terlibat. Residu asam amino yang bersifat polar antarlain serin, arginine, aspartate, asparagine, tirosin, treonin dan sistein (Sumardjo, 2009). Residu tersebut diketahui banyak terdapat pada hasil visualisasi antara senyawa uji dengan protein, sehingga interaksi yang terjadi lebih dominan

cenderung bersifat polar yakni pada ikatan hidrogen dan interaksi elektrostatik. Pada prediksi sifat fisikokimia diketahui senyawa memiliki nilai Log P yang rendah. Nilai Log P berhubungan dengan panjangnya rantai karbon, jumlah atom substituen alkil (-CH<sub>3</sub>) dan substituen *one pairs* (-OH) (Cryznki and Kupeyzk, 2013). Dengan demikian diketahui bahwa senyawa lebih bersifat hidrofilik sehingga menjadi salah satu penyebab tidak banyak ditemukan interaksi hidrofobik.

Interaksi elektrostatik berperan dalam stabilitas ligan terhadap reseptor. Interaksi terjadi karena adanya perbedaan kepolaran antar atom (Sharp & Honig 1990). Interaksi ini termasuk interaksi yang lemah dan bersifat non kovalen sehingga mudah lepas, tetapi karena jumlahnya yang banyak interaksi elektrostatik memiliki kontribusi yang besar dalam pembentukan konformasi protein (Arwansyah dkk., 2014). Berdasarkan tabel 5.8 diketahui bahwa baik *native ligand*, senyawa uji dan senyawa pembanding memiliki interaksi elektrostatik yang mirip. Hal ini dibuktikan dari hasil residu beberapa asam amino yang sama antara *native ligand*, senyawa uji dan senyawa pembanding. Analisis interaksi elektrostatik yang mirip antara *native ligand*, senyawa uji dan senyawa pembanding memperkuat gagasan bahwa senyawa uji menempati sisi aktif yang sama dengan *native ligand* pada reseptor RdRp SARS-CoV-2 (PDBid: 7BV2).

Ikatan antara reseptor dan ligan yang kuat salah satunya ditandai dengan banyaknya ikatan hidrogen. Ligan uji dengan residu asam amino dan ikatan hidrogen yang mendekati ligan alami menunjukkan kemiripan jenis interaksi dalam hal ini menggambarkan kemiripan aktivitasnya (Cosconati *et al.*, 2010). Untuk memudahkan dalam melihat kemiripan residu asam amino antara *native ligand*, ligan uji dan ligan pembanding dapat dilihat pada tabel 5.9.

**Tabel 5.9** Kemiripan Ikatan Hidrogen Native Ligand dengan Senyawa Uji dan Pemanding Pada Ikatan Hidrogen

Residu AA	NL	Azadirachtin	Azadirone	Azadiradione	Epoxyazadiradione	Gedunin	Deactylgedunin	RDV
Ser759	✓	✓	-	-	-	-	-	✓
Asn691	✓	✓	-	✓	-	-	✓	-
Ser682	✓	-	-	-	-	✓	-	-
Asp760	✓	✓	-	-	-	-	-	-
Thr680	-	-	-	-	-	-	✓	-
Ala688	-	-	-	-	✓	-	-	-
Arg553	-	-	-	-	✓	-	-	-
Arg555	-	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓

**Keterangan :**

NL : Native Ligand

RDV : Remdesivir

AA : Asam Amino

Berdasarkan tabel 5.9 dapat dilihat bahwa baik senyawa uji dan senyawa pemanding memiliki kemiripan ikatan hidrogen dengan *native ligand* kecuali senyawa *azadirone* dan *epoxyazadiradione*. Menurut Ruswanto (2015) semakin banyak interaksi hidrogen antara senyawa dengan residu asam amino maka diprediksi interaksinya senyawa dan reseptor semakin baik. Apabila senyawa uji yang berikatan pada residu asam amino yang sama dengan *native ligand* memiliki kemungkinan adanya aktivitas biologi yang sama dengan *native ligand*. Menurut Yin *et al* (2020) menyebutkan bahwa sisi aktif RdRp (nsp 12) terletak pada residu 759 sampai 761, selain itu juga terletak pada residu 555. Residu tersebut berikatan dengan ligan alami yang terdapat pada struktur RdRp SARS-CoV-2 dimana diketahui bahwa ligan tersebut bersifat inhibisi. Berdasarkan keterangan tersebut maka semua senyawa berikatan baik *native ligand*, senyawa uji dan pemanding berikatan pada sisi aktif reseptor. Penelitian lain dari Dahab *et al* (2020) mengungkapkan bahwa ikatan yang terjadi pada *native ligand* reseptor 7BV2 antara

lain pada residu asam amino Arg553, Asp623, Asn691, Ser759 dan Ser 682. Berdasarkan hal tersebut maka dapat dikatakan bahwa senyawa uji *azadirachtin*, *azadiradione*, *gedunin* dan *deacetylgedunin* memiliki kemiripan ikatan hidrogen dengan *native ligand*. Adanya kemiripan ikatan hidrogen menggambarkan kemiripan aktivitasnya dalam suatu reseptor.

Berdasarkan tabel 5.9 diketahui bahwa semua senyawa uji memiliki kemiripan ikatan hidrogen dengan senyawa pembanding (remdesivir). Senyawa uji yang memiliki ikatan hidrogen yang sama dengan senyawa pembanding kemungkinan memiliki aktivitas yang sama dengan senyawa pembanding (Prasetiawati dkk., 2021). Remdesivir dapat menghambat aktivitas *RNA-dependent RNA Polymerase* (RdRp). RdRp merupakan protein yang berperan penting dalam replikasi virus corona. Remdesivir berperan sebagai analog nukleosida adenosine sehingga RNA polimerase mungkin salah mengira remdesivir sebagai adenosin. Hal ini menyebabkan kemampuan untuk mereplikasi virus menurun (Eastman *et al.*, 2020, Neldi dan Suharjono, 2020). Berdasarkan hal tersebut diketahui bahwasanya remdesivir bekerja menghambat RdRp suatu virus sehingga berdasarkan hasil interaksi ikatan hidrogen senyawa uji, pembanding maka kemungkinan senyawa uji bersifat inhibisi terhadap reseptor RdRp SARS-CoV-2 (PDBid : 7BV2).

#### **5.4 Prediksi Toksisitas**

Prediksi toksisitas merupakan salah satu parameter yang diuji dalam penelitian ini. Untuk memprediksi toksisitas senyawa uji dan pembanding dilakukan melalui situs *pkCSM Online Tool* dan *Protox Online Tool*. Adapun parameter yang diuji dalam *pkCSM Online Tool* meliputi sensitivitas terhadap kulit (*skin*

*sensitization*), toksisitas pada hepar (*hepatotoxicity*), dan uji mutagenik secara ames (*ames toxicity*) sedangkan parameter yang diuji pada *Protox Online Tool* adalah  $LD_{50}$ . Kelas toksisitas  $LD_{50}$  diklasifikasikan berdasarkan *Globally Harmonized System* (GHS) dan dibagi menjadi VI kelas berdasarkan rentang nilai  $LD_{50}$  (El Din *et al.*, 2016). Hasil prediksi toksisitas senyawa uji dan pembanding pada kedua situs tersebut dilakukan dengan cara menginput kode SMILES setiap senyawa untuk selanjutnya dilakukan analisa. Berikut adalah tabel 5.10 yang menjelaskan mengenai hasil prediksi toksisitas senyawa uji dan pembanding.

**Tabel 5.10** Hasil Prediksi Toksisitas Senyawa Uji dan Senyawa Pembanding

Senyawa	Toksisitas				
	$LD_{50}$ *	Kelas $LD_{50}$ *	Uji Mutagenik Ames**	Toksisitas pada Hepar**	Sensitivitas Kulit **
Azadirachtin	2000 mg/kg	IV	Tidak	Tidak	Tidak
Azadirone	555 mg/kg	IV	Tidak	Tidak	Tidak
Azadiradione	555 mg/kg	IV	Tidak	Tidak	Tidak
Epoxyazadiradione	555 mg/kg	IV	Tidak	Tidak	Tidak
Gedunin	274 mg/kg	III	Tidak	Tidak	Tidak
Deacetylgedunin	274 mg/kg	III	Tidak	Ya	Tidak
Remdesivir	1000 mg/kg	IV	Tidak	Ya	Tidak

**Keterangan :**

\* : Pengujian dilakukan pada situs *Protox Online Tool*

\*\* : Pengujian dilakukan pada situs *pkCSM Online Tool*

Berdasarkan tabel 5.10 didapatkan hasil senyawa *azadirachtin*, *azadirone*, *azadiradione* dan *epoxyazadiradione* diprediksi masuk dalam klasifikasi kelas toksisitas IV yaitu diantara  $300 < LD_{50} \leq 2000$  mg/kg yang diartikan berbahaya apabila tertelan (El Din *et al.*, 2016). Senyawa *gedunin* dan *deacetylgedunin* diprediksi masuk dalam klasifikasi kelas toksisitas III yaitu  $50 < LD_{50} \leq 300$  mg/kg

yang artinya beracun jika tertelan. Senyawa pembanding yaitu remdesivir memiliki nilai LD<sub>50</sub> sebesar 1000 mg/kg dan termasuk dalam kelas toksisitas IV yang berarti berbahaya jika tertelan. Prediksi toksisitas berdasarkan nilai LD<sub>50</sub> (*Lethal Dose 50*) berhubungan dengan dosis tunggal suatu zat yang dapat menyebabkan kematian 50% hewan percobaan (Lu, 1991). Semakin besar nilai LD<sub>50</sub> maka bahan yang diuji semakin aman (Hodgson, 2010). Berdasarkan hal tersebut maka senyawa *azadirachtin* merupakan senyawa yang memiliki toksisitas paling rendah diantara senyawa lainnya termasuk lebih rendah dibandingkan senyawa pembanding yaitu remdesivir, sedangkan senyawa *gedunin* dan *deacetylgedunin* merupakan senyawa yang memiliki toksisitas paling tinggi diantara senyawa lainnya.

Parameter prediksi toksisitas lain yang diuji adalah sensitivitas pada kulit, toksisitas pada hepar, dan uji mutagenik ames. Prediksi sensitivitas pada kulit berkaitan dengan alergi pada kulit akibat paparan zat tertentu. Berdasarkan hasil uji ini diketahui bahwa baik senyawa uji yakni *azadirachtin*, *azadirone*, *azadiradione*, *epoxyazadiradione*, *gedunin*, dan *deacetylgedunin* serta senyawa pembanding yakni remdesivir tidak menyebabkan reaksi sensitivitas pada kulit. Hasil yang sama juga berlaku pada parameter uji mutagenik ames yakni baik senyawa uji dan pembanding tidak berpotensi mengalami mutagenik. Pengujian mutagenik ames merupakan salah satu pengujian toksisitas yang penting untuk menilai resiko genotoksik. Hasil yang berbeda ditampilkan pada parameter toksisitas pada hepar yakni terdapat senyawa yang diprediksi menimbulkan toksisitas pada hepar yaitu *deacetylgedunin* dan senyawa pembanding (remdesivir), sedangkan senyawa *azadirachtin*, *azadirone*, *azadiradione*, *epoxyazadiradione* dan *gedunin*

merupakan senyawa yang aman dan tidak menyebabkan kerusakan pada hepar (Andrade *et al.*, 2007, Arriaga-Alba, *et al.*, 2012, Wang *et al.*, 2017).

## 5.5 Analisa Data

Analisa data yang dilakukan dalam pengujian ini adalah secara deskriptif. Analisa deskriptif memberikan gambaran mengenai suatu data yang dilihat dari nilai rata – rata (*mean*), standar deviasi, varian, nilai maksimum, minimum dan (Ghozali, 2011). Variabel bebas dalam uji ini yaitu senyawa limonoid tanaman mimba yakni *azadirachtin*, *azadirone*, *azadiradione*, *epoxyazadiradione*, *gedunin* dan *deacetylgedunin* serta senyawa pembanding (remdesivir). Variabel terikat yang digunakan yakni nilai *binding affinity*, interaksi residu asam amino, fisikokimia dan toksisitas. Tabel 5.11 menjabarkan mengenai analisa deskriptif *binding affinity*.

**Tabel 5.11** Analisa Nilai Binding Affinity

Senyawa	Binding Affinity (kcal/mol)			Std.Deviation
	Minimum	Maksimum	Mean	
Azadirachtin	-5.9	-5.9	-5.9	0
Azadirone	-5.9	-5.9	-5.9	0
Azadiradione	-5.5	-5.5	-5.5	0
Epoxyazadiradione	-5.8	-5.8	-5.8	0
Gedunin	-5.9	-5.9	-5.9	0
Deacetylgedunin	-6.4	-6.4	-6.4	0
Remdesivir	-5.2	-5.2	-5.2	0
Native Ligand	-5.1	-5.1	-5.1	0

Hasil analisa deskriptif menunjukkan bahwa baik *native ligand*, senyawa uji (*azadirachtin*, *azadirone*, *azadiradione*, *epoxyazadiradione*, *gedunin* dan *deacetylgedunin*) memiliki nilai maksimum, minimum dan *mean* yang sama setelah direplikasi sebanyak 3 kali, sehingga nilai standar deviasinya adalah 0. Standar deviasi merupakan nilai statistik yang dimanfaatkan untuk menentukan bagaimana sebaran data dalam sampel. Apabila nilai standar deviasi dari kumpulan data sama

dengan nol menandakan bahwa semua nilai dalam himpunan tersebut adalah sama (Hidayat dkk., 2019). Hasil ini menunjukkan bahwa tidak ada variasi nilai *binding affinity* pada kumpulan data hasil *docking* antara senyawa uji, *native ligand* dan senyawa pembanding dengan reseptor RdRp SARS-CoV-2 yang menunjukkan bahwa data merata (homogen). Berdasarkan tabel 5.11 didapatkan hasil bahwa semua senyawa uji memiliki nilai *binding affinity* lebih kecil daripada senyawa pembanding (remdesivir) dan *native ligand*. Pada nilai *binding affinity* didapatkan urutan *binding affinity* tertinggi hingga terendah yakni *native ligand*, *remdesivir*, *azadiradione*, *epoxyazadiradione*, *azadirone*, *azadirachtin*, *gedunin* dan *deacetylgedunin*. Apabila nilai *binding affinity* semakin kecil maka afinitas antara reseptor dengan ligan semakin tinggi, begitupula sebaliknya (Ruswanto dkk, 2015). Berdasarkan keterangan tersebut dapat di analisa bahwa afinitas senyawa uji dengan reseptor RdRp SARS-CoV-2 (7BV2) lebih baik dari senyawa pembanding (remdesivir) dan *native ligand*.

Residu asam amino berperan penting untuk mengetahui aktivitas suatu senyawa. Adanya kemiripan residu asam amino menunjukkan aktivitas yang serupa. Analisa deskriptif interaksi residu asam amino disajikan pada tabel 5.12.

**Tabel 5.12** Analisa Interaksi Residu Asam Amino

Residu AA	NL	Azadirachtin	Azadirone	Azadiradione	Epoxyaza diradione	Gedunin	Deacetyl gedunin	RDV
Ser759	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Asn691	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	-
Ser682	✓	✓	✓	✓	-	✓	✓	✓
Asp760	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Thr687	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Ala688	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	-
Cys622	✓	-	✓	✓	-	✓	-	✓
Arg555	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓

**Keterangan :**

NL : Native Ligand  
 RDV : Remdesivir  
 AA : Asam Amino

Berdasarkan tabel 5.12 didapatkan hasil bahwa interaksi residu asam amino pada *native ligand* dengan senyawa uji dan pembanding memiliki kemiripan yang tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa baik senyawa uji dan senyawa pembanding menepati posisi *docking* yang sama dengan *native ligand*. Semakin banyak kemiripan residu asam amino dengan *native ligand* dan senyawa pembanding maka memungkinkan adanya kemiripan aktivitas (Arwansyah dkk., 2014). Berdasarkan hal tersebut dapat diketahui bahwa senyawa uji, senyawa pembanding dan *native ligand* kemungkinan memiliki kemiripan aktivitas dalam menghambat RdRp SARS-CoV-2.

Analisa selanjutnya adalah mengenai fisikokimia dan toksisitas. Analisa fisikokimia bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya penyimpangan hukum lima Lipinski pada senyawa uji sedangkan analisa toksisitas bertujuan untuk mengetahui prediksi toksisitas senyawa uji berdasarkan kelas *Globally Harmonized System* (GHS). Berdasarkan pengujian fisikokimia menggunakan *SwissADME* dan toksisitas menggunakan *Protox Online Tool* didapatkan hasil sebagai berikut yang ditunjukkan pada tabel 5.13.

**Tabel 5.13** Analisa Fisikokimia dan Toksisitas

No.	Senyawa	Fisikokimia	Kelas Toksisitas (GHS)
1.	Azadirachtin	Tidak, 2 penyimpangan	IV
2.	Azadirone	Ya, 0 penyimpangan	IV
3.	Azadiradione	Ya, 0 penyimpangan	IV
4.	Epoxyazadiradione	Ya, 0 penyimpangan	IV
5.	Gedunin	Ya, 0 penyimpangan	III
6.	Deacetylgedunin	Ya, 0 penyimpangan	III
7.	Remdesivir	Tidak, 3 penyimpangan	IV

Berdasarkan hasil pada tabel 5.12 diketahui bahwa sifat fisikokimia senyawa uji yang memenuhi persyaratan hukum lima Lipinski yakni *azadirone*,

*azadiradione*, *epoxyazadiradione*, *gedunin* dan *deacetylgedunin*. Sementara senyawa *azadirachtin* dan senyawa pembanding *remdesivir* tidak memenuhi hukum lima Lipinski. Toksisitas dari senyawa uji masuk dalam kelas III dan IV, sedangkan senyawa pembanding termasuk dalam kelas IV. Tingkatan kelas toksisitas berdasarkan *Globally Harmonized System* (GHS) yakni pada Kelas III (toksik jika tertelan ( $50 < LD50 \leq 300$  mg / kg)), Kelas IV (berbahaya jika tertelan ( $300 < LD50 \leq 2000$  mg / kg)) (El din *et al.*, 2016). Berdasarkan hal ini maka urutan senyawa yang memiliki tingkat toksisitas tertinggi ke rendah adalah *gedunin*, *deacetylgedunin*, *azadirone*, *azadiradione*, *epoxyazadiradione*, *remdesivir* dan *azadirachtin*.

## BAB VI

### PENUTUP

#### 6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

1. Senyawa limonoid dari tanaman mimba (*Azadirachta indica* A. Juss.) yang memenuhi hukum lima Lipinski adalah *azadirone*, *azadiradione*, *epoxyazadiradione*, *gedunin* dan *deacetylgedunin*.
2. Prediksi toksisitas senyawa limonoid tanaman mimba (*Azadirachta indica* A. Juss.) menunjukkan bahwa senyawa *gedunin* dan *deacetylgedunin* (kelas toksisitas III :  $50 < LD_{50} \leq 300$  mg/kg) bersifat lebih toksik daripada senyawa *azadirachtin*, *azadirone*, *azadiradione* dan *epoxyazadiradione* (kelas toksisitas IV : diantara  $300 < LD_{50} \leq 2000$  mg/kg).
3. Senyawa limonoid tanaman mimba (*Azadirachta indica* A. Juss.) berinteraksi dengan reseptor RdRp SARS-CoV-2 (7BV2) pada sisi aktif reseptor dengan afinitas lebih baik daripada senyawa pembanding dan ligan asli.

#### 6.2 Saran

Bagi peneliti selanjutnya diharapkan mampu melakukan penambatan dengan pengaturan *grid box* yang lebih tepat dan menjelaskan lebih detail mengenai interaksi yang terjadi khususnya pada setiap residu asam amino yang terlibat, sehingga dapat diperoleh mekanisme aksi yang lebih pasti. Selain itu, dapat dilakukan penambatan pada jenis reseptor yang berbeda, untuk mengetahui lebih lanjut prediksi aktivitas senyawa limonoid pada tanaman mimba.

## DAFTAR PUSTAKA

- Al-Qur'an, Syaamil. 2014. *Al-Qur'an Terjemah & Tajwid*. Bandung : Sygma dan Syaamil Al-Qur'an.
- Abdul, Ghoffar M. 2004. *Tafsir Ibnu Katsir Jilid 6*. Bogor: Pustaka Imam Asy-Syafi'i.
- Accelrys Enterprise Platform. 2005. *Introduction to the Discovery Studio Visualizer*. San Diego, USA : Accelrys Software Inc.
- Adriani, A. 2018. Prediksi Senyawa Bioaktif Dari Tanaman Sanrego (Lunasia Amara Blanco) Sebagai Inhibitor Enzim Siklooksigenase-2 (COX-2) Melalui Pendekatan Molecular Docking. *Jurnal Ilmiah Pena: Sains dan Ilmu Pendidikan*, 10(1), 6-11.
- Aftab, S. O., Ghouri, M. Z., Masood, M. U., Haider, Z., Khan, Z., Ahmad, A., & Munawar, N. 2020. Analysis of SARS-CoV-2 RNA-dependent RNA polymerase as a potential therapeutic drug target using a computational approach. *Journal of translational medicine*, 18(1), 275.
- Ahsan, W., Javed, S., Bratty, M.A., Alhazmi, H.A., & Najmi, A. 2020. Treatment of SARS-CoV-2: How far have we reached?. *Drug Discoveries & Therapeutics*, 14(2).
- Al-Bukhari, al-Imam al-Hafidz Abi 'Abdillah Ibn Isma'il. 1997. *Sahih Al – Bukhari Volume 7* translated by Dr. Muhammad Muhsin Khan. Riyadh : Darussalam.
- Al Qarni, A. 2008. *Tafsir Muyassar Jilid 4 Juz 24-30*. Jakarta: Qisthi Press.
- Alfiyanti, Y. D., Ratnawati, D. E., & Anam, S. 2018. Klasifikasi Fungsi Senyawa Aktif Data Berdasarkan Kode Simplified Molecular Input Line Entry System (SMILES) menggunakan Metode Modified K-Nearest Neighbor. *Jurnal Pengembangan Teknologi Informasi dan Ilmu Komputer e-ISSN*, 2548, 964X.
- Al-Maraghi, A. M. 1992. *Terjemahan Tafsir Al-Maraghi Jilid 14 Juz 24-30*. Semarang : CV: Toha Putra Semarang.
- Ambarwati. 2011. Mimba Sebagai Antibakteri, Antifungi dan Biopestisida. *Jurnal Kesehatan*. Vol. 4 No.2.
- Andrade, R. J., Robles, M., Fernández-Castañer, A., López-Ortega, S., López-Vega, M. C., & Lucena, M. I. 2007. Assessment of drug-induced hepatotoxicity in clinical practice: a challenge for gastroenterologists. *World journal of gastroenterology*, 13(3), 329–340.
- Ang Ling, Hye Won Lee, Jun Yong Choi, Junhua Zhang & Myeong Soo Lee. 2020. Review Article Herbal medicine and pattern identification for treating COVID-19: a rapid review of guidelines. *Integrative Medicine Research* 9.

- Arriaga-Alba, M., Montero-Montoya, R., & Aguirre, J. J. E. 2012. The ames test in twenty-first century. *Research & Reviews: A Journal of Toxicology* Volume 2, Issue 1.
- Arwansyah, Laksmi A., dan Tony I. S. 2014. Simulasi *Docking* Senyawa Kurkumin dan Analognya Sebagai Inhibitor Reseptor Androgen pada Kanker Prostat. *Current Biochemistry* Volume 1 (1): 11-19.
- Baidya, N., Khan, A. A., Ghosh, N. N., Dutta, T., & Chattopadhyay, A. P. 2021. Screening of potential drug from *Azadirachta indica* (Neem) extracts for SARS-CoV-2: An insight from *molecular docking* and MD-simulation studies. *Journal of molecular structure*, 1227, 129390.
- Basuki, S. A., & Melinda, N. 2017. Prediksi Mekanisme Kerja Obat Terhadap Reseptornya Secara in Silico (Studi pada Antibiotika Sefotaksim). *Research Report*.
- Berman, H. M., Westbrook, J., Feng, Z., Gilliland, G., Bhat, T. N., Weissig, H., Shindyalov, I. N., & Bourne, P. E. 2000. The Protein Data Bank. *Nucleic acids research*, 28(1), 235–242.
- Bimonte, Sabrina, Anna Crispo, Alfonso Amore, Egidio Celentano. Arturo Cuomo and Marco Cascella. 2020. Potential Antiviral Drugs for SARS-Cov-2 Treatment: Preclinical Findings and Ongoing Clinical Research. *In Vivo*. 34:1597-1602.
- Bogoch, Isaac I, Alexander Watts, Andrea Thomas-Bachli, Carmen Huber, Moritz U.G. Kraemer & Kamran Khan. 2020. Pneumonia of unknown aetiology in Wuhan, China: potential for international spread via commercial air travel. *Journal of Travel Medicine*. Vol. 00, 00.
- Borkotoky, Subhomoi and Manidipa Banerjee. 2020. A computational prediction of SARS-CoV-2 structural protein inhibitors from *Azadirachta indica* (Neem). *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. ISSN: 0739-1102.
- BPOM RI. 2014. *Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik Secara In Vivo*. Jakarta: BPOM RI.
- Braga, T. M., Rocha, L., Chung, T. Y., Oliveira, R. F., Pinho, C., Oliveira, A. I., Morgado, J., & Cruz, A. 2020. Biological Activities of Gedunin-A Limonoid from the Meliaceae Family. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25(3), 493.
- Brushett, Donald. 2018. *An investigation into the effects of adjuvants on the ovicidal activity of neem triterpenes*. Lismore : Southern Cross University.

- Calderon, Oscar Herrera, Kainat Ejaz, Mahnoor Wajid, Muzzamil Shehzad, Johnny Aldo Tinco-Jayo, Edwin Enciso-Roca, Cesar Franco-Quino, Ricardo Ángel Yuli-Posadas & Victor Chumpitaz-Cerrate. 2019. Review Article *Azadirachta indica* : Antibacterial Activity of Neem Against Different Strains of Bacteria and their Active Constituents as Preventive in Various Diseases. *Pharmacognosy Journal*. Vol 11, Issue 6.
- Campbell, N. A. & J. B. Reece. 2008. *Biologi*, Edisi Kedelapan Jilid 1. Terjemahan: Damaring Tyas Wulandari. Jakarta: Erlangga.
- Cao, Y. C., Deng, Q. X., Dai, S. X. 2020. Remdesivir for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 causing COVID-19: An evaluation of the evidence. *Travel Medicine and Infectious Disease*, 35.
- Chagas, C. M., Moss, S., & Alisaraie, L. 2018. Drug metabolites and their effects on the development of adverse reactions: Revisiting Lipinski's Rule of Five. *International journal of pharmaceutics*, 549(1-2), 133–149.
- Chander, S., Tang, C. R., Al-Maqtari, H. M., Jamalis, J., Penta, A., Hadda, T. B., Sirat, H. M., Zheng, Y. T., & Sankaranarayanan, M. 2017. Synthesis and study of anti-HIV-1 RT activity of 5-benzoyl-4-methyl-1,3,4,5-tetrahydro-2H-1,5-benzodiazepin-2-one derivatives. *Bioorganic chemistry*, 72, 74–79.
- Chawla, R., Arora, R., Marwah, R., Arora, P., Sharma, R. K., Kaushik, V., Goel, R., Kaur, A., Silambarasan, M., Tripathi, R. P., & Bhardwaj, J. R. 2011. Potential of Complementary and Alternative Medicine in Preventive Management of Novel H1N1 Flu (Swine Flu) Pandemic: Thwarting Potential Disasters in the Bud. *Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM*, 2011, 586506.
- Chundran, K., Ike R. H., Irra R. 2015. Effect of Neem Leaves Extract (*Azadirachta Indica*) on Wound Healing Naveen. *Althea Medical Journal* 2(2).
- Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses. 2020. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nature Microbiology* 5(4).
- Cosconati, S., Forli, S., Perryman, A. L., Harris, R., Goodsell, D. S., & Olson, A. J. 2010. Virtual Screening with AutoDock: Theory and Practice. *Expert opinion on drug discovery*, 5(6).
- Cui, J., Li, F., & Shi, Z. L. 2019. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nature reviews. Microbiology* 17(3).
- Dahab, M. A., Hegazy, M. M., & Abbass, H. S. 2020. Hordatines as a Potential Inhibitor of COVID-19 Main Protease and RNA Polymerase: An In-Silico Approach. *Natural products and bioprospecting*, 10(6), 453–462.

- Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. 2017. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific reports*, 7, 42717.
- de Abajo FJ, Rodríguez-Martín S, Lerma V, Mejía-Abril G, Aguilar M, García-Luque A, Laredo L, Laosa O, Centeno-Soto GA, Ángeles Gálvez M, Puerro M, González-Rojano E, Pedraza L, de Pablo I, Abad-Santos F, Rodríguez-Mañas L, Gil M, Tobías A. 2020. Use of renin-angiotensin-aldosterone system inhibitors and risk of COVID-19 requiring admission to hospital: a case-population study. *Lancet* 395(10238):1705-1714.
- Decaro, Nicola, Viviana Mari, Gabriella Elia, Diane D. Addie, Michele Camero, Maria Stella Lucente, Vito Martella & Canio Buonavoglia. 2010. Recombinant Canine Coronaviruses in Dogs, Europe. *Emerging Infectious Diseases*. Vol. 16, No. 1.
- Delano, W. L. And Bromberg. 2004. PyMOL User Guide. Diunduh 3 Januari, 2020, dari <http://pymol.sourceforge.net/newman/userman.pdf/>
- Djenontin, Tindo Sebastien, Valentin D. Wotto, Felicien Avlessia, Paul Lozano, Dominique K.C. Sohounhloue & Daniel Pioch. 2012. Composition of Azadirachta indica and Carapa procera (Meliaceae) seed oils and cakes obtained after oil extraction. *Industrial Crops and Products* 38.
- Donatus, I.A. 2005. *Toksikologi Dasar, Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi*. Yogyakarta : Gadjah Mada University Press.
- Drwal, M. N., Banerjee, P., Dunkel, M., Wettig, M. R., & Preissner, R. 2014. ProTox: a web server for the in silico prediction of rodent oral toxicity. *Nucleic acids research*, 42(Web Server issue), W53–W58.
- Dwivedi, V. D., Tripathi, I. P., & Mishra, S. K. 2016. In silico evaluation of inhibitory potential of triterpenoids from Azadirachta indica against therapeutic target of dengue virus, NS2B-NS3 protease. *Journal of vector borne diseases*, 53(2), 156–161.
- Eastman, R. T., Roth, J. S., Brimacombe, K. R., Simeonov, A., Shen, M., Patnaik, S., & Hall, M. D. 2020. Remdesivir: A Review of Its Discovery and Development Leading to Emergency Use Authorization for Treatment of COVID-19. *ACS central science*, 6(5), 672–683.
- El Din, H., Loutfy, S., Fathy, N., Elberry, MAyla, A.M., Kassem S., and Naqvi A. 2016. Molecular Docking based Screening of Compounds Against VP40 from Ebola Virus. *Bioinformation*. 12(3).
- Fattah, A. B. A. B. A. 2010. *Shahih Thibbun Nabawi Panduan dan Metode Pengobatan Nabi SAW*. Buku. Jakarta: Pustaka Imam Ahmad.
- Finkel, Yaraa. 2020. «كوف-سارس-2» لفيروس التشفيرية القدرة. *Nature Research Journal Arabic Edition*.

- Fajri, L. 2017. Analisis Kemampuan Memori Mahasiswa Prodi Pendidikan Sains Pada Materi Tata Nama Senyawa Kompleks. *Jurnal Edukasi Matematika dan Sains*, 5(1), 18-24.
- Ghozali, Imam. 2011. *Aplikasi Analisis Multivariate Dengan Program SPSS*. Semarang: Badan Penerbit Universitas Diponegoro.
- Girish, K and Shankara Bhat S. 2008. Neem – A Green Treasure. *Electronic Journal of Biology*. Vol. 4(3):102-111.
- Głowacki, E. D., , Irimia-Vladu, M., , Bauer, S., , & Sariciftci, N. S., 2013. Hydrogen-bonds in molecular solids - from biological systems to organic electronics. *Journal of materials chemistry. B*, 1(31), 3742–3753.
- Guariento, S., Tonelli, M., Espinoza, S., Gerasimov, A. S., Gainetdinov, R. R., & Cichero, E. 2018. Rational design, chemical synthesis and biological evaluation of novel biguanides exploring species-specificity responsiveness of TAAR1 agonists. *European journal of medicinal chemistry*, 146, 171–184.
- Han, Yu and Hailan Yang. 2020. The transmission and diagnosis of 2019 novel coronavirus infection disease (COVID-19): A Chinese perspective. *Journal Medical Virology*. 92:639-644.
- Hanif, A. U., Lukis, P. A., & Fadlan, A. 2020. Pengaruh Minimisasi Energi MMFF94 dengan MarvinSketch dan Open Babel PyRx pada Penambatan Molekular Turunan Oksindola Tersubstitusi. *ALCHEMY*, 8(2), 33-40.
- Hardjono, S., 2013. Sintesis dan Uji Aktivitas Antikanker Senyawa 1-(2-Klorobenzoiloksi) Urea Dan 1-(4-Klorobenzoiloksi) Urea. *Berkala Ilmiah Kimia Farmasi* 2(1).
- Hashmat, Imam, Hussain Azad and Ajj Ahmed. 2012. Neem (*Azadirachta indica* A. Juss) - A Nature's Drugstore: An overview. *International Research Journal of Biological Sciences*. Vol. 1(6).
- Heliawati, Leny. 2018. *Kandungan Kimia dan Bioaktivitas Tanaman Kecapi*. Bogor : Universitas Pakuan Bogor.
- Helmy, Yosra A, Mohamed Fawzy, Ahmed Elawad, Ahmed Sobieh, Scott P. Kenney & Awad A. Shehata. 2020. Review : The COVID-19 Pandemic: A Comprehensive Review of Taxonomy, Genetics, Epidemiology, Diagnosis, Treatment, and Control. *Journal of Clinical Medicine*.
- Hidayat, R. N., Sabri, L. M., & Awaluddin, M. 2019. Analisis Desain Jaring GNSS Berdasarkan Fungsi Presisi (Studi Kasus: Titik Geoid Geometri Kota Semarang). *Jurnal Geodesi Undip*, 8(1), 48-55.
- Hodgson, E. 2010. *A textbook of modern toxicology*. 4th ed. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.

- Hodgson, H., De La Peña, R., Stephenson, M. J., Thimmappa, R., Vincent, J. L., Sattely, E. S., & Osbourn, A. 2019. Identification of key enzymes responsible for protolimonoid biosynthesis in plants: Opening the door to azadirachtin production. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116(34), 17096–17104.
- Hoffman, Markus, Hannah Kleine-Weber, Simon Schroeder & Nadine Krüger. 2020. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell* Vol.181,271–280.
- Hossain, Mohammad A, Wafa A.S. Al-Toubi, Afaf M. Weli, Qasim A. Al-Riyami & Jamal N. Al-Sabahi. 2013. Identification And Characterization Of Chemical Compounds In Different Crude Extracts From Leaves Of Omani Neem. *Journal Of Taibah University For Science* Vol.7,181–188.
- Huang, S. Y., & Zou, X. 2007. Efficient *molecular docking* of NMR structures: application to HIV-1 protease. *Protein science : a publication of the Protein Society*, 16(1), 43–51.
- Huey, M.E., Forli, S., R., Pique, M. Sanner, D.S. Goodsell and A.J. Olson. 2016. Computational protein-ligand docking and virtual drug screening with the AutoDock suite. *Nature Protocols*. 11(5): 905– 919.
- Irwin, J. J., Shoichet, B. K., Mysinger, M. M., Huang, N., Colizzi, F., Wassam, P., & Cao, Y. 2009. Automated docking screens: a feasibility study. *Journal of medicinal chemistry*, 52(18), 5712–5720.
- Juliarta, I. G., Ni Kadek M., I Wayan P. S. Y. 2018. Gambaran Hepatotoksisitas (Alt/Ast) Penggunaan Obat Anti Tuberkulosis Lini Pertama Dalam Pengobatan Pasien Tuberkulosis Paru Rawat Inap Di RSUP Sanglah Denpasar Tahun 2014. *E-Jurnal Medika* Vol. 7 No.10.
- Jumain, Syahrani, Farid F.T. 2018. Uji Toksisitas Akut Dan Ld50 Ekstrak Etanol Daun Kirinyuh (*Eupatorium odoratum* Linn) Pada Mencit (*Mus musculus*). *Media Farmasi* Vol. XIV No. 1.
- Kardinan, A. 2000. Pestisida Nabati, Ramuan dan Aplikasi. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Kesuma, D., Siswandono, Bambang T.P., dan Suko H. 2018. Uji *in silico* Aktivitas Sitotoksik dan Toksisitas Senyawa Turunan *N*-(Benzoil)-*N'*- feniltiourea Sebagai Calon Obat Antikanker. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 01, 01-11
- Kim, S., Thiessen, P. A., Bolton, E. E., Chen, J., Fu, G., Gindulyte, A., Han, L., He, J., He, S., Shoemaker, B. A., Wang, J., Yu, B., Zhang, J., & Bryant, S. H. 2016. PubChem Substance and Compound databases. *Nucleic acids research*, 44(D1), D1202–D1213.

- Kolina, J., Sumiwi, S. A., & Levita, J. 2018. Mode Ikatan Metabolit Sekunder di Tanaman Akar Kuning (*Arcangelisia flava* L.) dengan Nitrat Oksida Sintase. *Fitofarmaka: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 8(1), 45-52.
- Koulgi, S., Vinod J., Mallikarjunachari V. N., Uppuladinne, Uddhaves S., & Rajendra J. 2020. Remdesivir-bound and ligand-free simulations reveal the probable mechanism of inhibiting the RNA dependent RNA polymerase of severe acute respiratory syndrome coronavirus. *RSC Advances* 10, 26792–26803.
- Kumar, R., Simpji M., and Seema R. P. 2018. *Bioactive constituents of neem*. Haryana : Amity University.
- Lai, Chih-Cheng, Tzu-Ping Shih, Wen-Chien Ko , Hung-Jen Tang & Po-Ren Hsueh. 2020. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): The epidemic and the challenges. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 105924.
- Leach, A. R., Shoichet, B. K., & Peishoff, C. E. 2006. Prediction of protein-ligand interactions. Docking and scoring: successes and gaps. *Journal of medicinal chemistry*, 49(20), 5851–5855.
- Lemmon, G., & Meiler, J. 2013. Towards ligand docking including explicit interface water molecules. *PLoS one*, 8(6), e67536.
- Leo A., Hansch C., & Elkins D. 1971. Partition coefficients and their uses. *Chem Rev*. 71(6): 525-616.
- Lestari, Tresna. 2015. Studi Interaksi Senyawa Turunan 1,3-Dibenzoilthiourea sebagai *Ribonukleotida Reduktase Inhibitor*. *Jurnal Farmasi Indonesia* Vol. 7 No. 3.
- Li, S., Li, S., Disoma, C., Zheng, R., Zhou, M., Razzaq, A., Liu, P., Zhou, Y., Dong, Z., Du, A., Peng, J., Hu, L., Huang, J., Feng, P., Jiang, T. and Xia, Z. 2020. SARS-CoV-2: Mechanism of infection and emerging technologies for future prospects. *Rev Med Virol* e2168.
- Lins L and Brasseur R. 1995. The Hydrophobic Effect in Protein Folding. *Faseb J*. 9: 535-540.
- Lionta, E., Spyrou, G., Vassilatis, D. K., & Cournia, Z. 2014. Structure-based virtual screening for drug discovery: principles, applications and recent advances. *Current topics in medicinal chemistry*, 14(16), 1923–1938.
- Lipinski C. A. 2004. Lead- and drug-like compounds: the rule-of-five revolution. *Drug discovery today. Technologies*, 1(4), 337–341.

- Liu, J., Sun, Y., Qi, J., Chu, F., Wu, H., Gao, F., Li, T., Yan, J., & Gao, G. F. 2010. The membrane protein of severe acute respiratory syndrome coronavirus acts as a dominant immunogen revealed by a clustering region of novel functionally and structurally defined cytotoxic T-lymphocyte epitopes. *The Journal of infectious diseases*, 202(8).
- Lodish H, Berk A, Zipursky SL, *et al.* 2000. *Molecular Cell Biology* 4<sup>th</sup> edition. New York: W. H. Freeman.
- Lu, F.C. 1991. *Toksikologi dasar asas, organ, sasaran dan penilaian risiko*, Edisi kedua. Jakarta : UI Press.
- Mittal, Anshumali, Kavyashree Manjunath, Rajesh Kumar Ranjan & Sandeep Kaushiki. .2020. Covid-19 Pandemic: Insights Into Structure, Function, and hACE2 Receptor Recognition By SARS-CoV-2. *Plos Pathogens*.
- Mayanti, Tri. 2009. *Kandungan Kimia dan Bioaktivitas Tanaman Duku*. Bandung: UNPAD Press.
- Mulatsari, E., Martati, T., Mumpuni, E., dan Dewi, N. L. 2020. In Silico Analysis of Antiviral Activity of Analog Curcumin Compounds. *Jurnal Jamu Indonesia*, 5(3), 114-121.
- Murray, R. K., Granner, D. K., & Rodwell, V. W. 2000. *Harper's Biochemistry* 25<sup>th</sup> ed. USA : Appleton & Lange.
- Muttaqin, F. Z, Halim, I., dan Hubbi N. M. 2019. Studi Molecular Docking, Molecular Dynamic, Dan Prediksi Toksisitas Senyawa Turunan Alkaloid Naftiridin Sebagai Inhibitor Protein Kasein Kinase 2-A Pada Kanker Leukemia. *Pharmacoscript*, 2(2), 131-151.
- Neldi, Vina dan Suharjono. 2020. Remdesivir: Mechanism and Effectiveness for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *Pharmaceutical Sciences and Research (PSR)* Vol. 7 (Special Issue on COVID-19).
- Ngatidjan. 2006. Metode Laboratorium dalam Toksikologi. *Metode Uji Toksisitas*, 86-135.
- Palupi.D, Kusdiyantini.E, Rahadian.E, & Prianto.A.H. 2016. Identifikasi Kandungan Senyawa Fitokimi Minyak Biji Mimba (*Azadirachta Indica* A.Juss). *Jurnal Biologi* Vol 5 No 3, 23-28.
- Pankaj, Sharma, Tomar Lokeshwar, Bachwani Mukesh & Bansal Vishnu. 2011. Review On Neem (*Azadirachta Indica*) : Thousand Problems One Solution. *International Research Journal Of Pharmacy*. 2(12), Hal 97-102.
- Parida, M.M., C. Uphadhyay., G. Pandya., & A.M. Jana. 2002. Inhibitory Potential Of Neem (*Azadirachta Indica* Juss) Leaves On Dengue Virus Type-2 Replication. *Journal Of Ethnopharmacology*, 273–278.

- Patrick, G. 2001. *Instant Notes in Medicinal Chemistry*. Oxford: BIOS Scientific Publisher.
- Pires, Douglas E. V., Tom L. Blundell and David B. Ascher. 2015. pkCSM: Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity Properties Using Graph-Based Signatures. *Journal of Medicinal Chemistry*. 58(9): 4066-4072.
- pkCSM Online Tool. 2021. pkCSM Online Tool. Diakses pada 20 Maret 2021, dari <http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsm/prediction>
- Ponnusamy, S., Haldar, S., Mulani, F., Zinjarde, S., Thulasiram, H., & RaviKumar, A. 2015. Gedunin and Azadiradione: Human Pancreatic Alpha-Amylase Inhibiting Limonoids from Neem (*Azadirachta indica*) as Anti-Diabetic Agents. *PloS one*, 10(10).
- Prabowo, S. A. A. E. 2018. Profil in silico Interaksi Senyawa Alam ketumbar dan Adas Bintang sebagai Inhibitor Peptida Deformilase Mycobacterium tuberculosis (3SVJ dan 1WS1) menggunakan Bantuan PyRx-Vina. *Proceeding of The URECOL*, 402-408.
- Prasetiawati, R. Suherman, M., Permana, B., & Rahmawati, R. 2021. Molecular Docking Study of Anthocyanidin Compounds Against Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) as Anti-Lung Cancer. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 8(1), 8-20.
- Priyanto.2010.Toksikologi Ed:2. Depok: Leskonfi Lembaga Studi dan Konsultasi Farmakologi.
- Protox Online Tool. 2021. ProTox-II - Prediction Of Toxicity Of Chemicals. . Diakses pada 20 Maret 2021, dari [https://tox-new.charite.de/protox\\_II/](https://tox-new.charite.de/protox_II/)
- PubChem Web site. 2020. National Libray of Medicine. Diakses pada 5 Desember 2020, pada <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
- Puspaningtyas, A. R. 2012. Molekular Docking dengan Metode Molegro Virtual Docker Turunan Kalkon sebagai Antimikroba. *STOMATOGNATIC-Jurnal Kedokteran Gigi*, 9(1), 39-47.
- RCSB Protein Data Bank (RCSB PDB) Web site. 2020. PDB Current Holdings Breakdown. Diakses pada 20 November 2020, dari <https://www.rcsb.org/>
- Ren, Li-Li, Ye-Ming Wang, Zhi-Qiang Wu & Zi-Chun Xiang. 2020. Identification Of A Novel Coronavirus Causing Severe Pneumonia In Human: A Descriptive Study. *Chinese Medical Journal*. 133(9).
- Rothan, H.A, Siddappa N. Byrareddy. 2020. Review Article :The Epidemiology And Pathogenesis Of Coronavirus Disease (Covid-19) Outbreak. *Journal Of Autoimmunity*.

- Roy, A., and Shailendra, S. 2006. Limonoids: overview of significant bioactive triterpenes distributed in plants kingdom. *Biological & pharmaceutical bulletin*, 29(2), 191–201.
- Roychoudhury, Rashmi .2016. Ecofriendly Pest Management for Food Security. San Diego : Elsevier.
- Rukmana.2002. *Mimba Tanaman Penghasil Pestisida Alami*. Yogyakarta: Kanisius
- Ruswanto, R. 2015. Molecular Docking Empat Turunan Isonicotinohydrazide Pada Mycobacterium Tuberculosis Enoyl-Acyl Carrier Protein Reductase (InhA). *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-ilmu Keperawatan, Analisis Kesehatan dan Farmasi*, 13(1).
- Rye, C., Robert W., Vladimir J., Jean D., Jung C., & Yael A.,. 2017. Biology. Texas: OpenStax.
- Sadeghian, Mohammed M. and Forough M. 2007. Investigation of Compounds from *Azadirachta indica* (Neem). *Asian Journal of Plant Sciences* 6(2), 444-445.
- SaiRam, M., Ilavazhagan, G., Sharma, S. K., Dhanraj, S. A., Suresh, B., Parida, M. M., Jana, A. M., Devendra, K., & Selvamurthy, W. 2000. Anti-microbial activity of a new vaginal contraceptive NIM-76 from neem oil (*Azadirachta indica*). *Journal of ethnopharmacology*, 71(3), 377–382.
- Santoyo A.H, Aldo Y. T. B., Victor A.,Héctor V. C., & Claudia M. B.2013. *Protein-Protein and Protein-Ligand Docking*. Mexico : InTech .
- Sari, I. W., Junaidin, J., & Pratiwi, D. 2020. Studi Molecular Docking Senyawa Flavonoid Herba Kumis Kucing (*Orthosiphon stamineus* B.) Pada Reseptor A-Glukosidase Sebagai Antidiabetes Tipe 2. *Jurnal Farmagazine*, 7(2), 54-60.
- Sarkar, Lucky, Ravi Kiran Putchala, Abass Alao Safiriyu & Jayasari Das Sarma. 2020. *Azadirachta Indica* A. Juss Ameliorates Mouse Hepatitis Virus-Induced Neuroinflammatory Demyelination By Modulating Cell-To-Cell Fusion In An Experimental Animal Model Of Multiple Sclerosis. *Original Research*. Vol 14.
- SATGAS COVID-19.2020. Diakses 01 Januari 2021 dari Beranda SATGAS Penanganan COVID-19. <https://covid19.go.id/peta-sebaran-covid19>
- Savitri, E.S. 2008. *Rahasia Tumbuhan Berhasiat Obat Perspektif Al-Qur'an*. Malang: UIN-Press.
- Seeliger, D., and de Groot, B. L. 2010. Ligand docking and binding site analysis with PyMOL and Autodock/Vina. *Journal of computer-aided molecular design*, 24(5), 417–422.

- Setiadi, A. P., Yosi I. Wibowo, Steven V. Halim, Cecilia Brata, Bobby Presley, Eko Setiawan. 2020. Tata Laksana Terapi Pasien dengan COVID-19: Sebuah Kajian Naratif. *Jurnal Farmasi Klinik Indonesia*. Vol. 9 No. 1.
- Setiawan, H., dan Irawan, M. I. 2017. Kajian Pendekatan Penempatan Ligan Pada Protein Menggunakan Algoritma Genetika. *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 6(2), A68-A72.
- Shah, K., Mujwar, S., Gupta, J. K., Shrivastava, S. K., & Mishra, P. 2019. Molecular Docking and *In Silico* Cogitation Validate Mefenamic Acid Prodrugs as Human Cyclooxygenase-2 Inhibitor. *Assay and drug development technologies*, 17(6), 285–291.
- Sharon, S. Febina Bernice. 2020. *Molecular docking* Of Selected Bioactive Compounds From *Azadirachta Indica* For The Inhibition Of Covid19 Protease. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* Vol. 12 Issue 9, 71-77.
- Sharp, K. A. and Honig B. 1990. Electrostatic Interactions in Macromolecules: Theory and Applications. *Annu Rev Biophys Chem*. 19: 301-322.
- Shereen, M.A., Suliman, K., Abeer, K., Nadia, B., & Rabeea, S, 2020. Covid-19 Infection : Origin, Transmission, And Characteristics Of Human Coronaviruses. *Journal Of Advanced Research*. Vol 24, 91-98.
- Siddiqui, B.S, Farhana Afshan, Tahsin Gulzar & Muddasar Hanif. 2004. Tetracyclic Triterpenoids From The Leaves Of *Azadirachta Indica*. *Phytochemistry* 65, 2363–2367.
- Singh, J., Malik, D., & Raina, A. 2020. Computational investigation for identification of potential phytochemicals and antiviral drugs as potential inhibitors for RNA-dependent RNA polymerase of COVID-19. *Journal of biomolecular structure & dynamics*, 1–16.
- Sliwoski, G., Kothiwale, S., Meiler, J., & Lowe, E. W., Jr (2013). Computational methods in drug discovery. *Pharmacological reviews*, 66(1), 334–395.
- Sousa, S. F., Fernandes, P. A., & Ramos, M. J. 2006. Protein–ligand docking: current status and future challenges. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 65(1), 15-26.
- Su, S., Wong, G., Shi, W., Liu, J., Lai, A., Zhou, J., Liu, W., Bi, Y., & Gao, G. F. 2016. Epidemiology, Genetic Recombination, and Pathogenesis of Coronaviruses. *Trends in microbiology* 24(6), 490–502.
- Suhadi, A., Rizarullah, R., & Feriyani, F. 2019. Simulasi Docking Senyawa Aktif Daun Binahong Sebagai Inhibitor Enzyme Aldose Reductase. *Sel Jurnal Penelitian Kesehatan*, 6(2), 55-65.

- Suharna. 2012. Studi *In Silico* Senyawa Turunan Flavonoid terhadap Penghambatan Enzim Tirosinase. *Skripsi*. Makassar : UIN Alauddin.
- Sukrasno. 2003. *Mimba Tanaman Obat Multifungsi*. Jakarta : Agromedia Pustaka.
- Sumardjo, Damin. 2009. *Pengantar Kimia Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran dan Program Strata 1 Fakultas Bioeksakta*. Jakarta: EGC
- SwissADME Web site. 2021. Swiss Institute of Bioinformatics. Diakses pada 17 Maret 2021, dari <http://www.swissadme.ch/index.php>
- Syahputra, G., Ambarsari, L., dan Sumaryada, T. 2014. Simulasi Docking Kurkumin Enol, Bisdemetoksikurkumin Dan Analognya Sebagai Inhibitor Enzim 12-Lipoksigenase. *Jurnal Biofisika*, 10(1), 55-67.
- Tambunan, U. S., & Alamudi, S. 2010. Designing Cyclic Peptide Inhibitor Of Dengue Virus NS3-NS2B Protease By Using Molecular Docking Approach. *Bioinformation*, 5(6), 250–254.
- Tiwari, V., Darmani, N. A., Yue, B. Y., & Shukla, D. (2010). In Vitro Antiviral Activity Of Neem (*Azadirachta Indica* L.) Bark Extract Against Herpes Simplex Virus Type-1 Infection. *Phytotherapy Research: Ptr.* 24(8), 1132–1140.
- Trivedi, Anchal, Naseem Fatima, Ishrat Husain & Aparna Misra. 2019. An Update On The Therapeutic Potential Of Neem And Its Active Constituents: A Panacea For All Diseases. *Era's Journal Of Medical Research* Vo.6 No.1
- Troott, O., and Olson, A. J. 2009. Software News and Update Autodock Vina: Improving the Speed and Accuracy of Docking with a New Scoring Function, Efficient Optimazation, and Multithreading. *Journal of Computational Chemistry*. 31(2).
- Trott, O., and Olson, A. J. 2010. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of computational chemistry*, 31(2), 455–461.
- Turista, Dora Dayu Rahma, Aesthetica Islamy, Viol Dhea Kharisma & Arif Nur Muhammad Ansori. 2020. Research Article : Distribution Of Covid-19 And Phylogenetic Tree Construction Of Sars-Cov-2 In Indonesia. *Journal Of Pure And Applied Microbiology*. Hal 1035-1042.
- Udeinya, I. J., Mbah, A. U., Chijioke, C. P., & Shu, E. N. 2004. An antimalarial extract from neem leaves is antiretroviral. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 98(7), 435–437.
- Voet, D. and Judith G.V. 2011. *Biochemistry* Fourth Edition. USA : John Wiley & Sons Inc.

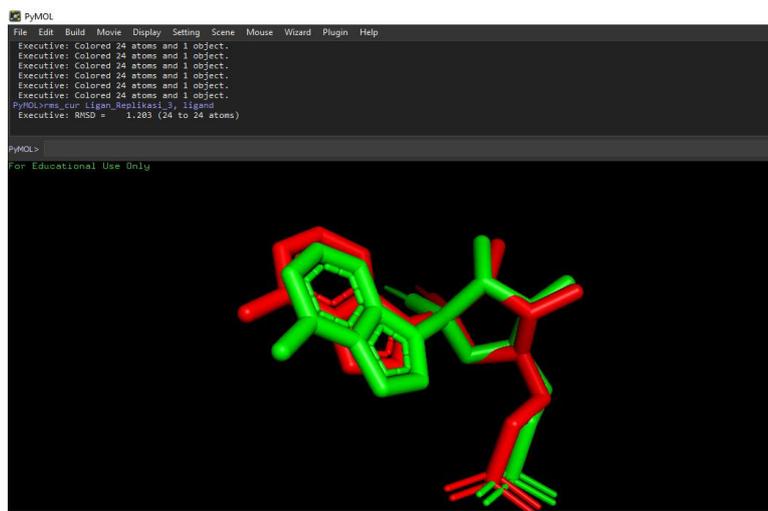
- Wan, Yushun, Jian Shang, Rachel Graham, Ralph S. Baric & Fang Li. 2020. Receptor Recognition By The Novel Coronavirus From Wuhan: An Analysis Based On Decade-Long Structural Studies Of Sars Coronavirus. *Journal Of Virology*. Vol. 94 No. 7.
- Wang, C. C., Lin, Y. C., Wang, S. S., Shih, C., Lin, Y. H., & Tung, C. W. 2017. SkinSensDB: a curated database for skin sensitization assays. *Journal of cheminformatics*, 9, 5.
- Widiandani, T., Hardjono, S., Sondakh, R., & Zahra, R. 2013. Docking dan modifikasi struktur senyawa baru turunan parasetamol. *Berkala Ilmiah Kimia Farmasi*, 2(1), 41-45.
- Widodo, Didik H. U., Anggia N. R., Alfiatur H., & Aida F. 2018. *Cara Mudah Melakukan Docking Dengan PyRx (Autodock Vina)*. Malang : Global Science.
- Wolf, L. K. 2009. New Software and Websites for the Chemical Enterprise. *Chemical and Engineering News Archives* , 48.
- World Health Organization (WHO). 2020. *Report Of The Who On Coronavirus Disease 2019 (Covid-19)*. Geneva: World Health Organization.
- Wrapp, Daniel, Nianshuang Wang, Kizzmekia S. Corbett<sup>2</sup>, Jory A. Goldsmith, Ching-Lin Hsieh, Olubukola Abiona, Barney S. Graham & Jason S. McLellan. 2020. Cryo-Em Structure Of The 2019-Ncov Spike In The Prefusion Conformation. *Science* Vol.367, Hal 1260–1263.
- Wu, Aiping, Yousong Peng & Baoying Huang. 2020. Genome Composition And Divergence Of The Novel Coronavirus (2019-Ncov) Originating In China. *Cell Host & Microbe* 27.
- Xiao, S., Tian, Z., Wang, Y., Si, L., Zhang, L., & Zhou, D. 2018. Recent progress in the antiviral activity and mechanism study of pentacyclic triterpenoids and their derivatives. *Medicinal research reviews*, 38(3), 951–976.
- Xu, J., Song, X., Yin, Z. Q., Cheng, A. C., Jia, R. Y., Deng, Y. X., Ye, K. C., Shi, C. F., Lv, C., & Zhang, W. 2012. Antiviral activity and mode of action of extracts from neem seed kernel against duck plague virus in vitro 1. *Poultry science*, 91(11), 2802–2807.
- Xu, X., Chen, P., Wang, J., Feng, J., Zhou, H., Li, X., Zhong, W., and Hao, P. 2020. Evolution of the novel coronavirus from the ongoing Wuhan outbreak and modeling of its spike protein for risk of human transmission. *Sci China Life Sci* 63, 457–460.
- Yang, Yang, Md Sahidul Islam, Jin Wang, Yuan Li & Xin Chen. 2020. Traditional Chinese Medicine In The Treatment Of Patients Infected With 2019-New Coronavirus (Sars-CoV-2): A Review And Perspective. *International Journal Of Biological Sciences*. Vol. 16(10).

- Yasotha P, Pachiyappan K.M, Aafrin Banu M.U., & Bhanindhraa B. Natural Antimicrobial Agents For Textile Materials. *World Journal Of Pharmaceutical Research*. Vol. 8 No. 8.
- Yavuz, S. S., Unal, S. 2020. Antiviral treatment of COVID-19. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 50.
- Yin, W., Mao, C., Luan, X., Shen, D. D., Shen, Q., Su, H., Wang, X., Zhou, F., Zhao, W., Gao, M., Chang, S., Xie, Y. C., Tian, G., Jiang, H. W., Tao, S. C., Shen, J., Jiang, Y., Jiang, H., Xu, Y., Zhang, S., Xu, H. E. 2020. Structural basis for inhibition of the RNA-dependent RNA polymerase from SARS-CoV-2 by remdesivir. *Science (New York, N.Y.)*, 368(6498), 1499–1504.
- Young D.C., Wiley J., & Sons. 2011. Computational drug design – A Guide for Computational and Medicinal Chemists; a book review. *J Pharm Pharmaceut Sci*, 14(2): 215-216.
- Yuanita, E., Sudirman, S., Ulfa, M., Dharmayani, N. K. T., Sumarlan, I., & Sudarma, I. M. 2018. Aplikasi Chemdraw Dan Avogadro Untuk Meningkatkan Pemahaman Dan Minat Dalam Bidang Kimia. *Jurnal Pendidikan dan Pengabdian Masyarakat*, 1(2).
- Zhang, G., Hu, C., Luo, L., Fang, F., Chen, Y., Li, J., Peng, Z., & Pan, H. 2020. Clinical features and short-term outcomes of 221 patients with COVID-19 in Wuhan, China. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*, 127.
- Zumla A, Chan JF, Azhar EI, Hui DS, Yuen KY. 2016. Coronaviruses - drug discovery and therapeutic options. *Nat Rev Drug Discov* 15(5):327-4.





## C). Replikasi 3



## Lampiran 3. Hasil Penambatan Ligand - Reseptor

## A). Azadirachtin

```
#####
# If you used AutoDock Vina in your work, please cite:      #
#                                                           #
# O. Trott, A. J. Olson,                                     #
# AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking #
# with a new scoring function, efficient optimization and    #
# multithreading, Journal of Computational Chemistry 31 (2010) #
# 455-461                                                    #
# DOI 10.1002/jcc.21334                                     #
# Please see http://vina.scripps.edu for more information.  #
#####

Output will be Azadirachtin_out.pdbqt
Reading input ... done.
Setting up the scoring function ... done.
Analyzing the binding site ... done.
Using random seed: 984282968
Performing search ... done.
Refining results ... done.

mode | affinity | dist from best mode
      | (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----|-----|-----|-----
1     | -5.9      | 0.000     | 0.000
2     | -5.9      | 1.989     | 6.642
3     | -5.2      | 1.968     | 3.104
4     | -4.9      | 1.866     | 7.058
5     | -4.4      | 1.850     | 7.307
6     | -4.3      | 1.919     | 7.673
7     | -4.3      | 2.046     | 7.618
8     | -4.1      | 1.965     | 7.317
9     | -3.8      | 2.301     | 6.187
10    | -3.5      | 1.581     | 2.297

Writing output ... done.
```

## B). Azadirone

```
#####
# O. Trott, A. J. Olson,                                     #
# AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking #
# with a new scoring function, efficient optimization and    #
# multithreading, Journal of Computational Chemistry 31 (2010) #
# 455-461                                                    #
# DOI 10.1002/jcc.21334                                     #
# Please see http://vina.scripps.edu for more information.  #
#####

Output will be Azadirone_out.pdbqt
Reading input ... done.
Setting up the scoring function ... done.
Analyzing the binding site ... done.
Using random seed: 259853248
Performing search ... done.
Refining results ... done.

mode | affinity | dist from best mode
      | (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----|-----|-----|-----
1     | -5.9      | 0.000     | 0.000
2     | -5.0      | 1.944     | 7.949
3     | -4.6      | 1.736     | 2.379
4     | -4.6      | 1.832     | 2.122
5     | -4.5      | 2.242     | 8.019
6     | -4.3      | 3.423     | 5.155
7     | -4.2      | 1.937     | 7.404
8     | -3.9      | 2.328     | 3.473
9     | -3.9      | 2.874     | 4.221
10    | -3.8      | 3.135     | 4.677

Writing output ... done.
```

## C). Azadiradione

```
#####
# If you used AutoDock Vina in your work, please cite: #
# #
# O. Trott, A. J. Olson, #
# AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking #
# with a new scoring function, efficient optimization and #
# multithreading, Journal of Computational Chemistry 31 (2010) #
# 455-461 #
# #
# DOI 10.1002/jcc.21334 #
# #
# Please see http://vina.scripps.edu for more information. #
#####

Output will be Azadiradione_out.pdbqt
Reading input ... done.
Setting up the scoring function ... done.
Analyzing the binding site ... done.
Using random seed: -64933308
Performing search ... done.
Refining results ... done.

mode | affinity | dist from best mode
| (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----|-----|-----|-----
1 | -5.5 | 0.000 | 0.000
2 | -5.1 | 2.109 | 7.890
3 | -5.0 | 1.440 | 1.624
4 | -4.9 | 2.166 | 4.100
5 | -4.6 | 2.018 | 7.889
6 | -4.6 | 2.370 | 3.489
7 | -3.9 | 2.114 | 3.451
8 | -3.8 | 2.807 | 7.738
9 | -3.1 | 3.255 | 4.631
10 | -2.9 | 3.460 | 4.618
Writing output ... done.
```

## D). Epoxyazadiradione

```
#####
# If you used AutoDock Vina in your work, please cite: #
# #
# O. Trott, A. J. Olson, #
# AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking #
# with a new scoring function, efficient optimization and #
# multithreading, Journal of Computational Chemistry 31 (2010) #
# 455-461 #
# #
# DOI 10.1002/jcc.21334 #
# #
# Please see http://vina.scripps.edu for more information. #
#####

Output will be Epoxyazadiradione_out.pdbqt
Reading input ... done.
Setting up the scoring function ... done.
Analyzing the binding site ... done.
Using random seed: -2115291572
Performing search ... done.
Refining results ... done.

mode | affinity | dist from best mode
| (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----|-----|-----|-----
1 | -5.8 | 0.000 | 0.000
2 | -5.5 | 2.859 | 6.886
3 | -5.2 | 1.895 | 2.513
4 | -4.8 | 2.724 | 7.009
5 | -4.7 | 3.014 | 7.373
6 | -4.6 | 2.519 | 4.209
7 | -4.6 | 2.189 | 7.675
8 | -4.5 | 2.563 | 7.744
9 | -4.2 | 3.407 | 6.593
10 | -4.2 | 2.467 | 7.361
Writing output ... done.
```

## E). Gedunin

```
#####
# If you used AutoDock Vina in your work, please cite: #
# #
# O. Trott, A. J. Olson, #
# AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking #
# with a new scoring function, efficient optimization and #
# multithreading, Journal of Computational Chemistry 31 (2010) #
# 455-461 #
# #
# DOI 10.1002/jcc.21334 #
# #
# Please see http://vina.scripps.edu for more information. #
#####

Output will be Gedunin_out.pdbqt
Reading input ... done.
Setting up the scoring function ... done.
Analyzing the binding site ... done.
Using random seed: 775367316
Performing search ... done.
Refining results ... done.

mode | affinity | dist from best mode
| (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----|-----|-----|-----
1 | -5.9 | 0.000 | 0.000
2 | -5.7 | 2.473 | 7.379
3 | -5.4 | 3.161 | 7.393
4 | -5.4 | 2.444 | 4.002
5 | -5.1 | 2.672 | 7.492
6 | -5.1 | 2.478 | 4.114
7 | -5.0 | 1.818 | 2.441
8 | -4.9 | 2.805 | 4.279
9 | -4.8 | 2.449 | 7.890
10 | -4.8 | 2.858 | 4.147
Writing output ... done.
```

## F). Deacetylgedunin

```
#####
# If you used AutoDock Vina in your work, please cite: #
# #
# O. Trott, A. J. Olson, #
# AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking #
# with a new scoring function, efficient optimization and #
# multithreading, Journal of Computational Chemistry 31 (2010) #
# 455-461 #
# #
# DOI 10.1002/jcc.21334 #
# #
# Please see http://vina.scripps.edu for more information. #
#####

Output will be Deacetylgedunin_out.pdbqt
Reading input ... done.
Setting up the scoring function ... done.
Analyzing the binding site ... done.
Using random seed: 1690067696
Performing search ... done.
Refining results ... done.

mode | affinity | dist from best mode
| (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----|-----|-----|-----
1 | -6.4 | 0.000 | 0.000
2 | -5.5 | 3.010 | 4.923
3 | -5.4 | 2.262 | 2.942
4 | -5.1 | 3.459 | 5.752
5 | -4.8 | 2.404 | 7.913
6 | -4.8 | 3.431 | 4.648
7 | -4.7 | 1.985 | 2.749
8 | -4.6 | 2.668 | 4.302
9 | -4.1 | 2.633 | 8.095
10 | -4.1 | 2.670 | 7.737
Writing output ... done.
```

## G). Remdesivir

```
#####
# If you used AutoDock Vina in your work, please cite: #
# #
# O. Trott, A. J. Olson, #
# AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking #
# with a new scoring function, efficient optimization and #
# multithreading, Journal of Computational Chemistry 31 (2010) #
# 455-461 #
# #
# DOI 10.1002/jcc.21334 #
# #
# Please see http://vina.scripps.edu for more information. #
#####
```

```
Output will be Remdesivir_out.pdbqt
Reading input ... done.
Setting up the scoring function ... done.
Analyzing the binding site ... done.
Using random seed: -299055876
Performing search ... done.
Refining results ... done.
```

mode	affinity (kcal/mol)	dist from best mode rmsd l.b.   rmsd u.b.
1	-5.2	0.000   0.000
2	-5.1	3.141   7.265
3	-5.0	2.796   4.366
4	-4.8	3.021   8.412
5	-4.8	2.700   5.966
6	-4.6	3.085   7.360
7	-4.6	3.015   8.086
8	-4.5	1.919   3.036
9	-4.5	2.907   7.024
10	-4.4	3.009   6.913

```
Writing output ... done.
```

## H). Native Ligand

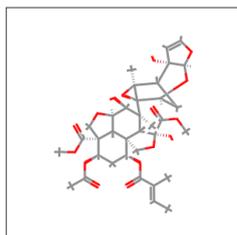
```
#####
# If you used AutoDock Vina in your work, please cite: #
# #
# O. Trott, A. J. Olson, #
# AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking #
# with a new scoring function, efficient optimization and #
# multithreading, Journal of Computational Chemistry 31 (2010) #
# 455-461 #
# #
# DOI 10.1002/jcc.21334 #
# #
# Please see http://vina.scripps.edu for more information. #
#####
```

```
Output will be ligand_out.pdbqt
Reading input ... done.
Setting up the scoring function ... done.
Analyzing the binding site ... done.
Using random seed: -1982262452
Performing search ... done.
Refining results ... done.
```

mode	affinity (kcal/mol)	dist from best mode rmsd l.b.   rmsd u.b.
1	-5.1	0.000   0.000
2	-5.1	4.106   5.831
3	-5.0	2.039   2.373
4	-4.8	3.422   5.242
5	-4.7	2.468   4.912
6	-4.6	2.738   3.712
7	-4.6	1.473   1.742
8	-4.5	3.544   5.260
9	-4.5	4.075   5.678
10	-4.4	4.025   6.025

## Lampiran 4. Hasil Prediski Toksisitas

## A). Azadirachtin

 Prottox Online Tool


Predicted LD50: 2000mg/kg

Predicted Toxicity Class: 4

1 2 3 4 5 6

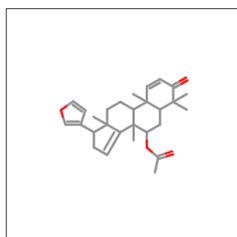
Average similarity: 65.62%

Prediction accuracy: 68.07%


 pkCSM Online Tool

Property	Model Name	Predicted Value	Unit
Toxicity	AMES toxicity	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	Max. tolerated dose (human)	-0.506	Numeric (log mg/kg/day)
Toxicity	hERG I inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	hERG II inhibitor	Yes	Categorical (Yes/No)
Toxicity	Oral Rat Acute Toxicity (LD50)	3.249	Numeric (mol/kg)
Toxicity	Oral Rat Chronic Toxicity (LOAEL)	3.259	Numeric (log mg/kg_bw/day)
Toxicity	Hepatotoxicity	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	Skin Sensitisation	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	<i>T.Pyriformis</i> toxicity	0.285	Numeric (log ug/L)
Toxicity	Minnow toxicity	11.861	Numeric (log mM)

## B). Azadirone

 Prottox Online Tool


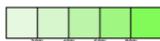
Predicted LD50: 555mg/kg

Predicted Toxicity Class: 4

1 2 3 4 5 6

Average similarity: 69.18%

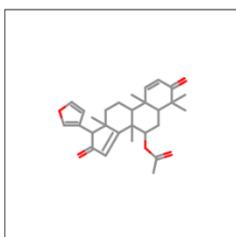
Prediction accuracy: 68.07%


 pkCSM Online Tool

Property	Model Name	Predicted Value	Unit
Toxicity	AMES toxicity	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	Max. tolerated dose (human)	-0.295	Numeric (log mg/kg/day)
Toxicity	hERG I inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	hERG II inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	Oral Rat Acute Toxicity (LD50)	2.472	Numeric (mol/kg)
Toxicity	Oral Rat Chronic Toxicity (LOAEL)	1.174	Numeric (log mg/kg_bw/day)
Toxicity	Hepatotoxicity	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	Skin Sensitisation	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	<i>T.Pyriformis</i> toxicity	0.444	Numeric (log ug/L)
Toxicity	Minnow toxicity	-0.658	Numeric (log mM)

Activate Windows

## C). Azadiradione

 Prottox Online Tool


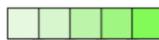
Predicted LD50: 555mg/kg

Predicted Toxicity Class: 4

1 2 3 4 5 6

Average similarity: 65.95%

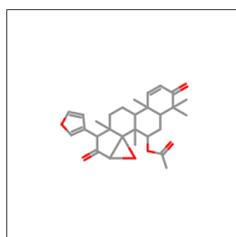
Prediction accuracy: 68.07%


 pkCSM Online Tool

Property	Model Name	Predicted Value	Unit
Toxicity	AMES toxicity	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	Max. tolerated dose (human)	-0.224	Numeric (log mg/kg/day)
Toxicity	hERG I inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	hERG II inhibitor	Yes	Categorical (Yes/No)
Toxicity	Oral Rat Acute Toxicity (LD50)	2.677	Numeric (mol/kg)
Toxicity	Oral Rat Chronic Toxicity (LOAEL)	0.391	Numeric (log mg/kg_bw/day)
Toxicity	Hepatotoxicity	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	Skin Sensitisation	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	<i>T.Pyriformis</i> toxicity	0.364	Numeric (log ug/L)
Toxicity	Minnow toxicity	-0.253	Numeric (log mM)

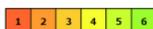
Activate Windows

## D). Epoxyazadiradione

 Prottox Online Tool


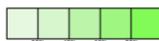
Predicted LD50: 555mg/kg

Predicted Toxicity Class: 4



Average similarity: 65.07%

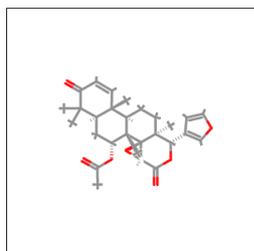
Prediction accuracy: 68.07%


 pkCSM Online Tool

Property	Model Name	Predicted Value	Unit
Toxicity	AMES toxicity	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	Max. tolerated dose (human)	-0.658	Numeric (log mg/kg/day)
Toxicity	hERG I inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	hERG II inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	Oral Rat Acute Toxicity (LD50)	2.694	Numeric (mol/kg)
Toxicity	Oral Rat Chronic Toxicity (LOAEL)	0.534	Numeric (log mg/kg_bw/day)
Toxicity	Hepatotoxicity	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	Skin Sensitisation	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	<i>T.Pyriformis</i> toxicity	0.306	Numeric (log ug/L)
Toxicity	Minnow toxicity	0.243	Numeric (log mM)

Activate Windows  
Go to Settings to activate Windows.

## E). Gedunin

 Prottox Online Tool


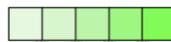
Predicted LD50: 274mg/kg

Predicted Toxicity Class: 3



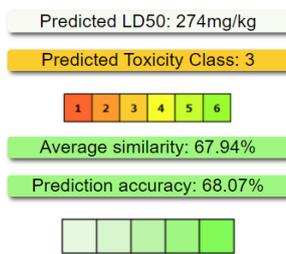
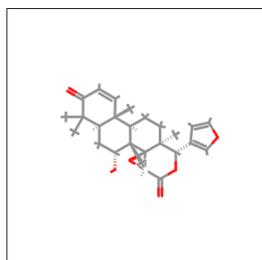
Average similarity: 67.94%

Prediction accuracy: 68.07%


 pkCSM Online Tool

Property	Model Name	Predicted Value	Unit
Toxicity	AMES toxicity	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	Max. tolerated dose (human)	-0.736	Numeric (log mg/kg/day)
Toxicity	hERG I inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	hERG II inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	Oral Rat Acute Toxicity (LD50)	2.998	Numeric (mol/kg)
Toxicity	Oral Rat Chronic Toxicity (LOAEL)	0.195	Numeric (log mg/kg_bw/day)
Toxicity	Hepatotoxicity	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	Skin Sensitisation	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	<i>T.Pyriformis</i> toxicity	0.291	Numeric (log ug/L)
Toxicity	Minnow toxicity	0.456	Numeric (log mM)

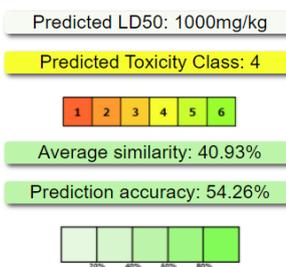
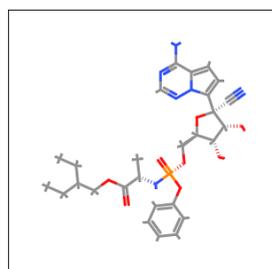
## F). Deacetylgedunin

 Prottox Online Tool

 pkCSM Online Tool

Property	Model Name	Predicted Value	Unit
Toxicity	AMES toxicity	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	Max. tolerated dose (human)	-0.671	Numeric (log mg/kg/day)
Toxicity	hERG I inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	hERG II inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	Oral Rat Acute Toxicity (LD50)	2.907	Numeric (mol/kg)
Toxicity	Oral Rat Chronic Toxicity (LOAEL)	1.448	Numeric (log mg/kg_bw/day)
Toxicity	Hepatotoxicity	Yes	Categorical (Yes/No)
Toxicity	Skin Sensitisation	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	<i>T.Pyriformis</i> toxicity	0.307	Numeric (log ug/L)
Toxicity	Minnow toxicity	Running	Numeric (log mM)

Activate Windows  
Go to Settings to activate Windows.

## G). Remdesivir

 Prottox Online Tool

 pkCSM Online Tool

Property	Model Name	Predicted Value	Unit
Toxicity	AMES toxicity	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	Max. tolerated dose (human)	0.15	Numeric (log mg/kg/day)
Toxicity	hERG I inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	hERG II inhibitor	Yes	Categorical (Yes/No)
Toxicity	Oral Rat Acute Toxicity (LD50)	2.043	Numeric (mol/kg)
Toxicity	Oral Rat Chronic Toxicity (LOAEL)	1.639	Numeric (log mg/kg_bw/day)
Toxicity	Hepatotoxicity	Yes	Categorical (Yes/No)
Toxicity	Skin Sensitisation	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	<i>T.Pyriformis</i> toxicity	0.285	Numeric (log ug/L)
Toxicity	Minnow toxicity	0.291	Numeric (log mM)