

**POTENSI ANTIVIRUS SENYAWA TERPENOID PADA TANAMAN MIMBA
(*Azadirachta indica* A. Juss) TERHADAP RESEPTOR RdRp SARS-COV-2
(7BV2) SECARA *IN SILICO***

SKRIPSI

Oleh :

FELIA KURNIASARI

NIM. 17930043



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

2021

**POTENSI ANTIVIRUS SENYAWA TERPENOID PADA TANAMAN MIMBA
(*Azadirachta indica* A. Juss) TERHADAP RESEPTOR RdRp SARS-COV-2
(7BV2) SECARA *IN SILICO***

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**

**POTENSI ANTIVIRUS SENYAWA TERPENOID PADA TANAMAN MIMBA
(*Azadirachta indica* A. Juss) TERHADAP RESEPTOR RdRp SARS-COV-2
(7BV2) SECARA *IN SILICO***

SKRIPSI

Oleh :

FELIA KURNIASARI

NIM. 17930043

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji :

Tanggal : 03 Juni 2021

Pembimbing I

Pembimbing II



apt. Yen Yen Ari Indrawijaya, M.Farm. Klin Prof. Dr. apt. Roihatul Muti'ah, M.Kes

NIP. 19930130 20180201 2 203



NIP. 19800203 200912 2 003

Mengetahui,

Ketua Program Studi Farmasi



apt. Abdul Hakimi, M.P.I., M.Farm

NIP. 19761214 200912 1 002

**POTENSI ANTIVIRUS SENYAWA TERPENOID PADA TANAMAN MIMBA
(*Azadirachta indica* A. Juss) TERHADAP RESEPTOR RdRp SARS-COV-2
(7BV2) SECARA *IN SILICO***

SKRIPSI

Oleh :

FELIA KURNIASARI

NIM. 17930043

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

Tanggal : 07 Juli 2021

Susunan Dewan Penguji

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

**Anggota Penguji : 1. apt. Yen Yen Ari I., M.Farm. Klin.
NIP. 19930130 20180201 2 203
2. Dr. Begum Fauziyah, S.Si., M.Farm.
NIP. 19830628 200912 2 004
3. apt. Hajar Sugihantoro, M.P.H.
NIP. 19851216 20160801 1 086**

Tanda Tangan


(.....)

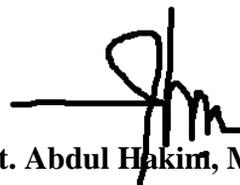

(.....)


(.....)


(.....)

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 : Felia Kurniasari

NIM : 17930043

Program Studi : Farmasi

Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

Judul Penelitian : Potensi Antivirus Senyawa Terpenoid pada Tanaman Mimba (*Azadirachta Indica* A. Juss) terhadap Reseptor RdRp SARS-CoV-2 (7BV2) Secara *In Silico*.

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, 2021

Yang membuat pernyataan,



Felia Kurniasari

NIM. 17930043

MOTTO

Semua impian dapat terwujud jika kita memiliki keberanian untuk mengejarnya.

“Kesuksesan bukan untuk ditunda namun diwujudkan melalui usaha dan kegigihan”

LEMBAR PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbil'aalamiin

Syukur terpanjatkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan segala nikmat, taufik, rahmat dan hidayah-Mu yang luar biasa sehingga hamba dapat menyelesaikan skripsi ini. Dengan rasa syukur yang mendalam, kupersembahkan tulisan karya sederhanaku ini kepada :

1. Kedua orang tuaku sebagai sosok luar biasa dalam hidupku, Bapak tercinta Abdul Azis dan Ibu Binti Masitoh yang selalu memberikan kepercayaannya, do'a, dukungan, kasih sayang yang tak pernah putus serta motivasi yang dapat membantu diri ini sehingga dapat menempuh sarjana dengan baik dan lancar. Tanpa ada keberadaan kalian, diri ini bukanlah seseorang yang hebat dan mampu melewati semuanya dengan baik.
2. Kakakku Firman Kurniawan S.Kep beserta istrinya Yeni Dwi Novitasari S.E dan keponakanku Amira Athallya Kurniawan yang selalu memberikan dukungan dan semangat sehingga diri ini dapat menyelesaikan program sarjana dengan baik dan lancar.
3. Diriku sendiri terimakasih sudah bertahan sampai sejauh ini dan jangan puas hanya sampai disini terus kejar mimpi-mimpi yang lain! Semangat!!
4. Terimakasih tak terhingga kepada I Wayan Mifta Ardiansyah yang selalu mendengarkan keluh kesahku, setia menemani dari awal hingga akhir, memberikan motivasi, perhatian dan dukungan dalam kelancaran skripsi ini.
5. Terimakasih kepada Ibu apt. Yen Yen Ari Indrawijaya., M.Farm. Klin. dan Ibu Prof. Dr. apt. Roihatul Muti'ah, M.Kes selaku dosen pembimbing yang sangat banyak memberikan pengarahan dan pengalaman yang berharga. Serta kepada Ibu Dr. Begum Fauziah, S.Si., M.Farm selaku penguji utama dan Bapak apt. Hajar Sugihantoro, M.P.H. selaku penguji agama.
6. Bapak Yuwono S.Sos selaku admin jurusan Farmasi dan para staf jurusan Farmasi yang banyak membantu dalam proses perkuliahan.
7. Terimakasih banyak kepada sahabatku Lilik Widya Ningrum yang telah menjadi sahabat yang selalu mendukung dan menemani hingga saat ini.
8. Terimakasih tak terhingga kepada Mahfirani Ayuningrum, Futna Naufa, Ami Fini Faqiha, Rosalina Yunindra, Yudintya Aisyah Ermandy yang telah memberi semangat dan arahan dalam penyelesaian skripsi ini serta

teman-teman FARMAKAN terutama Keluarga Samawa yang sangat memberikan dukungan selama menempuh perkuliahan.

9. Teman-teman tim *in silico* antivirus SARS-CoV-2 angkatan 2017 (SOBAT PERCOVIDAN), terimakasih untuk perjuangan serta motivasi semangat selama ini.
10. Kepada semua pihak yang telah membantu terselesainya skripsi ini yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Segala puji dan Syukur atas kehadiran Allah SWT yang telah memberikan Berkat dan Rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “POTENSI ANTIVIRUS SENYAWA TERPENOID PADA TANAMAN MIMBA (*Azadirachta indica* A. Juss) TERHADAP RESEPTOR RDRP SARS-COV-2 (7BV2) SECARA *IN SILICO*” dengan baik dan lancar. Sholawat serta salam tetap tercurahkan kepada baginda Nabi Muhammad SAW yang telah membawa ajaran agama islam dan menuntun cahaya ilmu. Penulisan skripsi ini sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S. Farm). Penulis menyadari bahwa pada saat penulisan skripsi ini tidak lepas dari dukungan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih 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. apt. Yen Yen Ari Indrawijaya., M.Farm. Klin. dan Prof. Dr. apt. Roihatul Muti'ah, M.Kes selaku dosen pembimbing skripsi yang sangat banyak membantu memberikan pengarahan dan pengalaman yang berharga.
5. Dhani Wijaya., M.Farm. Klin selaku dosen wali yang selalu memberikan semangat dan dukungan.
6. Segenap sivitas akademik Program Farmasi terutama seluruh dosen, terimakasih banyak atas segala ilmu dan bimbingannya.
7. Kepada orang tua tercinta yang selalu mendo'akan, mendukung, serta memotivasi yang luar biasa.

8. Kakak penulis yang selalu memberikan dukungan dalam menyelesaikan naskah skripsi ini.
9. Teman-teman penulis yang selalu memberikan support dan mendengarkan keluh kesahku dalam menyelesaikan naskah skripsi ini.
10. Seluruh pihak yang ikut membantu dalam penyelesaian naskah skripsi ini baik berupa moril ataupun material.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan dan penulisan naskah skripsi ini tidak luput dari kekurangan dan penulis berharap dapat memberikan manfaat bagi para pembaca dan penulis secara pribadi. Aamiin Ya Rabbal Alamin.

Wassalamualaikum Wr. Wb.

Malang, Juni 2021

Penulis

Felia Kurniasari

17930043

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	
HALAMAN PENGAJUAN	
HALAMAN PENGESAHAN	
HALAMAN PERNYATAAN	
MOTTO	
HALAMAN PERSEMBAHAN	
KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR SINGKATAN	ix
LAMPIRAN	x
ABSTRAK	xii
ABSTRACT	xiii
مستخلص البحث	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	9
1.3 Tujuan Penelitian.....	9
1.4 Manfaat Penelitian.....	9
1.5 Batasan Masalah.....	10
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	12
2.1 Tinjauan Tentang SARS-CoV-2	12
2.1.1 Virus	12

2.1.2 SARS-CoV-2	13
2.2 Tinjauan Tanaman <i>Azadirachta indica</i> A. Juss.....	16
2.2.1 Pemanfaatan Tanaman <i>Azadirachta indica</i> A. Juss dalam Perspektif Islam	16
2.2.2 Klasifikasi <i>Azadirachta indica</i> A. Juss.....	17
2.2.3 Deskripsi <i>Azadirachta indica</i> A. Juss.....	18
2.2.4 Kandungan <i>Azadirachta indica</i> A. Juss.....	18
2.2.5 Khasiat <i>Azadirachta indica</i> A. Juss	21
2.3 Tinjauan Reseptor SARS-CoV-2 RdRp (PDBid: 7BV2).....	22
2.4 Penambatan Molekuler.....	24
2.4.1 Penambatan Molekuler (<i>Molecular Docking</i>)	24
2.4.2 <i>Database</i> Reseptor dan Ligan.....	25
2.5 Aplikasi Penunjang	26
2.5.1 SwissADME	26
2.5.2 AutoDock Tools.....	26
2.5.3 AutoDock Vina.....	27
2.5.4 Discovery Studio Visualizer	27
2.5.5 PyMol	28
2.5.5 pkCSM Online Tool	29
2.5.6 ProTox Online Tools	29
2.6 Ikatan Reseptor – Ligan	30
2.6.1 Interaksi Elektrostatik.....	30
2.6.2 Ikatan Hidrogen	30
2.6.3 Ikatan Hidrofobik.....	31

2.7 Hukum Lima Lipinski	31
2.8 Toksisitas.....	32
2.9 Senyawa Pembanding (Remdesivir)	34
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS	37
3.1 Kerangka Konseptual	37
3.1.1 Bagian Kerangka Konseptual	37
3.1.2 Uraian Kerangka Konseptual.....	38
3.2 Hipotesis Penelitian.....	40
BAB IV METODE PENELITIAN	41
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	41
4.2 Waktu dan Tempat Penelitian	41
4.3 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	41
4.3.1 Variabel Penelitian.....	41
4.3.2 Definisi Operasional	42
4.4 Alat dan Bahan Penelitian	45
4.4.1 Alat	45
4.4.2 Bahan	45
4.5 Prosedur Penelitian.....	50
4.5.1 Skema Kerja Penelitian.....	50
4.5.2 Prosedur Kerja	51
4.6 Analisa Data	55
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....	57
5.1 Pengunduhan Target Protein (Reseptor)	58
5.2 Preparasi Reseptor dan Ligan.....	58

5.2.1 Preparasi Protein (Reseptor).....	58
5.2.2 Preparasi Ligan	62
5.3 Prediksi Sifat Fisikokimia	68
5.4 Penambatan Ligand – Reseptor.....	73
5.4.1 Validasi Metode Docking	74
5.4.2 Analisa Hasil Penambatan	76
5.4.3 Nilai Afinitas Energi (<i>Binding affinity</i>)	77
5.4.4. Interaksi Residu Asam Amino.....	79
5.5 Prediksi Toksisitas.....	86
5.6 Analisa Data	88
BAB VI PENUTUP	93
6.1 Kesimpulan.....	93
6.2 Saran	94
DAFTAR PUSTAKA	95
LAMPIRAN	105

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Senyawa aktif yang di isolasi dari tanaman Mimba	20
Tabel 2.2 Penggolongan Sediaan Uji pada Tikus	33
Tabel 4.1 Gambar Struktur Senyawa Golongan Terpenoid tanaman Mimba dan Senyawa Pembanding Remdesivir	46
Tabel 5.1 Struktur 7BV2 yang diunduh dari PDB	59
Tabel 5.2 Tabel Struktur Senyawa 2D dan 3D	62
Tabel 5.3 Hasil Penentuan Energi Minimal	65
Tabel 5.4 Kode SMILES Senyawa <i>6-deacetylnimbin, nimbin, nimbolide, nimbinene, nimbiol, dan nimbione</i> serta <i>remdesivir</i>	69
Tabel 5.5 Hasil Skrining Sifat Fisikokimia	71
Tabel 5.6 Hasil Validasi Reseptor	75
Tabel 5.7 Hasil Nilai Afinitas Energi dengan AutoDock Vina	77
Tabel 5.8 Interaksi Residu Asam Amino antara Ligan dan Reseptor	81
Tabel 5.9 Hasil Prediksi Toksisitas	87
Tabel 5.10 Hasil Data Deskriptif Nilai <i>Binding affinity</i>	89
Tabel 5.11 Hasil Data Deskriptif Interaksi Residu Asam Amino	90
Tabel 5.12 Hasil Data Deskriptif Sifat Fisikokimia dan Toksisitas	91

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur Virus	13
Gambar 2.2 Struktur Virus SARS-CoV-2	15
Gambar 2.3 <i>Azadirachta indica</i> A. Juss	17
Gambar 2.4 Struktur Senyawa Golongan Terpenoid tanaman Mimba	20
Gambar 2.5 Struktur The nsp12-nsp7-nsp8 complex bound to the template-primer RNA and triphosphate form of Remdesivir (RTP) (PDBid : 7BV2)	24
Gambar 2.6 AutoDock Tools	27
Gambar 3.1 Bagan Kerangka Konseptual	37
Gambar 4.1 Struktur <i>RNA-dependent RNA polymerase</i> (RdRp) (PDB ID: 7BV2)	49
Gambar 4.2 Bagan Skema Kerja Penelitian	50
Gambar 5.1 Hasil Preparasi Reseptor 7BV2	60
Gambar 5.2 Binding site dan Grid Box	61
Gambar 5.3 Optimasi Senyawa Nimbin dengan ChemDraw	66
Gambar 5.4 Proses Docking dengan program AutoDock Vina	74
Gambar 5.5 Visualisasi interaksi <i>native ligan, 6-deacetylnimbin, nimbin nimbolide, nimbinene, nimbidiol, nimbion dan remdesivir</i>	79

DAFTAR SINGKATAN

CoV	: <i>Coronavirus</i>
ORF	: <i>Open Reading Frame</i>
Covid-19	: <i>Coronavirus Disease-19</i>
WHO	: <i>World Health Organization</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>
mRNA	: <i>messenger RNA</i>
HSV-1	: <i>Herpes Simplex Virus tipe-1</i>
Mpro	: <i>Main Protease</i>
RdRp	: <i>RNA-dependent RNA polymerase</i>
PDB	: <i>Protein Data Bank</i>
RMSD	: <i>Root Mean Square Deviation</i>
HBD	: <i>Hydrogen Bond Donors</i>
HBA	: <i>Hydrogen Bond Acceptors</i>
LD ₅₀	: <i>Lethal Dose 50</i>
SWT	: <i>Subhanahu Wa Ta'ala</i>
IFN α	: <i>Interferon alfa</i>
LPV	: <i>Lopinavir</i>
RBV	: <i>Ribavirin</i>
CLQ	: <i>Kloroquin fosfat</i>
RS	: <i>Rerank Score</i>
HIV	: <i>Human Immunodeficiency Virus</i>
HBV	: <i>Hepadnaviridae</i>
EV71	: <i>Human enterovirus 71</i>
EBV	: <i>Epstein-Barr Virus</i>

HVS	: <i>Herpes Simplex Virus</i>
NSP	: Protein Non Struktural
Log P	: Logaritma Partisi
RSCB	: <i>Research Collaboratory for Structural Bioinformatics</i>
ADME	: <i>Absorption, Distribution, Metabolism and Excretion</i>
NTP	: Nukleosida Trifosfat
3D	: Tiga Dimensi
2D	: Dua Dimensi
SAW	: <i>Shallallahu Alayhi Wa Sallam</i>

LAMPIRAN

Lampiran 1 Hasil Prediksi Fisikokimia.....	105
Lampiran 2 Hasil Validasi Reseptor.....	106
Lampiran 3 Hasil Penambatan Ligand – Reseptor.....	108
Lampiran 4 Hasil Prediksi Toksisitas.....	110

ABSTRAK

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

Akhir Desember 2019 di Wuhan, ibu kota Provinsi Hubei di China Tengah telah muncul penyakit kasus baru yaitu virus COVID-19. WHO menyebutkan bahwa penyakit tersebut disebabkan oleh SARS-CoV-2 yang terdiri dari protein struktural dan non-struktural. Pada penelitian ini menggunakan protein non-struktural yaitu *RNA dependent RNA polymerase* (RdRp) yang memiliki peran untuk bereplikasi. Beberapa penelitian juga menggunakan tanaman herbal yang dianggap sebagai berbagai virus termasuk COVID-19, kandidat senyawa yang diprediksi dapat digunakan sebagai antivirus dalam terapi COVID-19 adalah senyawa golongan terpenoid tanaman mimba seperti *6-deacetylnimbin*, *Nimbin*, *Nimbolide*, *Nimbinene*, *Nimbidiol* dan *Nimbione* yang dapat mengganggu tahap awal siklus replikasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi senyawa golongan terpenoid pada tanaman mimba sebagai kandidat terapi penyakit COVID-19 dengan mekanisme menghambat reseptor RdRp (7BV2). Metode yang digunakan adalah prediksi sifat fisikokimia menggunakan *SwissADME* yang mengacu pada Hukum Lima Lipinski. Kemudian dilakukan docking molekuler dengan menggunakan aplikasi *AutoDock Vina* serta prediksi toksisitas dengan aplikasi online *pKCSM Online Tool* dan *Protox II Online Tool*. Hasil dari penelitian senyawa uji dapat direkomendasikan sebagai kandidat untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai terapi COVID-19.

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

ABSTRACT

Kurniasari, Felia. 2021. **Antiviral Potential of Terpenoid Compounds in Neem (*Azadirachta indica* A. Juss) against SARS-CoV-2 (7BV2) RdRp Receptor by *In Silico***. Thesis. Department of Pharmacy. Faculty of Medicine and Health Sciences. Maulana Malik Ibrahim State Islamic University Malang. Advisor (I): apt. Yen Yen Ari Indrawijaya, M.Farm. Klin. ; Advisor (II): Prof. Dr. apt. Roihatul Muti'ah, M. Kes.

At the end of December 2019 in Wuhan, the capital of Hubei Province in Central China, a new case of the disease has emerged, namely the COVID-19 virus. WHO states that the disease is caused by SARS-CoV-2 which consists of structural and non-structural proteins. In this study, using a non-structural protein, namely RNA-dependent RNA polymerase (RdRp), has a role to replicate. Several studies have also used herbal plants which are considered to be good sources of antiviral compounds against various viruses including COVID-19, candidate compounds that are predicted to be used as antiviral agents in COVID-19 therapy are neem plant terpenoids such as 6-deacetylnimbin, Nimbin, Nimbolide, Nimbinene, Nimbidiol, and Nimbione which can interfere with the early stages of the replication cycle. This study aims to determine the potential of terpenoid class compounds in neem plants as candidates for COVID-19 disease therapy by inhibiting the RdRp (7BV2) receptor. The method used is the prediction of physicochemical properties using SwissADME which refers to Lipinski's Rule of Five. Then proceed with molecular docking using the application AutoDock Vina and toxicity prediction with the online application pKCSM Online Tool and Protox II Online Tool. The results of the physicochemical prediction indicate that all the test compounds fulfill Lipinski's Rule of Five. The results of the research on the test compounds can be recommended as candidates for further development as a COVID-19 therapy.

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

مستخلص البحث

كورنيا ساري، فيليا. ٢٠٢١. دراسة في السيليكون عن إمكانية مضادة الفيروس من مركب تيربينويد في نبات نيم شائع (أزاديراشتا إنديكا أ جوس) على مستقبل بوليميراز الرنا المعتمدة على الرنا (ر د ر ف) لفيروس سارس-كوفيد-٢ (٧BV٢). البحث الجامعي. قسم الصيدلة. كلية الطب والعلوم الصحية بجامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرفة الأول: بين أري إندراويجايا، الماجستير. المشرفة الثاني: أ.د. رائحة المطيعة، الماجستير.

في نهاية ديسمبر ٢٠١٩ في ووهان، عاصمة مقاطعة هوبي في وسط الصين، ظهرت حالة جديدة من فيروس كوفيد-١٩. وذكرت منظمة الصحة العالمية ان سبب هذا المرض هو فيروس السارس-كوفيد-٢ الذي يتكون من بروتينات هيكلية وغير هيكلية. في هذا البحث، تستخدم الباحثة البروتينات غير الهيكلية، هي مستقبل بوليميراز الرنا المعتمدة على الرنا (ر د ر ف) التي لها دور في النسخ المتماثل. استخدم بعض البحوث أيضا النباتات العشبية التي تعتبر مصدرا جيدا لمركب مضادة الفيروسات المختلفة بما في ذلك كوفيد-١٩، المركبات المرشحة المتوقع استخدامها كمضادة الفيروس في علاج كوفيد-١٩ هي مركب مجموعة تيربينويد من نبات نيم شائع مثل ٦-ديسيتيل نيمبين و نيمبين و نيمبوليد و نيمبينيني و نيمبيديول و نيمبون التي يمكن أن تتداخل في المراحل المبكرة من دورة النسخ المتماثل. يهدف هذا البحث إلى تحديد إمكانات مركبة مجموعة تيربينويد في نبات نيم شائع كمرشح علاجي لمرض كوفيد-١٩ عن طريق تثبيط مستقبل بوليميراز الرنا المعتمدة على الرنا (٧BV٢). الطريقة المستخدمة هي التنبؤ بالخصائص الفيزيائية الكيميائية باستخدام تطبيق سويس ادم التي تعتمد على القوانين الخمسة ليينسكي. ثم أجري الربط الجزيئي باستخدام تطبيق أوتودوك فينا. وكذلك التنبؤ بالسمية مع أداة فك ج س م و فروتوك. يمكن التوصية بنتائج البحث على مركبات الاختبار كمرشحين لمزيد من التطوير كعلاج كوفيد-١٩.

الكلمات الرئيسية: تيربينويد، نيم شائع، بوليميراز الرنا المعتمدة على الرنا، مضادة فيروس السارس-كوفيد-٢، الالتحام الجزيئي.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Virus adalah agen infeksius terkecil yang memiliki ukuran antara 20-300 nm, memiliki komposisi kimia dan bentuk yang bervariasi dan hanya mengandung RNA atau DNA saja. Akhir-akhir ini terdapat virus baru yang menjadi permasalahan pada dunia, virus tersebut adalah virus corona atau biasa disebut COVID-19. *Coronavirus* diklasifikasikan sebagai virus RNA yang berukuran 120-220 nm (Wu *et al.*, 2020). *Coronavirus* memiliki protein struktural dan non struktural. Protein struktural terdiri atas spike, atau spicule (S), envelope (E), membran (M), nukleoprotein (N), dan protein aksesori. Empat protein muncul dalam urutan S – E – M– N di semua garis keturunan CoV yang diketahui (Wrapp *et al.*, 2020) sedangkan protein non struktural terdapat 16 protein non struktural yang dikode oleh ORF (Fitriani, 2020).

Akhir Desember 2019 di Wuhan, ibu kota Provinsi Hubei di China Tengah telah muncul kasus baru yaitu pneumonia yang penyebabnya tidak diketahui dengan pasti. Setelah beberapa minggu, pada Januari 2020 telah dilakukan analisis pada saluran pernapasan bagian bawah yang teridentifikasi virus baru yaitu sindrom pernapasan akut *coronavirus 2* (SARS-CoV-2) dan pada 11 Februari 2020 WHO telah menyebutkan bahwa penyakit sindrom pernapasan akut *coronavirus 2* (SARS-CoV-2) sebagai COVID-19. WHO juga menyebutkan bahwa COVID-19 dianggap menjadi pandemic global karena menyebabkan beberapa negara di seluruh dunia (WHO, 2020). Pandemi COVID-19 ini telah memberi dampak yang dapat mengubah berbagai aspek kehidupan

manusia (Herliandry *et al.*, 2020). COVID-19 pertama yang dilaporkan di Indonesia pada tanggal 2 Maret 2020 sejumlah 2 kasus. Data 30 Juni 2021 menunjukkan kasus yang terkonfirmasi berjumlah 2.178.272 kasus dan 58.491 kasus kematian.

SARS-CoV-2 memiliki setidaknya 70% kesamaan dalam urutan genetik dengan SARS-CoV. Beberapa virus corona khususnya SARS-CoV dan MERS-CoV merupakan virus zoonotik yang menyebabkan penyakit pernapasan pada manusia (Rahman and Tamanna, 2020). Kasus awal SARS-CoV-2 diduga terkait dengan penjualan hewan secara ilegal di pasar seafood basah di Huanan (Rahman and Tamanna, 2020). Penyakit *coronavirus 2019* (COVID-19) merupakan penyakit menular yang dapat menginfeksi saluran pernapasan. Penyebab dari COVID-19 karena adanya *coronavirus* baru yang muncul pertama kali di Wuhan. *Coronavirus* bisa jadi berasal dari hewan ke manusia dan penularan dari manusia ke manusia (Handayani *et al.*, 2020). Gejala paling umum adalah demam dan batuk sedangkan diare jarang terjadi (Guan *et al.*, 2020).

National Health Commission (NHC) China telah melakukan penelitian beberapa obat yang diharapkan dapat mengatasi COVID-19, antara lain interferon alfa (IFN α), lopinavir/ritonavir (LPV/r), ribavirin (RBV), klorokuin fosfat (CLQ/CQ), remdesivir dan umifenofir (arbidol) (Susilo *et al.*, 2020). Selain itu, akhir-akhir ini telah diproduksi vaksin. Sebanyak 10 juta dosis vaksin COVID-19 Sinovac dari China tiba di Indonesia, kedatangan vaksin tersebut melengkapi jumlah dosis vaksin COVID-19 yang sudah ada di Indonesia, yakni menjadi 91 juta dosis. Beberapa penelitian juga menggunakan tanaman herbal yang dianggap sebagai sumber yang baik untuk senyawa

antivirus terhadap berbagai virus termasuk SARS-CoV-2 (COVID-19) (Borkotoky and Manidipa, 2020).

Indonesia termasuk negara subtropis yang kaya akan keanekaragaman hayati, salah satunya yaitu tanaman yang dapat dimanfaatkan untuk keperluan pengobatan. Kebanyakan masyarakat modern cenderung menggunakan obat-obatan alami untuk keperluan medis saat ini karena masyarakat percaya bahwa obat-obatan alami memiliki beragam khasiat sebagai pengobatan. Tanaman adalah salah satu keanekaragaman hayati yang beragam dan melimpah. Keanekaragaman hayati tumbuhan obat di Indonesia merupakan sumber daya alam yang cukup potensial untuk dimanfaatkan dan dikembangkan masyarakat sebagai bahan baku obat tradisional (Krysanti dan Simon, 2014). Hal ini mendorong para peneliti untuk lebih memanfaatkan tumbuhan asli Indonesia. Tanaman yang mulai banyak dikenal dan diteliti sebagai tanaman obat tradisional adalah Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss).

Allah menciptakan alam semesta beserta isinya dengan kebesaran dan kekuasaan-Nya serta segala kesempurnaan-Nya dan Allah menciptakan berbagai tumbuhan sebagai salah satu tanda kekuasaan-Nya, salah satu tumbuhan yang bermanfaat bagi umat manusia adalah tanaman mimba yang digunakan sebagai obat antivirus. Oleh karena itu, diharapkan manusia untuk senantiasa memanfaatkan alam semesta dan tumbuhan yang dapat digunakan sebagai tumbuhan obat dalam kehidupan sehari-hari, sebagaimana dijelaskan dalam Al-Quran surat As-Syu'ara ayat 7 yang berbunyi :

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 tumbuh-tumbuhan yang baik?”.

Berdasarkan tafsir Ibnu Katsir dalam buku Abdul (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 yang harus dipelajari (Savitri, 2008). Dalam ayat tersebut kita sebagai manusia diharapkan untuk memperhatikan tumbuh-tumbuhan yang baik dan mulia yang telah Allah tumbuhkan di bumi ini. Tumbuh-tumbuhan yang baik dapat diartikan sebagai tumbuhan yang memiliki berbagai macam manfaat di dalamnya (Shihab, 2002).

Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) termasuk dalam famili *Meliaceae*. Tanaman ini memiliki nama daerah seperti mimba, nimba, dan kayu bawang. Tanaman mimba memiliki daun yang sangat pahit dan bijinya mengeluarkan bau seperti bawang putih (Palupi *et al.*, 2016). Tanaman mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) memiliki banyak kegunaan antara lain antiinflamasi, antirematik, antipiretik, sebagai penurun gula darah, imunopotensiasi, antifertilitas, antivirus dan antikanker (Kusuma *et al.*, 2019). Senyawa kimia utama dari tanaman Mimba adalah Terpen dan Limonoid (Ogbuewu *et al.*, 2011). Selain itu penelitian dari Sadeghian and Forough (2007) juga mengatakan bahwa senyawa bioaktif utama dalam tanaman mimba adalah *salanin*, *nimbin*, *azadirachtin* dan *azadiradione*, diketahui bahwasannya senyawa tersebut

termasuk golongan terpenoid pada tanaman mimba. Menurut penelitian Balai Penelitian dan Konsultasi Industri Laboratorium (BPKI), di dalam daun mimba mengandung senyawa bioaktif triterpenoid sebesar 0,39%. Selain triterpenoid dalam tanaman mimba juga memiliki senyawa diterpenoid yang merupakan senyawa golongan terpenoid. Senyawa triterpenoid dari tanaman mimba antara lain *azadirachtin*, *azadiradione*, *azadirone*, *deacetylnimbin*, *nimbin*, *nimbolin*, *nimbinene*, *nimbolide* dan *salanin* (Pranoto dan Diana, 2019). Sedangkan senyawa diterpenoid pada tanaman mimba antara lain *nimbinone*, *nimbolicin*, *margocin*, *nimbidiol*, *nimbione* (Kiranmai *et al.*, 2011).

Penggunaan tanaman mimba dikarenakan ekstrak daun mimba mengandung senyawa flavonoid, triterpenoid dan glikosida yang merupakan senyawa aktif antivirus terhadap golongan virus *Coxsackie B*, sehingga daun mimba dapat digunakan sebagai virusida atau agen perusak virus. Selain itu, ekstrak ini dapat mengganggu tahap awal siklus replikasi (Sukrasno, 2003). Di samping itu, ekstrak *neem bark* (*Azadirachta indica* A. Juss) bila digunakan di konsentrasi mulai dari 50 hingga 100 $\mu\text{g/mL}$ memiliki efektivitas dalam penghambatan pada penyebaran *Herpes Simplex Virus* (HSV) tipe 1 (Tiwari *et al.*, 2020). Penelitian lain juga menunjukkan manfaat dari ekstrak *neem bark* (NBE) pada peradangan saraf yang disebabkan oleh *Mouse Hepatitis Virus* (MHV) yaitu dengan mencegah penyebaran virus dari sel ke sel (Sarkar *et al.*, 2020). Diketahui lebih dari 300 senyawa aktif telah diisolasi dari berbagai bagian dari pohon mimba seperti seperti daun, kulit batang dan bijinya.

Studi *in silico* pada senyawa triterpenoid tanaman Neem sebagai antivirus *Dengue-2* menunjukkan adanya afinitas yang baik khususnya pada senyawa *nimbin* dan *deacetylnimbin* pada reseptor yang berperan dalam replikasi virus (Dwivedi *et al.*, 2016). Selain itu dilakukan penelitian oleh Kumar (2020) dimana dilakukan *docking molecular* pada senyawa alami dalam tanaman mimba yaitu *azdirachtin*, *gedunin*, dan *nimbin* dimana ketiga senyawa tersebut memiliki nilai afinitas yang baik terhadap reseptor *RNA-dependent RNA polymerase* (RdRp) (PDB ID 6M71). Penelitian lain mengenai tanaman mimba yang berpotensi sebagai antivirus SARS-CoV-2 secara *in silico* pada reseptor *Spike Protease* (PDB ID 6VXX) hasil menunjukkan bahwa senyawa tanaman mimba seperti *nimbidiol*, *nimbinene*, *nimbolide* memiliki nilai afinitas yang baik pada reseptor tersebut dibandingkan dengan remdesivir yaitu dengan nilai -7.7, -9.2, -9.3 sedangkan remdesivir memiliki nilai afinitas -7.6 (Ramakrishnamacharya *et al.*, 2020). Penelitian yang dilakukan oleh Ramakrishnamacharya *et al* (2020) menggunakan reseptor *Spike Protease* dimana senyawa pembanding dari reseptor tersebut belum diketahui secara spesifik dan senyawa pembanding yang digunakan yaitu menggunakan remdesivir dimana diketahui bahwasannya remdesivir merupakan obat yang bekerja pada RdRp (Neldi and Suhajarno, 2020).

Terdapat penelitian lain juga yang menunjukkan bahwa senyawa tanaman mimba seperti *nimbione* memiliki nilai afinitas yang baik pada reseptor *Mpro* (PDB ID 2GTB) dibandingkan dengan nelfinavir yaitu dengan nilai -6.66 sedangkan nelfinavir memiliki nilai afinitas -5.42 (Sharon, 2020). Penelitian yang dilakukan oleh Sharon

(2020) pada senyawa pembanding yang digunakan tidak memiliki target kerja spesifik baik pada *Mpro*. Sehingga perlu dilakukan penelitian *in silico* dengan menggunakan reseptor RdRp dimana senyawa pembandingnya telah diketahui yaitu remdesivir. Selain itu senyawa yang digunakan sebagai ligan yang bertujuan sebagai senyawa obat juga perlu dianalisis parameter fisikokimia terkait dengan absorpsi obat dan permeabilitasnya yang didasarkan pada hukum Lipinski atau dikenal juga dengan aturan 5 (*rule of five*), dimana senyawa tersebut harus memenuhi hukum lima lipinski (Lipinski, 2004) dan juga perlu dilakukan prediksi toksisitas. Oleh karena itu, senyawa golongan terpenoid pada mimba seperti *6-Deacetylnimbin*, *nimbin*, *nimbolide*, *nimbinene*, *nimbidiol*, dan *nimbione* perlu diuji kembali untuk mengetahui potensinya sebagai antivirus dan mengatasi COVID-19 secara studi *in silico* yaitu *molecular docking*.

Teknik *molecular docking* merupakan salah satu metode studi *in silico* yang digunakan dalam memprediksi bioaktivitas dari suatu senyawa sebelum melakukan percobaan di laboratorium. Keunggulan dari metode ini yaitu dapat mengurangi penggunaan alat dan bahan yang berlebihan serta dapat menghemat biaya uji coba (Dona, 2019). Cara melakukan uji *in silico* adalah dengan melakukan docking molekul yang akan diprediksi aktivitasnya pada sel target yang dipilih. Docking dilakukan untuk menselaraskan antara ligan yang merupakan molekul kecil ke dalam sel target yang merupakan molekul protein yang besar (Jensen, 2007). Metode ini akan menghasilkan nilai energi ikatan atau *Binding affinity* antara ligan dan reseptor (Fita *et al.*, 2015).

Reseptor yang digunakan pada penelitian ini yaitu *RNA-dependent RNA polymerase* (RdRp) atau biasa yang dikenal non struktural protein 12 (nsp12). RdRp dalam SARS-CoV merupakan enzim utama yang bertanggung jawab untuk sintesis untai RNA positif dan negatif. RdRp adalah enzim yang sangat diperlukan dalam kompleks replikasi dan diharapkan mengandung protein sel dan virus lainnya (Septiana, 2020). Pemilihan *RNA-dependent RNA polymerase* (RdRp) diketahui bahwasanya sebagian besar virus RNA memerlukan RdRp untuk replikasi dan transkripsi genom virus (Aftab *et al.*, 2020). Hal ini sesuai dengan penelitian-penelitian lain yang menunjukkan bahwa senyawa tanaman mimba dapat mengganggu replikasi virus (Dwivedi *et al.*, 2016). Oleh karena itu pada penelitian ini menggunakan reseptor *RNA-dependent RNA polymerase* (RdRp) (PDB ID 7BV2).

Berdasarkan latar belakang diatas maka penelitian ini penting dilakukan untuk memprediksi sifat fisikokimia, toksisitas, dan mengetahui gambaran interaksi senyawa dengan reseptor. Uji yang dilakukan pada penelitian ini adalah uji nilai afinitas, RMSD, prediksi sifat fisikokimia dan prediksi toksisitas senyawa golongan terpenoid pada tanaman mimba. Reseptor yang digunakan pada penelitian ini yaitu *RNA-dependent RNA polymerase* (RdRp) (PDB ID: 7BV2) dengan ligan pembanding remdesivir. Senyawa pada tanaman mimba yang dilakukan secara *in silico* ini diharapkan berpotensi menjadi kandidat terapi untuk penyakit COVID-19.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Apakah senyawa golongan terpenoid pada tanaman mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) mempunyai sifat fisikokimia yang memenuhi hukum lima lipinski?
2. Bagaimana interaksi senyawa golongan terpenoid pada tanaman mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) terhadap reseptor *RNA-dependent RNA polymerase* (RdRp) (PDB ID : 7BV2)?
3. Bagaimana tingkat toksisitas senyawa golongan terpenoid pada tanaman mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) secara *in silico*?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui senyawa golongan terpenoid pada tanaman mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) memiliki sifat fisikokimia yang memenuhi hukum lima lipinski.
2. Menganalisis interaksi senyawa golongan terpenoid pada tanaman mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) terhadap reseptor *RNA-dependent RNA polymerase* (RdRp) (PDB ID: 7BV2).
3. Mengetahui tingkat toksisitas senyawa golongan terpenoid pada tanaman mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) secara *in silico*.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah memberikan informasi dan ilmu tentang nilai afinitas, nilai RMSD, ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, interaksi elektrostatik,

jarak ikatan, interaksi residu asam amino, sifat fisikokimia dan tingkat toksisitas senyawa golongan terpenoid pada tanaman mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) sebagai antivirus COVID-19 melalui *RNA-dependent RNA polymerase* (RdRp) (PDB ID: 7BV2).

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Ligan (senyawa) yang digunakan adalah senyawa golongan terpenoid (*6-Deacetylnimbin, nimbin, nimbolide, nimbinene, nimbidiol, dan nimbione*) pada tanaman mimba (*Azadirachta indica* A. Juss).
2. Protein target yang digunakan adalah *RNA-dependent RNA polymerase* (RdRp) (PDB ID: 7BV2).
3. Pembanding yang digunakan adalah Remdesivir.
4. Uji *in silico* antara ligan (senyawa) terpenoid pada tanaman mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) dengan reseptor target menggunakan aplikasi AutoDock Vina dan AutoDock Tools.
5. Parameter yang diukur pada proses *molecular docking* antara lain nilai afinitas, nilai RMSD, ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, interaksi elektrostatik, jarak ikatan dan interaksi residu asam amino.
6. Parameter nilai toksisitas berdasarkan LD_{50} , *Hepatotoxicity*, *Skin sensitization* dan *Ames toxicity*.
7. Parameter prediksi sifat fisikokimia berupa Berat Molekul (BM), logaritma koefisien partisi oktanol/air ($\log P$), jumlah ikatan antar atom yang dapat

berotasi (Torsion), *Hydrogend Bond Donor* (HBD), *Hydrogend Bond Acceptor* (HBA) menggunakan Lipinski.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

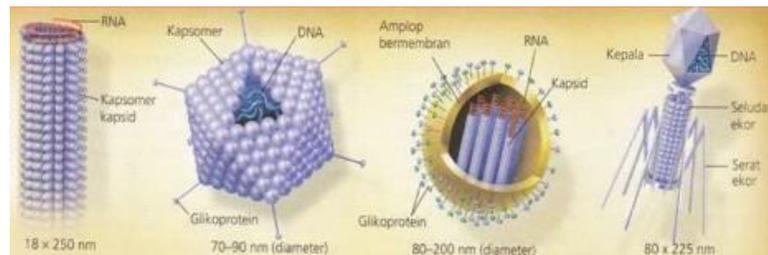
2.1 Tinjauan Tentang SARS-CoV-2

2.1.1 Virus

Virus adalah agen infeksius terkecil yang memiliki ukuran antara 20-300 nm, memiliki komposisi kimia dan bentuk yang bervariasi dan hanya mengandung RNA atau DNA saja (Fitriani, 2020). Virus dapat menyebabkan berbagai macam penyakit dan dapat menyebar antar organisme. Namun, virus tidak memiliki kemampuan untuk mereproduksi atau melakukan aktivitas metabolisme di luar sel inang. Sehingga sebagian besar ahli biologi yang mempelajari virus saat ini setuju bahwa virus tidak hidup, tetapi berada di area abu-abu antara bentuk kehidupan dan zat kimia. Oleh karena itu, ungkapan sederhana yang menggambarkan virus menurut para ahli adalah virus menjalani “hidup pinjaman” (Campbell, 2008).

Genom virus diselubungi dalam cangkang protein yang disebut kapsid. Tergantung pada jenis virusnya, kapsid dapat berbentuk batang, polihedral atau bentuk lain yang lebih kompleks. Kapsid terdiri dari banyak subunit protein yang disebut kapsomer. Beberapa virus mempunyai struktur pembantu untuk membantu menginfeksi sel inang, yaitu struktur selaput membran kapsid. Amplop virus yang berasal dari membran sel inang mengandung fosfolipid dan protein membran sel inang. Amplop juga mengandung protein dan glikoprotein dari protein. Virus tidak memiliki enzim metabolisme dan peralatan pembuat protein, sehingga virus harus berkembang biak di dalam sel inang. Oleh karena itu, setiap virus akan

mengidentifikasi sel inang melalui pencocokan "lubang dan anak kunci" antara protein permukaan virus dan molekul reseptor spesifik di luar sel, dengan demikian dapat menginfeksi sel inang pada daerah host range (Campbell, 2008).



Gambar 2.1 Struktur Virus (Campbell, 2008).

2.1.2 SARS-CoV-2

SARS-CoV-2 adalah kelompok *beta-coronavirus* dari subgenus *sarbecovirus* dan subfamili *orthocoronavirinae*. SARS-CoV-2 ini memiliki setidaknya 70% kesamaan dalam urutan genetik dengan SARS-CoV. Beberapa virus corona khususnya SARS-CoV dan MERS-CoV merupakan virus zoonotik yang menyebabkan penyakit pernapasan pada manusia (Rahman and Tamanna, 2020). SARS-CoV-2 menggunakan beberapa protein struktural dan nonstruktural untuk pengikatan reseptor, replikasi, dan penyebaran sel ke sel (Borkotoky and Manidipa, 2020).

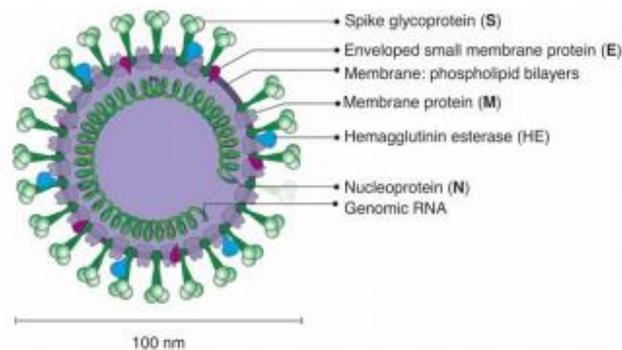
Patofisiologi dari *coronavirus* mula-mula terjadi penetrasi virus SARS-CoV-2 pada sel inang. Siklus hidup virus dapat dikategorikan menjadi 5 tahap antara lain : penambatan, penetrasi, biosintesis, maturasi dan pelepasan kembali (Yuki *et al.*, 2020). Awal mula infeksi, SARS-CoV-2 akan berikatan dengan reseptor sel inang (tahap penambatan), kemudian akan masuk ke dalam sel melalui fusi membran (tahap

penetrasi). Lalu Komponen dari virus akan masuk ke dalam nukleus dan memperbanyak diri menggunakan komponen mRNA virus (tahap biosintesis). Selanjutnya protein yang sudah disintesis akan disusun membentuk virus baru dan dilepaskan kembali keluar sel (tahap maturasi dan pelepasan kembali) (Shereen *et al.*, 2020).

Menurut penelitian, infeksi SARS-CoV-2 bisa jadi berasal dari hewan ke manusia, tetapi untuk sekarang belum diketahui dengan pasti proses penularan dari hewan ke manusia (Handayani *et al*, 2020). Sedangkan penularan dari manusia ke manusia melalui droplet (aerosol) ketika seseorang yang terinfeksi lalu batuk atau bersin. Droplet ini dihirup untuk mencapai paru-paru atau droplet menyentuh permukaan yang terkontaminasi dan kemudian menyentuh hidung, mulut dan mata (Singhal, 2020). Gejala paling umum adalah demam dan batuk sedangkan diare jarang terjadi (Guan *et al*, 2020).

Coronavirus merupakan virus RNA untai tunggal yang dapat menginfeksi berbagai inang termasuk unggas, hewan liar, dan spesies mamalia termasuk manusia (Decaro *et al*, 2020). Virus ini memiliki ukuran partikel 120-160 nm. Mereka termasuk dalam subfamili *Orthocoronavirinae* di bawah keluarga *Coronaviridae*, dan diklasifikasikan menjadi empat genus diantaranya yaitu *Alphacoronaviruses* (a), *Betacoronaviruses* (b), *Gammacoronaviruses* (g), dan *Deltacoronaviruses*. Virus ini utamanya menginfeksi hewan, termasuk di antaranya adalah kelelawar dan unta (Wu *et al*, 2020). Virus corona juga menyebabkan infeksi pernapasan ringan hingga sedang, seperti flu biasa (Unhale *et al*, 2020).

SARS-CoV-2 terdiri dari protein struktural dan non-struktural (Mittal *et al.*, 2020). Setidaknya virus memiliki empat protein struktural, antara lain spike glikoprotein (S), membran protein (M) enveloped (E), dan protein nukleokapsid (N), serta protein pelengkap lainnya yaitu ORF3A, ORF6, ORF7A, ORF7B, ORF8 dan ORF10 (Helmy *et al.*, 2020). Semua virus corona mengandung gen spesifik di wilayah ORF1, yang mengkode protein untuk replikasi virus, pembentukan nukleokapsid, dan pembentukan spikes. Genom virus korona menyandi beberapa protein struktural dan non-struktural. Protein struktural bertanggung jawab untuk infeksi host, fusi membran, perakitan virus, morfogenesis, dan pelepasan partikel virus dan protein non-struktural (nsps), dengan demikian mendorong replikasi dan transkripsi virus (Mittal *et al.*, 2020).



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

2.2 Tinjauan Tanaman *Azadirachta indica* A. Juss

2.2.1 Pemanfaatan Tanaman *Azadirachta indica* A. Juss dalam Perspektif Islam

Tumbuh-tumbuhan yang ada di bumi diciptakan oleh Allah SWT dalam berbagai bentuk yang beraneka ragam. Seperti yang dinyatakan dalam Al-Qur'an surat Al-An'am ayat 99, yaitu

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرَجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنَ النَّخْلِ مِنْ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَدَّاتٍ مِنْ أَعْذَابٍ وَالزَّيْتُونِ وَالرُّمَّانِ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَابِهٍ ۗ انظُرُوا إِلَىٰ ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ ۗ إِنَّ فِي ذَٰلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ

Artinya : “Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (Kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman”.

Ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah SWT mengeluarkan hujan dan menciptakan berbagai jenis tumbuhan, serta organ-organ seperti daun yang disebut sebagai sesuatu yang menghijau, batang tinggi dan biji-bijian. Di akhir ayat ini dikatakan bahwa amatilah buah yang dihasilkannya. Dalam penjelasan Ibnu Katsir,

artinya pikirkanlah kekuasaan pencipta-Nya, dari tidak ada menjadi ada, dari segala macam ciptaan Allah berupa warna, bentuk, rasa, aroma, dan manfaatnya. (Abdullah, 2003). Tumbuh-tumbuhan melalui beberapa fase hingga menjadi matang. Pada fase kematangan, buah ataupun bagian tumbuhan yang lain akan mengandung berbagai senyawa. Sehingga tumbuhan tersebut dapat dimanfaatkan oleh makhluk hidup lainnya (Shihab, 2002). Pada tafsir *as Showi* diterangkan bahwa Allah SWT menciptakan berbagai macam tumbuhan yang bermanfaat sehingga dapat mendatangkan suatu kebaikan (Lajnah, 2009). Salah satu pemanfaatan tumbuhan ialah sebagai obat untuk COVID-19. Pemanfaatan tumbuhan sebagai sumber obat sesuai dengan hadits Rasulullah SAW “*Berobatlah kamu, sehingga sesungguhnya Dzat yang membuat penyakit, Dia pula yang membuat obatnya.*” (Qardhawi, 2008).

2.2.2 Klasifikasi *Azadirachta indica* A. Juss

Azadirachta indica A. Juss atau biasa dikenal sebagai Neem atau Mimba merupakan tumbuhan yang berasal dari India dan sebagian besar terdapat di negara-negara tropis dan subtropis, salah satunya adalah Indonesia (Hashmat *et al*, 2012). Klasifikasi tanaman neem atau mimba adalah sebagai berikut (Sukarsono, 2003) :

Kingdom : Plantae

Division : Magnoliophyta

Subdivis : Angiospermae

Ordo : Rurales

Famili : Meliaceae

Genus : *Azadirachta*

Species : *Azadirachta indica* A. Juss



Gambar 2.3 *Azadirachta indica* A. Juss

(Sumber : plantamor.com)

2.2.3 Deskripsi *Azadirachta indica* A. Juss

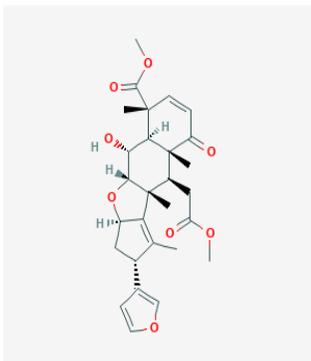
Daun neem atau mimba memiliki karakteristik sebagai berikut : daunnya menyirip, panjang sekitar 20-40 cm, berwarna hijau muda, tangkai daun panjangnya sekitar 2-7 cm, berbentuk bulat telur sampai lanset, tepi bergerigi (Hameed, 2014). Neem atau mimba mempunyai batang yang tegak dan akar tunggang. Permukaan batangnya kasar, bulat, coklat, dan kulit batangnya tebal. Tinggi tanaman bisa mencapai 30 meter, diameter batang 2-5 meter, dan diameter kanopi bisa mencapai 10 meter. Buah mimba berbentuk lonjong, dengan ukuran maksimal 2 cm, dan berwarna hijau. Biji mimba terbungkus pada daging buahnya, perbandingan berat buah berbiji 50%: 50%, diameter 1 cm dan berwarna putih (Ambarwati, 2011).

2.2.4 Kandungan *Azadirachta indica* A. Juss

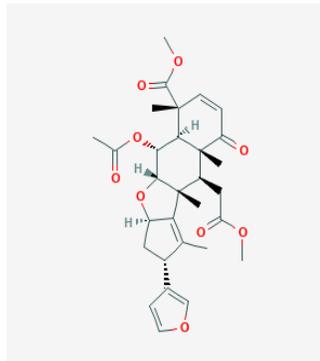
Mimba (*Azadirachta Indica* A. Juss) merupakan salah satu tumbuhan dari famili *Meliaceae* (Kurniati *et al*, 2018). *Azadirachta indica* yang dikenal juga sebagai neem atau mimba telah banyak digunakan untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit. Produk alami dan turunannya menyediakan sumber obat baru 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. Senyawa aktif ini telah diidentifikasi sebagai anti-mutagenik, anti-inflamasi, anti-oksidan, antiulcer, anti-hiperglikemik, imunomodulator, anti-karsinogenik, dan anti-virus (Sharon, 2020). Tanaman dari famili ini mengandung metabolit sekunder termasuk alkaloid, flavonoid, kuinon,

terpenoid (Kurniati *et al*, 2018), triterpenoid, senyawa fenolik, karotenoid, steroid, dan keton (Kumar *et al*, 2018).

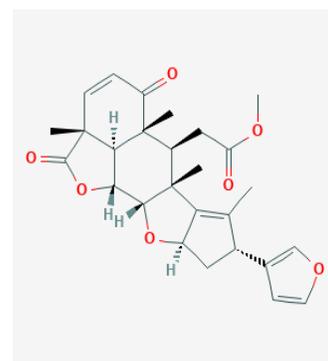
Senyawa aktif neem hampir terdapat di seluruh bagiannya namun yang paling penting adalah *azadirachtin*, *salannin* dan *nimbin*. Senyawa tersebut dibagi lagi menjadi dua kelas utama: yaitu isoprenoid dan lain-lain. Isoprenoid tersebut termasuk diterpenoid dan triterpenoid yang mengandung protomeliacins, limonoid, *azadirone* dan turunannya, *gedunin* dan turunannya, senyawa jenis vilasinin dan Csecomeliacins seperti *nimbin*, *salanin* dan *azadirachtin* (Yasotha *et al*, 2019). Meskipun para peneliti masih belum menunjukkan secara tepat mekanisme kerja senyawa aktif Neem. Bukti menunjukkan bahwa mereka mengganggu replikasi virus, sehingga meminimalkan dampak infeksi virus (Chawla *et al*, 2011). Berikut gambar struktur senyawa *6-deacetylnimbin*, *nimbin*, *nimbolide*, *nimbinene*, *nimbidol* dan *nimbione* :



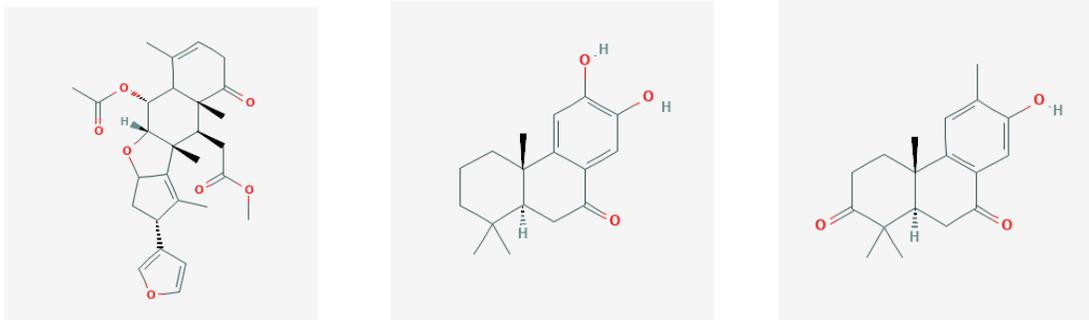
6-deacetylnimbin



Nimbin



Nimbolide

*Nimbinene**Nimbidiol**Nimbione***Gambar 2.4** Struktur Senyawa Golongan Terpenoid tanaman Mimba.(Sumber : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)

Berikut adalah tabel sejumlah besar senyawa aktif yang di isolasi dari tanaman Mimba:

Tabel 2.1 Senyawa aktif yang di isolasi dari tanaman Mimba (Kumar *et al*, 2018 ; Baildya *et al*, 2021 ; Sadeghian and Forough, 2007 ; Pankaj *et al.*, 2011 ; Rochyhoudhury, 2016 ; Brushett, 2018) :

No	Nama Senyawa	Asal
1	<i>6-Deacetylnimbin</i>	Daun
2	<i>Nimbin</i>	Biji, Daun
3	<i>Sodium nimbidate</i>	Minyak Biji Mimba, Daun
4	<i>Azadirachtin</i>	Biji, Daun, Kulit batang
5	<i>Nimbinene</i>	Daun
6	<i>Nimbolide</i>	Daun
7	<i>Gedunin</i>	Buah, Kulit batang
8	<i>Mahmoodin</i>	Minyak Biji Mimba

Lanjutan Tabel 2.1

9	<i>Azadiradione</i>	Buah, Minyak, Daun
10	<i>Nimbidiol</i>	Kulit batang
11	<i>Nimbione</i>	Kulit batang
12	<i>Azadirone</i>	Buah, Minyak, Daun
13	<i>Epoxyazadiradione</i>	Buah, Daun
14	<i>Deasacyetylgedunin</i>	Seed oil
15	<i>Gallic acid, (-) epicatechin dan catechin</i>	Kulit batang
16	<i>Margolone, margolonone dan isomargolonone</i>	Kulit batang
17	<i>Margocin</i>	Kulit batang
18	<i>Nimbosterol (Beta-sitosterol)</i>	Daun
19	<i>Cyclic trisulphide dan cyclic tetrasulphide</i>	Daun, Kulit batang
20	<i>Polisakarida</i>	Daun
21	<i>Polisakarida GIA, GIB</i>	Kulit batang
22	<i>NB-II peptidoglucan</i>	Kulit batang

2.2.5 Khasiat *Azadirachta indica* A. Juss

Tanaman Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) memiliki nama daerah seperti mimba, nimba, dan kayu bawang. Tanaman ini memiliki daun yang sangat pahit dan

bijinya mengeluarkan bau seperti bawang putih (Palupi *et al*, 2016). Beberapa penelitian terbaru menunjukkan bahwa tanaman nimba atau neem mengandung banyak efek terapeutik, salah satunya adalah antivirus (Chundran *et al*, 2015). Tanaman ini memiliki banyak kegunaan antara lain antiinflamasi, antirematik, antipiretik, sebagai penurun gula darah, imunopotensiasi, antifertilitas, antivirus dan antikanker (Kusuma *et al*, 2019). Senyawa pada mimba dapat melawan virus *Coxsackie* virus B-4 dan diduga mengganggu tahap awal replikasi siklus virus (Trivedi *et al*, 2019), penelitian lain menunjukkan bahwa ekstrak *neem bark* (NBE) bila digunakan dalam konsentrasi 50 hingga 100µg/mL memiliki efektivitas dalam penghambatan pada penyebaran *Herpes Simplex Virus* (HSV) tipe 1. NBE secara signifikan menghambat masuknya HSV-1 dan glikoprotein virus memediasi fusi sel ke sel dalam model kultur sel. Hal ini menunjukkan adanya peran potensial NBE pada proses fusi virus (Tiwari *et al.*, 2010). Tanaman nimba (*Azadirachta indica* A. Juss) juga memiliki potensi aktivitas antivirus terhadap virus *dengeu* (demam berdarah). Beberapa senyawa tersebut menunjukkan berbagai sifat biologis, termasuk aktivitas antikanker, antibakteri, antijamur, antimalaria, dan antivirus (Dwivedi *et al*, 2016).

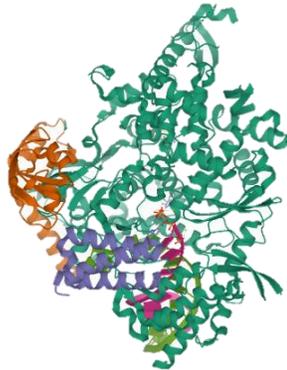
2.3 Tinjauan Reseptor SARS-CoV-2 RdRp (PDBid: 7BV2)

SARS-CoV-2 memiliki 2 protein yaitu Protein struktural dan protein non-struktural (NSP). Protein struktural meliputi: spike (S), membran (M), envelope (E), nucleocapsid (N) (Purwaniati dan Aiyi, 2020) sedangkan protein non struktural terdapat 16 protein non struktural yang dikode oleh ORF (Fitriani, 2020). Beberapa penelitian sebelumnya telah melakukan penelitian pada protein non struktural, salah

satu protein non struktural yang diteliti yaitu nsp 12 atau biasa disebut juga 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. RdRp memainkan peran yang signifikan 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). RdRp dalam SARS-CoV merupakan enzim utama yang bertanggung jawab untuk sintesis untai RNA positif dan negatif. RdRp adalah enzim yang sangat diperlukan dalam kompleks replikasi dan diharapkan mengandung protein sel dan virus lainnya (Septiana, 2020).

Salah satu struktur SARS-CoV-2 RdRp yang dipublikasikan oleh Protein Database (PDB) adalah 7BV2. Struktur ini terdiri dari struktur kompleks nsp12–nsp7–nsp8 complex bound to 12 primer dan remdesivir yang dirilis pada minggu pertama Mei 2020. Menurut laporan, struktur ini telah diperbaiki pada Juni 2020 yang memiliki tambahan ujung terminal C dan menghilangkan ion Mg^{2+} . Struktur ini telah memungkinkan para peneliti mengembangkan inhibitor terhadap SARS-CoV-2 RdRp dengan mempertimbangkan interaksi antara RdRp dan remdesivir serta memahami perannya dalam penghambatan. Dengan membentuk interaksi non-kovalen yang kuat antara obat dan target, struktur ini menunjukkan peran Lys545, Leu759 dan Ser814. Berdasarkan hasil penelitian ini, nilai RMSD yang terbaik dari struktur PDBid: 7BV2 adalah $1,68 \text{ }^\circ \text{A}$ (Koulgi *et al.*, 2020). Studi lain oleh Dahab *et al* (2020) menargetkan reseptor PDBid: 7BV2, menunjukkan hasil bahwa binding

interaction antara reseptor PDBid:7BV2 dan *native ligand* (Remdesivir) adalah -5.9, dan diketahui bahwa terdapat 5 ikatan hidrogen dengan Arg553 dan adanya ikatan lain dengan Asp623, Asn691, Leu759 dan Ser682.



Gambar 2.5 Struktur *RNA-dependent RNA polymerase* (RdRp) (PDB ID: 7BV2)

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

2.4 Penambatan Molekuler

2.4.1 Penambatan Molekuler (*Molecular Docking*)

Teknik *molecular docking* merupakan salah satu metode studi *in silico* yang digunakan dalam memprediksi bioaktivitas dari suatu senyawa sebelum melakukan percobaan di laboratorium. Keunggulan dari metode ini yaitu dapat mengurangi penggunaan alat dan bahan yang berlebihan serta dapat menghemat biaya uji coba (Dona, 2019). Cara melakukan uji *in silico* adalah dengan melakukan docking molekul yang akan diprediksi aktivitasnya pada sel target yang dipilih. Docking dilakukan untuk menselaraskan antara ligan yang merupakan molekul kecil ke dalam sel target yang merupakan molekul protein yang besar (Jensen, 2007). Metode ini akan

menghasilkan nilai energi ikatan atau *Binding affinity* antara ligan dan reseptor. Semakin rendah energi ikatan maka menunjukkan afinitas antara ligan dan reseptor semakin stabil maka dapat diprediksikan bahwa aktivitasnya semakin kuat (Fita *et al.*, 2015). Teknologi *molecular docking* ini memiliki tiga tujuan utama dalam beberapa tahapan proses pengembangan obat, yaitu : (Leach, Shoicet, and Peishoff, 2006) :

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

2.4.2 Database Reseptor dan Ligan

Sumber Database yang digunakan untuk memperoleh data ligan diperoleh dari PubChem (<http://PubChem.ncbi.nlm.nih.gov>) sedangkan reseptor diperoleh dari Protein Data Bank (PDB; <http://www.rscb.org.pd>). PubChem adalah database publik yang berisi informasi tentang senyawa dan aktivitas biologisnya. Database tersebut diluncurkan pada tahun 2004 sebagai bagian dari *The Molecular Libraries Roadmap Initiatives* dari *National Institutes of Health* (NIH). PubChem terdiri dari tiga database yang saling terkait yaitu zat, senyawa, dan uji biologis (Kim *et al.*, 2016). Situs ini dapat digunakan untuk mengakses data struktur kimia senyawa yang berperan sebagai ligan selama 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 tentang reseptor yang digunakan pada proses docking.

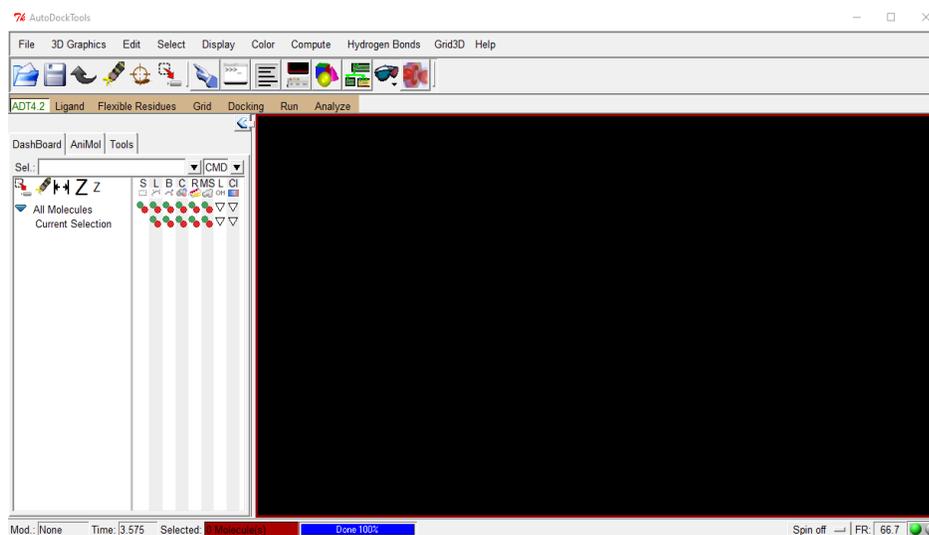
2.5 Aplikasi Penunjang

2.5.1 SwissADME

SwissADME dikelola oleh *Institut Bioinformatika Swiss (SIB)*. SwissADME adalah aplikasi *online* yang dapat diakses secara gratis di situs web (<http://www.swissadme.ch>) yang dirancang untuk memfasilitasi analisis ADME (*Absorption, Distribution, Metabolism and Excretion*) dan farmakokinetik molekul. Dalam analisis ADME dan farmakokinetik, SwissADME memiliki keuntungan sebagai berikut: metode masukan yang berbeda, beberapa molekul dapat dihitung sekaligus, dan dapat 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 sifat fisikokimia dari proses penemuan obat baru dapat diprediksi sesuai kaidah hukum lima lipinski (Daina *et al.*, 2017).

2.5.2 AutoDock Tools

AutoDock Tools merupakan sebuah modul di dalam paket perangkat lunak MGL Tools, yang secara khusus digunakan untuk menghasilkan masukan (PDBQT file) untuk AutoDock Vina. Selain itu, AutoDock Tools juga dapat digunakan untuk membantu mengatur grid box dari makromolekul (Suharna, 2012). Pada AutoDock Tools, dilakukan tahap optimasi untuk memperbaiki kekurangan yang ada pada data protein yang diunduh (Apriani, 2015).



Gambar 2.6 AutoDock Tools

2.5.3 AutoDock Vina

Autodock Vina adalah program untuk penambatan molekuler dan virtual screening. Program ini banyak digunakan untuk berbagai keperluan, tujuan akhirnya adalah memprediksi konformasi ikatan dan afinitas senyawa ligan terhadap targetnya (Mughtaridi *et al.*, 2018). AutoDock Vina memiliki banyak fungsi, kecepatan dan ketepatan dalam memprediksi tempat ikatan tinggi selama pengikatan molekul (Zuchrian, 2010). Dalam proses penambatan molekul, dapat dilakukan untuk menyelesaikan lebih dari satu molekul pada satu waktu tanpa membatasi jumlah atom maksimum dan ukuran maksimum grid map (Troott dan Olson, 2009; Zuchrian (2010)

2.5.4 Discovery Studio Visualizer

Discovery Studio Visualizer adalah perangkat lunak gratis yang dapat digunakan untuk preparasi dan analisis data pada proses penambatan molekuler.

Perangkat tersebut memiliki kemampuan visualisasi gambar interaktif untuk melihat struktur molekul, urutan, data refleksi X-ray, script dan data lainnya (Accelrys Enterprise Platform, 2005). Selain itu, perangkat lunak dapat digunakan untuk menganalisis interaksi ligan terhadap active binding site pada reseptor secara 2D termasuk jenis ikatan dan asam amino yang berinteraksi. Analisis ini disebut analisis pharmacophore. Melalui analisis ini dapat diketahui bahwa ikatan ligan mempengaruhi aktivitas reseptor (Widodo *et al.*, 2018).

2.5.5 PyMol

PyMol merupakan program yang dapat digunakan untuk preparasi protein sebelum proses *docking*. Program ini dapat membantu menghilangkan *native ligan*, air dan residu yang tidak diinginkan yang mengikat protein docking. Selain untuk preparasi PyMol, program ini juga dapat digunakan untuk memvisualisasikan senyawa tiga dimensi dan dapat digunakan untuk menghitung RMSD. Visualisasi berguna untuk lebih memahami dan struktur suatu molekul. PyMol dapat menampilkan visualisasi lebih dari satu struktur (dari molekul kecil hingga molekul besar) dalam berbagai warna. Sistem grafik molekuler PyMol telah dikembangkan menjadi penampil molekuler yang kuat dan pemrograman dengan *Python* menjadikan perangkat lunak mudah digunakan secara luas tanpa mengubah kode utama. Perangkat lunak ini dikembangkan oleh DeLano Scientific LLC (Delano dan Bromberg, 2004; Widodo dkk., 2018).

2.5.5 pkCSM Online Tool

Metode *in silico* telah dikembangkan untuk memprediksi sifat farmakokinetik dan toksisitas senyawa dari struktur kimianya. Hal ini dikarenakan interaksi antara farmakokinetik, toksisitas dan potensi sangat penting untuk menentukan efektivitas obat. *pkCSM Online Tool* adalah salah satu aplikasi gratis untuk pengoptimalan farmakokinetik dan toksisitas. Aplikasi ini memiliki kemampuan yang baik untuk memproses 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).

2.5.6 ProTox Online Tools

ProTox merupakan situs online yang digunakan untuk memprediksi toksisitas oral pada hewan coba (Drwal *et al.*, 2014). Pengantar situs web ini menyajikan pengetahuan target kimia dan molekul. Skema prediksi ProTox dibagi menjadi berbagai tingkat toksisitas, seperti toksisitas oral, toksisitas organ, titik akhir toksikologi, jalur toksikologi, dan toksisitas target (Banerjeel *et al.*, 2018). Hasil perbandingan yang dihasilkan oleh protox jauh lebih unggul daripada perangkat lunak komersial dan alat yang dapat diakses secara bebas yang dikembangkan oleh Environ di Amerika Serikat, serta server web yang dapat digunakan secara gratis untuk komunitas, termasuk berbagai jenis prediksi berdasarkan model metode Quantitative Structured Activity Relationship (QSAR). Dkk., 2012)

2.6 Ikatan Reseptor – Ligan

2.6.1 Interaksi Elektrostatik

Terdapat dua jenis ikatan dalam interaksi elektrostatik yaitu ikatan ionik dan ikatan van der Waals. Ikatan ion adalah ikatan yang terjadi ketika dua gugus protein bermuatan berlawanan (pasangan ion) yang saling berinteraksi. Ikatan ionik adalah ikatan yang sangat kuat, tetapi memiliki pengaruh yang kecil dalam menstabilkan struktur protein. Hal ini dikarenakan pasangan ion yang tersembunyi (tidak terlarut) tidak banyak ditemukan dalam protein dan pasangan ion eksternal. Interaksi elektrostatik lainnya adalah ikatan van der Waals. Ikatan ini terjadi karena interaksi elektrostatik antara dipol-dipol. Ikatan ini khas untuk molekul non-polar dan bertanggung jawab atas berbagai interaksi antara atom yang berdekatan. Interaksi penting dalam pengikatan protein meliputi interaksi dipol permanen antara gugus karboksil dan amida. Meskipun ikatan van der Waals lemah, namun terdapat dalam jumlah yang besar, sehingga memiliki peran yang signifikan dalam menentukan stabilitas protein (Voet dan Judith, 2011).

2.6.2 Ikatan Hidrogen

Ikatan hidrogen adalah interaksi elektrostatik antara gugus donor yang bersifat asam lemah dengan atom dari suatu reseptor yang membentuk pasangan elektron bebas. Ikatan hidrogen ini terbentuk antara molekul internal lainnya (dalam polipeptida) atau antara molekul internal dan air. Ikatan hidrogen merupakan ikatan utama untuk menjaga stabilitas protein (Voet dan Judith, 2011).

2.6.3 Ikatan Hidrofobik

Interaksi hidrofobik disebabkan oleh adanya gaya tertentu, sehingga susunan senyawa non polar harus meminimalkan kontakannya dengan air atau senyawa amphipatik, membentuk struktur seperti misel di dalam air. Protein pembentuk misel kebanyakan rantai sampingnya bersifat non polar akan menjauhi kontak dengan air, sehingga interaksi hidrofobik dapat mendukung kestabilan suatu protein (Voet dan Judith, 2011).

2.7 Hukum Lima Lipinski

Analisis sifat fisika dan kimia didasarkan pada hukum Lipinski atau dikenal juga dengan aturan 5 (*rule of five*), yang berarti setiap nilai aturan merupakan kelipatan 5 (Leo, 1971). Prediksi sifat fisikokimia seperti : Berat Molekul (BM), logaritma koefisien partisi oktanol/air (Log P), jumlah ikatan antar atom yang dapat berotasi (Torsion), *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA), dan *Hydrogen Bond Donors* (HBD) (Kesuma *et al*, 2018). Lipinski *et al* (1997) menganalisis 2.245 obat dari data dasar World Drugs Index dan menyimpulkan bahwa jika berat molekul lebih besar dari 500, mempunyai nilai log koefisien partisi oktanol/air (log P) lebih besar 5, mempunyai ikatan-H donor (HBD) yang dinyatakan dengan jumlah gugus O-H dan N-H lebih besar 5 dan mempunyai ikatan-H aseptor (HBA) yang dinyatakan dengan jumlah atom O dan N lebih besar 10 maka senyawa tersebut akan sulit diabsorpsi dan memiliki permeabilitas yang rendah.

Aturan Lipinski dapat menentukan sifat fisikokimia ligan untuk menentukan sifat hidrofobik atau hidrofilik suatu senyawa melalui membran sel oleh difusi pasif.

Berat molekul yang melebihi 500 Da tidak dapat berdifusi melalui membran sel. Semakin besar nilai log P, maka semakin hidrofobik molekulnya. Molekul yang terlalu hidrofobik cenderung memiliki toksisitas yang lebih tinggi karena tetap berada di lapisan lipid bilayer lebih lama dan terdistribusi lebih luas di dalam tubuh, sehingga mengurangi selektivitas pengikatan pada enzim target. Nilai log P yang terlalu negatif juga tidak baik karena molekul tidak dapat melewati membran lipid bilayer. Jumlah donor dan akseptor ikatan hidrogen menggambarkan bahwa semakin tinggi kapasitas ikatan hidrogen maka semakin tinggi pula energi yang dibutuhkan untuk terjadinya proses absorpsi. Secara umum, aturan Lipinski menjelaskan kelarutan senyawa tertentu yang menembus membran sel melalui difusi pasif. Analisis hukum lima lipinski tersebut dapat digunakan untuk membuktikan bahwa senyawa yang diuji mudah diabsorpsi dan memiliki permeabilitas yang baik (Syahputra dkk, 2014).

2.8 Toksisitas

Toksisitas merupakan uji yang mendeteksi efek toksik untuk memperoleh informasi atau data mengenai toksisitas suatu bahan pada hewan uji. Uji toksisitas dibagi menjadi uji toksisitas umum dan uji toksisitas spesifik. Uji toksisitas umum meliputi uji toksisitas akut selama 24 jam, uji toksisitas subkronis selama 26 minggu, dan uji toksisitas kronik selama 1 tahun. Uji toksisitas khusus meliputi uji teratognik atau kelainan janin, uji mutagenesis atau uji dengan mengubah informasi DNA, dan uji karsinogenik (Ngatidjan, 2006).

Uji toksisitas akut adalah uji yang mendeteksi gejala toksisitas yang mungkin muncul dalam tubuh manusia dalam waktu singkat setelah sediaan uji diberikan secara oral dalam dosis tunggal atau berulang dalam 24 jam, dan kemudian diamati selama 14 hari (BPOM RI, 2014). Pengujian toksisitas akut biasanya berkaitan dengan dosis letal tengah (LD_{50}), yang merupakan dosis tunggal suatu zat yang dapat menyebabkan 50% hewan percobaan mati. Tes tersebut dapat menunjukkan organ target mana yang mengalami efek toksik atau kerusakan tertentu (Lu, 1991).

Nilai LD_{50} adalah dosis yang mempunyai efek mematikan pada 50% hewan uji, kesimpulannya adalah semakin besar LD_{50} obat, semakin aman obat tersebut. Nilai LD_{50} digunakan sebagai indikator kuantitatif dalam uji toksisitas akut (Hodgson, 2010). Nilai LD_{50} yang ditentukan oleh limit test dalam prosedur OECD 425 adalah ketika dosis diberikan kepada 5 hewan uji dan jika tiga atau lebih hewan uji masih hidup maka LD_{50} lebih besar dari 2000 mg / kgBW. Jika tiga atau lebih hewan uji mati, LD_{50} kurang dari 2000 mg / kg, dan kemudian dilakukan uji utama. Tabel dibawah ini mencantumkan klasifikasi toksisitas dari sediaan uji menurut nilai LD_{50} .

Tabel 2.2 Penggolongan Kelas toksisitas LD_{50} diklasifikasikan berdasarkan *Globally Harmonized System* (GHS) (El Din *et al.*, 2016).

Tingkat Toksisitas	Kelas toksisitas LD_{50}	Klasifikasi
1	≤ 5 mg/kg	Fatal jika tertelan
2	$5 < LD_{50} \leq 50$ mg/kg	Fatal jika tertelan
3	$50 < LD_{50} \leq 300$ mg/kg	Beracun jika tertelan
4	$300 < LD_{50} \leq 2000$ mg/kg	Berbahaya jika tertelan
5	$2000 < LD_{50} \leq 5000$ mg/kg	Bisa berbahaya jika tertelan
6	$LD_{50} > 5000$ mg/kg	Tidak beracun

Tanaman obat harus melalui berbagai proses pengujian keamanan konsumsi salah satunya adalah pengujian toksisitas akut (Syamsul *et al.*, 2015). Prinsip uji toksisitas akut adalah toksisitas dibagi menjadi beberapa dosis bertingkat, satu dosis per kelompok. Selain itu, efek toksik dan kematian diamati untuk menghitung LD₅₀. Lakukan pengamatan selama 24 jam, jika hewan masih sehat maka disisihkan untuk mengantisipasi kemungkinan munculnya penundaan toksisitas (BPOM RI, 2014).

2.9 Senyawa Pembanding (Remdesivir)

Remdesivir merupakan *phosphoramidate prodrug* yang dimetabolisme dalam tubuh menjadi *C-adenosine nucleoside analogue* GS-441524 sebagai metabolit aktif yang mempunyai aktivitas dapat menghambat *RNA-dependent RNA polymerase* (RdRp). RdRp merupakan protein yang memiliki peran yang signifikan dalam replikasi virus corona pada sel epitel saluran pernapasan. Selain itu, remdesivir secara efisien menunjukkan efektif farmakologis aktif dari nukleosida trifosfat (NTP) yang bertindak sebagai substrat alternatif dan rantai terminator RNA. NTP mampu menghambat virus corona dengan memasukkan trifosfat aktif ke dalam RNA virus (Neldi dan Suharjono, 2020). Mekanisme kerja dari remdesivir berkaitan dengan replikasi virus. Remdesivir adalah analog nukleosida adenosin yang dapat mengganggu RNA polimerase virus dan selanjutnya mengurangi kemampuannya mereplikasi virus. Karena kesamaan antara remdesivir dan adenosin (salah satu nukleotida untuk pembentukan RNA) maka dapat menyebabkan RNA polimerase salah mengira remdesivir sebagai adenosin. Penempatan analog adenosin ini akan

mengakhiri proses transkripsi dan akhirnya membuat virus tidak dapat mereplikasi atau menginfeksi sel lain (Setiadi *et al.*, 2020).

Remdesivir adalah obat yang pada awalnya digunakan untuk mengobati virus Ebola dan kemudian dicoba untuk virus korona seperti MERS-CoV dan SARS-CoV (Setiadi *et al.*, 2020). Saat ini remdesivir berada di klinis uji coba terkait dengan potensinya dalam melawan SARS-CoV-2. Selain itu, dalam beberapa laporan kasus, pasien COVID-19 juga menunjukkan pemulihan setelah diberikan remdesivir tanpa menunjukkan efek samping. Remdesivir adalah salah satu antivirus yang paling banyak dipelajari untuk terapi COVID-19. Hal ini berkaitan dengan kemungkinan efektivitas remdesivir terhadap SARS-CoV-2 (Neldi dan Suharjono, 2020). Sebuah studi *in vitro* menunjukkan bahwa remdesivir memiliki aktivitas dalam menghambat virus SARS dan MERS yang merupakan jenis virus corona lainnya (Ahsan *et al.*, 2020; Cao *et al.*, 2020). Oleh karena itu, secara teoritis diperkirakan obat ini juga berpengaruh terhadap COVID-19 (Cao *et al.*, 2020). Obat ini adalah antivirus spektrum luas (diuji menggunakan kultur sel, mencit dan model primata bukan manusia) (Sheahan *et al.*, 2017; Lo *et al.*, 2019; Yavuz & Unal, 2020). Aktivitas antivirusnya ditunjukkan oleh virus RNA untai tunggal yang lebih efektif jika diberikan pada tahap awal infeksi ketika virus mulai berkembang biak di saluran pernapasan bagian atas (Yavuz & Unal, 2020).

Terdapat kasus melaporkan keefektifan remdesivir dalam pengobatan pasien yang terinfeksi COVID-19 di Amerika Serikat. Pasien dalam laporan kasus berusia 35 tahun dan memiliki riwayat perjalanan ke Wuhan, China. Setelah mendapatkan CT scan dada yang menunjukkan pneumonia dan saturasi O₂ pasien menurun hingga

90%, pasien menerima kombinasi vankomisin dan cefepim. Dengan memperhatikan bahwa hasil CT scan dada tidak membaik, pasien mulai menggunakan remdesivir, dan situasi klinis membaik pada hari berikutnya. Saat ini belum ada kesimpulan yang pasti tentang efektivitas dari remdesivir dalam pengobatan pasien COVID-19. Namun, jika tidak ada satu obat yang disetujui untuk pasien COVID-19, mengingat hasil tes in vitro yang menjanjikan, penggunaan remdesivir dapat digunakan sebagai terapi alternatif (Setiadi *et al.*, 2020).

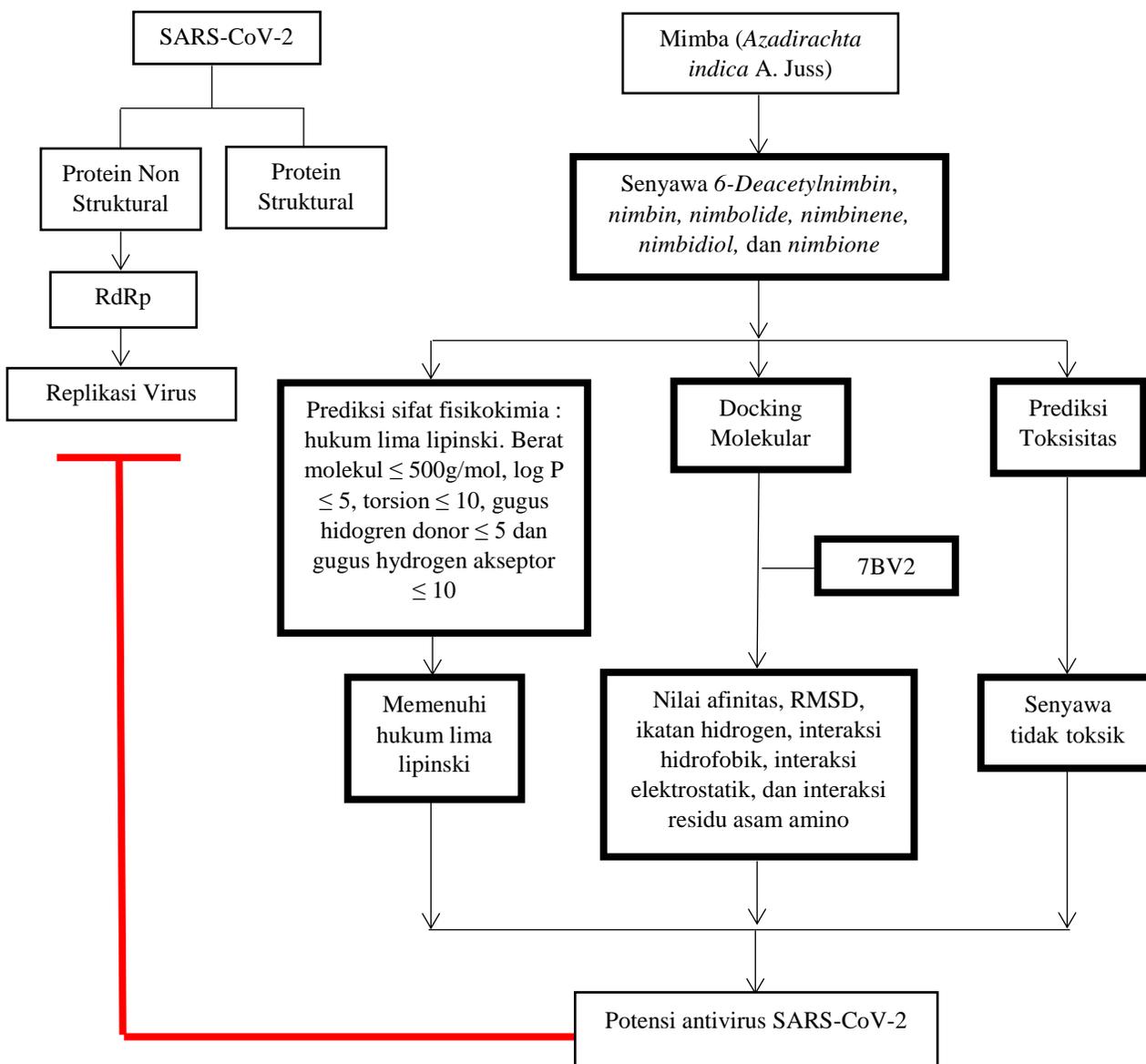
BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konseptual

3.1.1 Bagian Kerangka Konseptual

Kerangka konseptual dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :



Gambar 3.1 Bagan Kerangka Konseptual

Keterangan :



: Pendukung penelitian



: Diteliti



: Mempengaruhi



: Menghambat

3.1.2 Uraian Kerangka Konseptual

SARS-CoV-2 memiliki 2 protein yaitu Protein struktural dan protein non-struktural (NSP). Protein struktural meliputi: spike (S), membran (M), envelope (E), nucleocapsid (N) (Purwaniati dan Aiyi, 2020) sedangkan protein non struktural terdapat 16 protein non struktural yang dikode oleh ORF (Fitriani, 2020). Beberapa penelitian sebelumnya telah melakukan penelitian pada protein non struktural, salah satu protein non struktural yang diteliti yaitu nsp 12 atau biasa disebut *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).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa tanaman mimba atau neem mengandung banyak efek terapeutik, salah satunya adalah antivirus (Chundran *et al*, 2015). Penelitian dari Trivedi *et al* (2019) menunjukkan bahwa ekstrak daun mimba memiliki aktivitas melawan virus *Coxsackie* virus B-4 dan diduga mengganggu tahapan awal replikasi siklus virus. Penelitian lain juga menunjukkan manfaat dari ekstrak *neem bark* (NBE) pada peradangan saraf yang disebabkan oleh *Mouse Hepatitis Virus* (MHV) yaitu dengan mencegah penyebaran virus dari sel ke sel (Sarkar *et al.*, 2020). Tanaman nimba (*Azadirachta indica* A. Juss) juga memiliki potensi

aktivitas antivirus terhadap virus *dengeu* (demam berdarah) (Dwivedi *et al*, 2016). Aktivitas antivirus pada daun mimba disinyalir karena adanya flavonoid, terpenoid dan glikosida pada daun mimba. Berdasarkan penemuan diatas, maka perlu dilakukan prediksi dari senyawa golongan terpenoid pada tanaman mimba dengan melihat sifat fisikokimia, docking molekuler dan toksisitas dari senyawa *6-Deacetylnimbin*, *nimbin*, *nimbolide*, *nimbinene*, *nimbidiol*, dan *nimbione* dengan metode *in silico*.

Senyawa *6-Deacetylnimbin*, *nimbin*, *nimbolide*, *nimbinene*, *nimbidiol*, dan *nimbione* dilakukan prediksi sifat fisikokimia menggunakan aplikasi SwissADME dengan menggunakan kode SMILES. Parameter sifat fisikokimia dilihat berdasarkan Hukum Lima Lipinski yaitu berat molekul (BM), logaritma koefisien partisi oktanol/air (*log P*), jumlah ikatan antar atom yang dapat berotasi (Torsion), *Hydrogend Bond Donor* (HBD), *Hydrogend Bond Acceptor* (HBA). Untuk mengetahui toksisitas senyawa akan dikategorikan berdasarkan kelas toksistas dengan mengetahui nilai LD_{50} , *Hepatotoxicity*, *Skin sensitization* dan *Ames toxicity*.

Senyawa *6-Deacetylnimbin*, *nimbin*, *nimbolide*, *nimbinene*, *nimbidiol*, dan *nimbione* pada *molecular docking* digunakan sebagai ligan dan reseptor yang digunakan adalah *RNA-dependent RNA polymerase* (RdRp) (PDB ID 7BV2). Penyiapan ligan dilakukan dengan aplikasi menggunakan *Chem Bio Draw Ultra* versi 19.0 dan *Chem Bio 3D Ultra* versi 19.0. Selanjutnya dilakukan *docking* dari ligan terhadap reseptor tersebut. Perbedaan tempat reseptor akan menimbulkan nilai afinitas, nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD), ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, interaksi elektrostatik, jarak ikatan dan interaksi residu asam amino. Dari hasil tersebut

dapat diketahui aktivitas dari senyawa uji dalam senyawa terpenoid tanaman mimba pada antivirus SARS-CoV-2 yang diharapkan dapat berpotensi menghambat replikasi virus dari reseptor RdRp (7BV2).

3.2 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kerangka konsep diatas dapat dirumuskan hipotesis yaitu senyawa golongan terpenoid (*6-Deacetylnimbin*, *nimbin*, *nimbolide*, *nimbinene*, *nimbidiol*, dan *nimbione*) dari tanaman Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) memiliki interaksi residu asam amino yang hampir sama dengan remdesivir, nilai afinitas yang baik dan senyawa golongan terpenoid dari tanaman mimba memenuhi hukum lima lipinski serta senyawa tidak toksik.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan yaitu penelitian *pre experimental design* berbasis komputer secara *in silico* dari senyawa golongan terpenoid pada tanaman *Azadirachta indica* A. Juss. (Mimba) yaitu *6-Deacetylnimbin*, *nimbin*, *nimbolide*, *nimbinene*, *nimbidiol*, dan *nimbione* terhadap reseptor *RNA-dependent RNA polymerase* (RdRp) (PDB ID: 7BV2) menggunakan *Chem Bio Draw Ultra* versi 19.0, *Chem 3D Ultra* versi 19.0, *Discovery Studio Visualizer*, *AutoDock Vina*, *AutoDock Tools*, *PyMol*, *SwissADME*, *pkCSM Online Tool*, *Prottox II Online Tool* dan Microsoft Excel 2013.

4.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Februari sampai April 2021 bertempat di Gedung Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

4.3 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.3.1 Variabel Penelitian

a. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah senyawa golongan terpenoid pada tanaman *Azadirachta indica* A. Juss. (Mimba) yaitu *6-Deacetylnimbin*, *nimbin*, *nimbolide*, *nimbinene*, *nimbidiol*, dan *nimbione* dan senyawa pembanding yaitu Remdesivir.

b. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah nilai RMSD, nilai afinitas, ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, interaksi elektostatik, jarak ikatan, interaksi residu asam amino, berat molekul (BM), logaritma koefisien partisi oktanol/air (Log P), *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA), *Hydrogen Bond Donor* (HBD), jumlah ikatan atom yang dapat berotasi (Torsion), LD₅₀, *Skin Sensitization*, *Ames toxicity* dan *Hepatotoxicity*.

c. Variabel Kontrol

Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah reseptor *RNA-dependent RNA polymerase* (RdRp) (PDB ID: 7BV2), *Chem Bio Draw Ultra* versi 19.0, *Chem 3D Ultra* versi 19.0, *Discovery Studio Visualizer*, *Autodock Vina*, *Autodock Tools*, PyMol, *SwissADME*, *pkCSM Online Tool*, *Protox II Online Tool* dan Microsoft Excel 2013.

4.3.2 Definisi Operasional

a. Parameter Uji Fisikokimia

Parameter uji fisikokimia meliputi hukum 5 Lipinski yang terdiri atas :

1. Berat Molekul (BM) : berat tiap atom yang didasarkan pada struktur kimianya dan tidak memperhitungkan kompleksitas, ukuran atau bentuk molekulnya (Chagas *et al.*, 2018). Rentang BM : ≤ 500 Da (Lipinski, 2004) 130 – 725 g/mol (Chander *et al.*, 2017).

2. Log P : indeks lipofilisitas atau hidrofobisitas, dinyatakan sebagai log (kelarutan dalam oktanol) atau (kelarutan dalam air murni) (Lipinski, 2001). Rentang : $\leq +5$ (Lipinski, 2004) -2 sampai +6,5 (Chander *et al.*, 2017).
3. *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA) : ikatan hidrogen (H) akseptor. Rentang : ≤ 10 (Lipinski, 2004) 2 – 20 (Chander *et al.*, 2017).
4. *Hydrogen Bond Donor* (HBD) : ikatan hidrogen (H) donor. Rentang : ≤ 10 (Lipinski, 2004) 2 – 20 (Chander *et al.*, 2017).
5. Torsion : ikatan antar atom yang dapat berotasi.

b. Parameter Prediksi Toksisitas

Parameter prediksi toksisitas menggunakan *pkCSM Online Tool* dan *Protox II*

Online Tool meliputi :

1. LD₅₀ : Dosis yang mempunyai efek mematikan pada 50% hewan uji (Hodgson, 2010) dalam dosis tunggal atau berulang dalam 24 jam, dan kemudian diamati selama 14 hari (BPOM RI, 2014).
2. *Skin Sensitization* : Uji ini dilakukan untuk mengetahui sensitivitas kulit terhadap suatu zat (Wang *et al.*, 2017).
3. *Ames toxicity* : Uji ini dilakukan untuk mengevaluasi potensi mutagenik suatu senyawa dengan menggunakan bakteri (Kesuma dkk, 2018).
4. *Hepatotoxicity* : Uji ini dilakukan untuk menentukan apakah sel hati mengalami kerusakan oleh senyawa yang toksik (Juliarta dkk, 2018).

c. Parameter Molekular Docking

Parameter molekular docking meliputi :

1. Ligan : molekul kecil yang berinteraksi dengan protein (reseptor) pada tempat tertentu kimiawi (Rye *et al.*, 2017).
2. Reseptor : molekul protein yang terletak di permukaan dalam atau permukaan sel target, yang fungsinya untuk menerima sinyal kimiawi (Rye, *et al.*, 2017).
3. Root Mean Square Deviation (RMSD) : parameter validasi digunakan untuk mengukur dua pose struktur dengan membandingkan posisi atom antara struktur eksperimental dan struktur yang di-docking pada protein (Lestari, 2015). Nilai RMSD yang baik $< 2\text{\AA}$ (Sanyoto *et al.*, 2013).
4. Ikatan Hidrogen : ikatan yang dihasilkan karena interaksi atom hidrogen yang terikat secara kovalen dengan atom bermuatan negatif flour (F), nitrogen (N), oksigen (O) (Arwansyah dkk, 2014).
5. Interaksi Hidrofobik : interaksi hidrofobik adalah interaksi yang menghindari lingkungan cair dan cenderung berkumpul dalam struktur globular dari protein (Lin & Brasseur, 1995). Pembentukan dari ikatan hidrofobik dapat meminimalkan interaksi yang terjadi antara residu non-polar dan air (Arwansyah dkk, 2014)
6. Interaksi Elektrostatik : Interaksi disebabkan oleh perbedaan polaritas antar atom (Sharp dan Honis, 1990).
7. Jarak antar ikatan : Jarak interaksi antara dua atom yang terikat (Lodish *et al.*, 2000).
8. Interaksi residu asam amino : Interaksi ini digunakan untuk mengetahui interaksi antara ligan dan residu asam amino pada protein (reseptor)

(Arwansyah dkk, 2014). Residu asam amino adalah asam amino dalam protein (Murray *et al.*, 2000).

4.4 Alat dan Bahan Penelitian

4.4.1 Alat

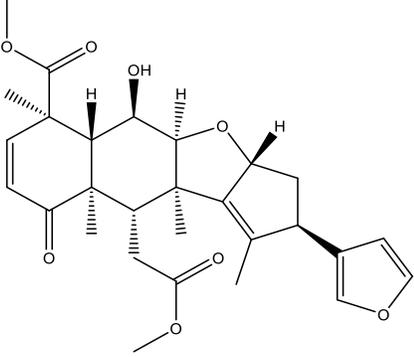
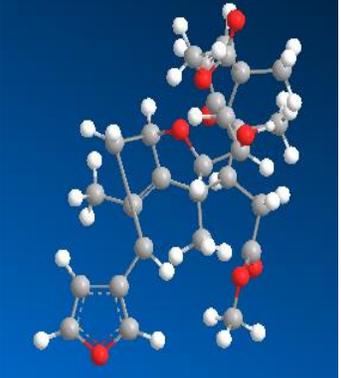
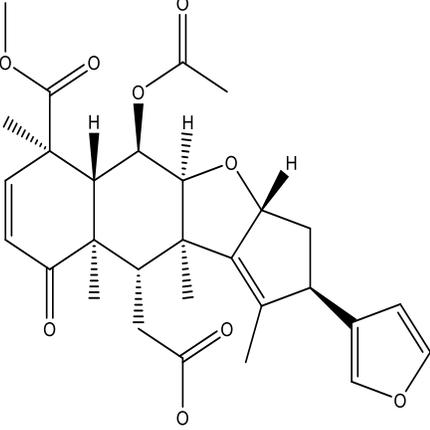
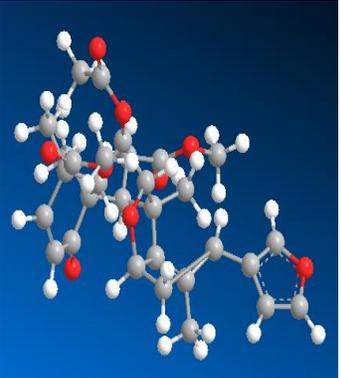
Alat yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan perangkat keras dan perangkat lunak. Perangkat keras berupa satu set Laptop Acer Aspire ES 14 dengan spesifikasi *processor* Intel® Celeron® N3350, RAM 2 GB dan *hard disk* 500 GB. Perangkat lunak berupa sistem operasi *Windows 10 pro*, *Chem Bio Draw* Ultra versi 19.0, *Chem 3D Ultra* versi 19.0, *AutoDock Vina*, *AutoDock Tools*, PyMol, pkCSM *Online Tool*, *Prottox II Online Tool*, Microsoft Excel 2013, dan *SwissADME*.

4.4.2 Bahan

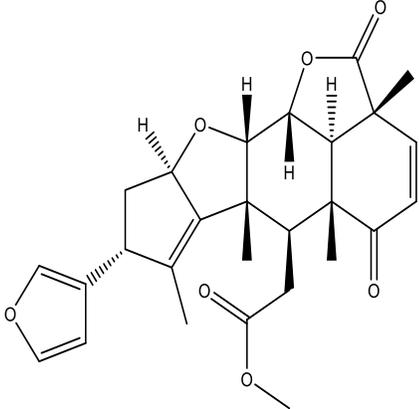
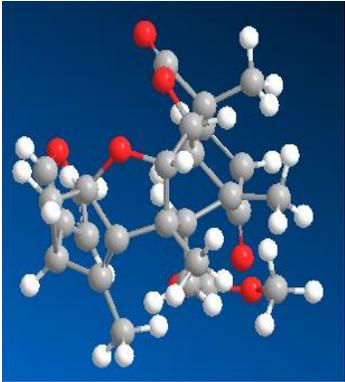
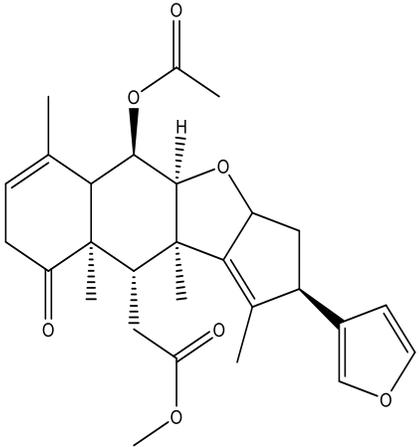
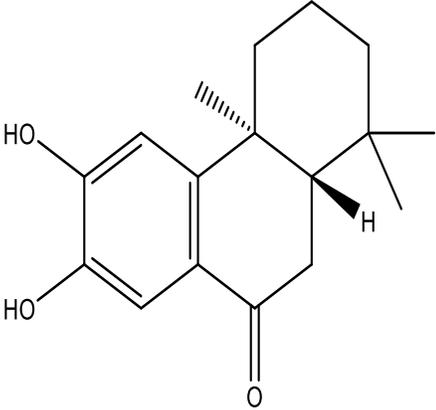
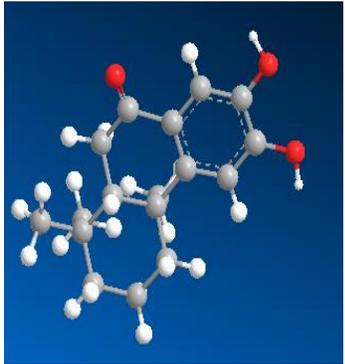
4.4.2.1 Struktur Senyawa

Senyawa golongan terpenoid pada tanaman *Azadirachta indica* A. Juss. (Mimba) yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *6-Deacetylnimbin*, *nimbin*, *nimbolide*, *nimbinene*, *nimbidiol*, dan *nimbione* serta senyawa pembanding yaitu Remdesivir.

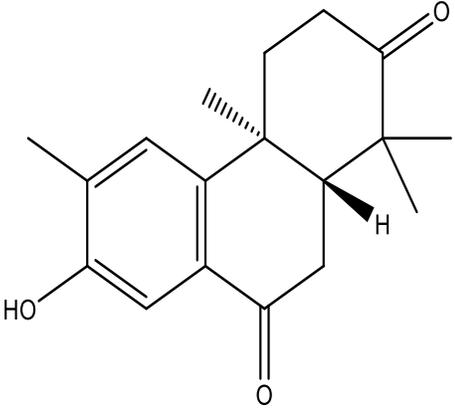
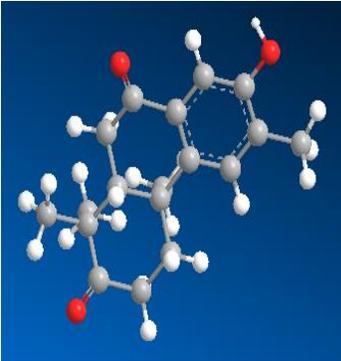
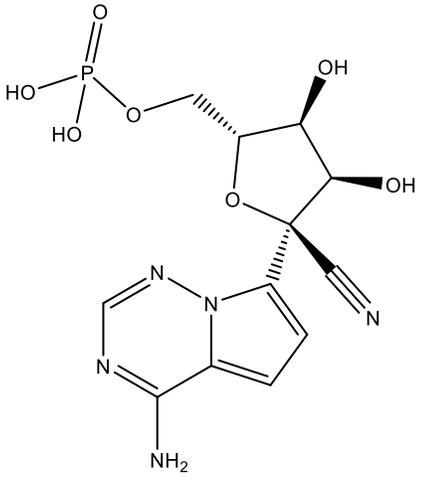
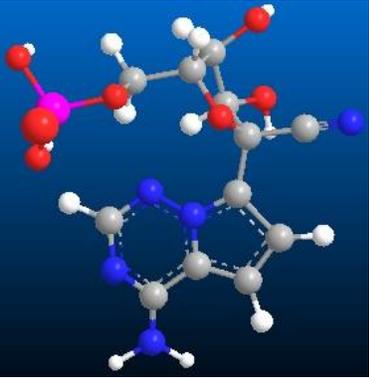
Tabel 4.1 Struktur Senyawa Golongan Terpenoid tanaman Mimba dan Senyawa Pembanding Remdesivir

Ligan (Senyawa)	Struktur 2D	Struktur 3D
6- <i>Deacetylnimbin</i>		
<i>Nimbin</i>		

Lanjutan Tabel 4.1

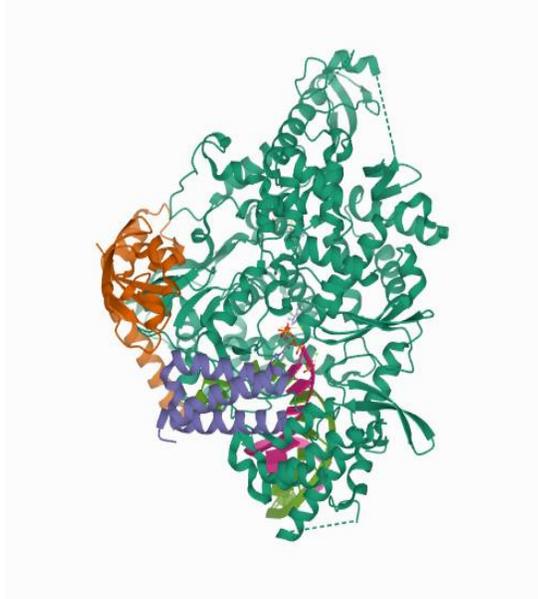
<i>Nimbolide</i>	 <p>Chemical structure of Nimbolide, a complex polycyclic molecule with multiple stereocenters, a furan ring, and a methoxy group.</p>	 <p>3D ball-and-stick model of Nimbolide, showing the spatial arrangement of atoms (carbon in grey, oxygen in red, hydrogen in white).</p>
<i>Nimbinene</i>	 <p>Chemical structure of Nimbinene, a complex polycyclic molecule with multiple stereocenters, a furan ring, and a methoxy group.</p>	 <p>3D ball-and-stick model of Nimbinene, showing the spatial arrangement of atoms (carbon in grey, oxygen in red, hydrogen in white).</p>
<i>Nimbidiol</i>	 <p>Chemical structure of Nimbidiol, a complex polycyclic molecule with multiple stereocenters, a furan ring, and a methoxy group.</p>	 <p>3D ball-and-stick model of Nimbidiol, showing the spatial arrangement of atoms (carbon in grey, oxygen in red, hydrogen in white).</p>

Lanjutan Tabel 4.1

<i>Nimbione</i>	 <p>The chemical structure of Nimbione is a complex polycyclic molecule. It features a central benzene ring fused to a six-membered ring containing a ketone group (C=O) and a hydroxyl group (OH). This is further fused to another six-membered ring with a ketone group (C=O) and a methyl group. A side chain consisting of a six-membered ring with a ketone group (C=O) and a methyl group is attached to the central structure. Stereochemistry is indicated with wedges and dashes.</p>	 <p>A 3D ball-and-stick model of Nimbione, showing the spatial arrangement of atoms. Carbon atoms are represented by grey spheres, oxygen by red, and hydrogen by white. The model illustrates the complex three-dimensional structure of the molecule.</p>
Remdesivir	 <p>The chemical structure of Remdesivir is a nucleoside analog. It consists of a ribose sugar ring with a phosphate group (HO-P(=O)(OH)-O-) at the 5' position, a cyano group (-C≡N) at the 2' position, and a nucleobase at the 1' position. The nucleobase is a fused bicyclic system consisting of a pyrimidine ring and an imidazole ring, with an amino group (-NH₂) at the 6-position of the pyrimidine ring. Stereochemistry is indicated with wedges and dashes.</p>	 <p>A 3D ball-and-stick model of Remdesivir, showing the spatial arrangement of atoms. Carbon atoms are grey, oxygen is red, nitrogen is blue, and hydrogen is white. The model highlights the complex structure of the nucleoside analog, including the phosphate group and the fused nucleobase.</p>

4.4.2.2 Struktur Reseptor 7BV2

Struktur *RNA-dependent RNA polymerase* (RdRp) (PDB ID: 7BV2) yang berasal dari SARS-CoV-2 dapat diunduh dari situs *protein data bank* (PDB) <https://www.rcsb.org/structure/7BV2>.

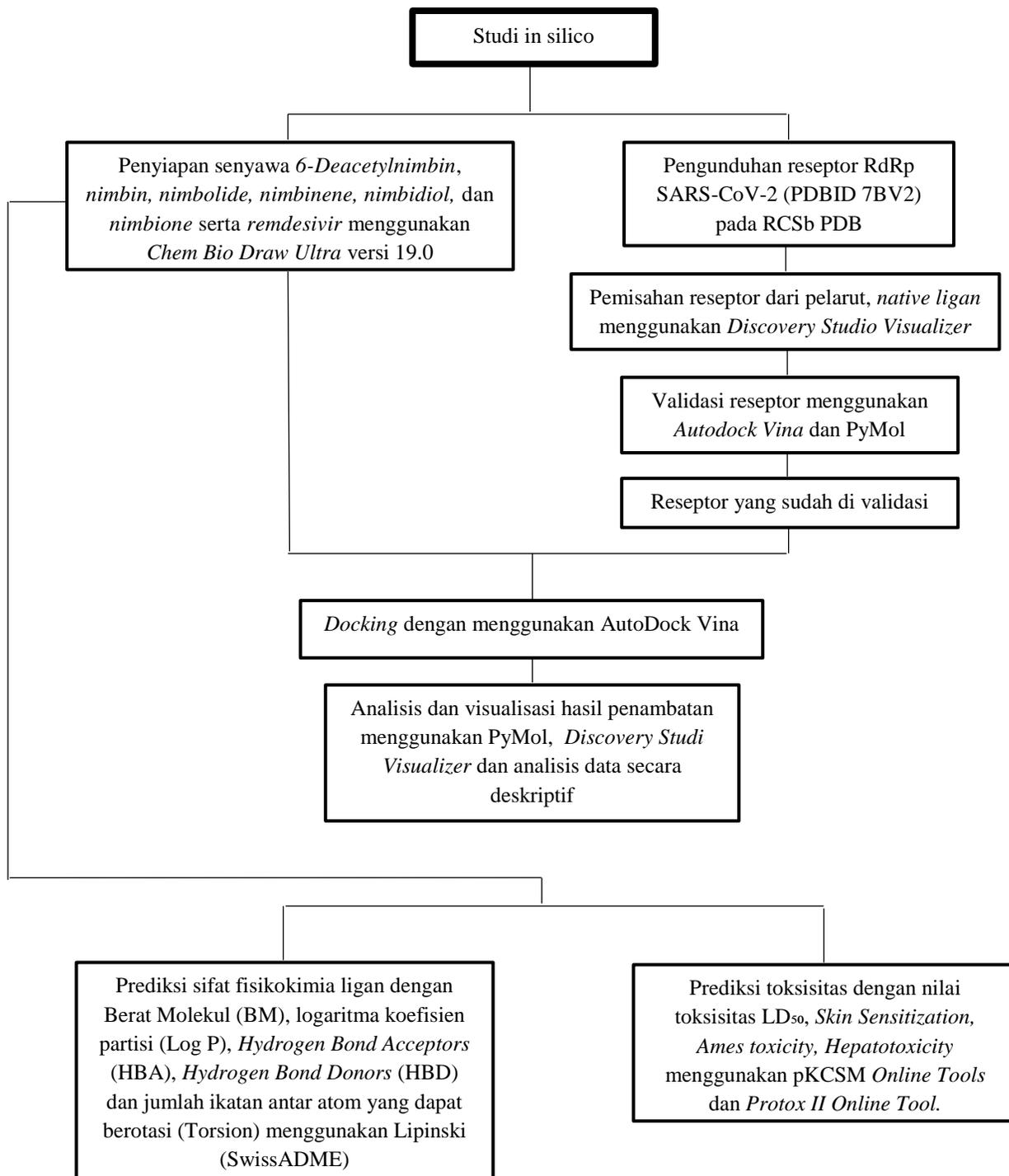


Gambar 4.1 Struktur *RNA-dependent RNA polymerase* (RdRp) (PDB ID: 7BV2)

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

4.5 Prosedur Penelitian

4.5.1 Skema Kerja Penelitian



Gambar 4.2 Bagan Kerja Skema Penelitian

4.5.2 Prosedur Kerja

4.5.2.1 Skrining Senyawa

Berikut adalah langkah yang dilakukan dalam skrining senyawa yaitu:

1. Digunakan aplikasi *Chem Bio Draw Ultra* versi 19.0 untuk menggambar struktur molekul 2D *6-Deacetylnimbin*, *nimbin*, *nimbolide*, *nimbinene*, *nimbidiol*, dan *nimbione*.
2. Disalin kode SMILES dari setiap senyawa dan kemudian gunakan aplikasi online *SwissADME* untuk skrining senyawa.
3. Dipilih senyawa yang memenuhi hukum lima Lipinski.

4.5.2.2 Preparasi Ligan

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

1. Digunakan aplikasi *Chem 3D Ultra* versi 19.0 untuk mengubah struktur molekul 2D senyawa *6-Deacetylnimbin*, *nimbin*, *nimbolide*, *nimbinene*, *nimbidiol*, dan *nimbione* ke dalam struktur 3D dengan cara klik *view*, klik *show chem 3D hotlink window* kemudian klik *launch chem 3D*.
2. Digunakan *Chem 3D Ultra* versi 19.0 untuk melakukan minimalisasi energi sebanyak 3 kali pada setiap struktur senyawa 3D dengan cara klik *calculation*, klik *MMF94*, klik *perform MMF94 minimization*, klik *run*.
3. Disimpan struktur senyawa 3D dalam format file PDB.
4. Digunakan aplikasi *MGLTools* untuk mengubah format file *.pdb* senyawa yang diuji menjadi format *.pdbqt*

4.5.2.3 Preparasi Protein

Berikut langkah yang dilakukan dalam preparasi protein yaitu:

1. Diunduh reseptor (protein) RdRp SARS-CoV-2 di website RCSB PDB (<https://www.rcsb.org/structure/7BV2>) dengan kode PDBid: 7BV2 dalam format PDB.
2. Digunakan aplikasi *Discovery Studio Visualizer* untuk memisahkan struktur protein dari pelarut, *native ligand*, atau residu non-standar. Caranya adalah dengan mengklik *file* lalu *open*, cari folder tempat file reseptor yang ingin dipisahkan dan tampilan struktur protein tiga dimensi akan ditampilkan. Rantai molekul, *native ligand* dan residu yang tidak diperlukan dihilangkan dengan cara klik, klik *water/ligand/protein chains* kemudian di klik *remove*. File reseptor disimpan menggunakan format *.pdb*.
3. Dipisahkan *native ligand* dari struktur protein untuk validasi reseptor menggunakan *Discovery Studio Visualizer*. Caranya yaitu klik *file* lalu *open*, cari folder tempat file reseptor yang ingin dipisahkan dan tampilan struktur protein tiga dimensi akan ditampilkan. Kemudian dihilangkan protein (asam amino) dan pelarut yang tidak diinginkan dengan mengklik *water/protein chains* lalu klik *remove*. File *native ligand* disimpan menggunakan format *.pdb*.
4. Dipreparasi protein yang telah dihilangkan dari residu yang tidak dibutuhkan serta *native ligand* pada MGLTools. Lalu disimpan dalam format *.pdbqt*

4.5.2.4 Penentuan Binding Site dan Grid Box

Berikut langkah yang dilakukan dalam penentuan binding site dan grid box yaitu:

1. Digunakan aplikasi *Discovery Studio Visualizer* untuk membuka reseptor (protein) RdRp SARS-CoV-2 dengan kode PDBid : 7BV2 yang sudah diunduh. Caranya yaitu klik *file* lalu *open*, cari folder tempat file reseptor yang ingin dipisahkan dan tampilan struktur protein tiga dimensi akan ditampilkan.
2. Ditentukan binding site reseptor dengan mengklik *define and edit binding site* lalu klik *from receptor cavities* untuk melihat cavity reseptor. Kemudian klik *from PDB site records* untuk melihat binding site berdasarkan website PDB. Selanjutnya, klik residu asam amino sesuai literatur lalu klik *from current selection*. Setelah itu, klik *native ligand* dan klik *from current selection*. Lalu pilih cavities dan binding site yang terdapat 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 lalu dimasukkan file reseptor dan *native ligand* kemudian di 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:

1. Dibuka aplikasi *Autodock Vina* kemudian lakukan re-docking reseptor dengan *native ligan* untuk validasi reseptor.
2. Dibuka aplikasi *CMD* lalu 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 -cpu4* selanjutnya ditunggu hingga proses docking selesai.
4. Diulangi docking sebanyak 3 kali.
5. Dianalisa hasil docking dengan menggunakan PyMol untuk menghitung nilai RMSD antara *native ligan* yang tidak di docking dan *native ligan* hasil re-docking.

4.5.2.6 Penambatan Ligan-Protein

Berikut langkah yang dilakukan dalam penambatan ligan-protein yaitu:

1. Digunakan aplikasi *Autodock Vina* untuk melakukan docking reseptor dengan ligan (struktur senyawa 3D yang sudah diskining).
2. Dibuka aplikasi *CMD*, lalu klik *vina.exe* dicari folder tempat file reseptor yang sudah 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 -cpu4* selanjutnya ditunggu hingga proses docking selesai.

4. Diulangi docking sebanyak 3 kali.
5. Disimpan senyawa hasil docking dalam format .pdbqt.

4.5.2.7 Analisa dan Visualisasi

Hasil docking bisa dilihat di *output* (dalam bentuk tabel) pada aplikasi *Autodock Vina*. Hasil *docking* dilakukan dengan memilih ligan yang memiliki energi ikatan terendah, nilai ikatan dapat dilihat dalam tabel “energy affinity”. Lalu gunakan *Discovery Studio Visualizer* untuk memvisualisasikan interaksi ligan-protein dalam 2D dan 3D.

4.5.2.8 Prediksi Toksisitas

Toksisitas senyawa diprediksi dengan menggunakan program *Chem Bio Draw Ultra* versi 19.0 untuk menggambar struktur molekul 2D. Lalu senyawa sebagai kandidat kuat bahan obat diubah ke dalam format SMILES, kemudian diproses senyawa tersebut menggunakan *pkCSM Online Tools* dan *Protox II Online Tool* untuk memprediksi toksisitas senyawa berdasarkan LD_{50} , *Skin Sensitization*, *Hepatotoxicity*, dan *Ames Toxicity*.

4.6 Analisa Data

Analisis data dilakukan berdasarkan hasil dari uji sifat fisikokimia, *docking molecular* dan prediksi toksisitas. Sifat fisikokimia diukur menurut hukum lima Lipinski dimana aturan-aturan yang ditetapkan yaitu 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). Hasil akan dipaparkan dalam bentuk tabel. Prediksi toksisitas

berdasarkan parameter LD_{50} , *Hepatotoxicity*, *Skin sensitization* dan *Ames Toxicity*. Analisa data dari hasil docking pertama dengan validasi antara reseptor dan *native ligand* ditentukan dengan melihat nilai RMSD. RMSD adalah parameter yang digunakan untuk mengevaluasi kesesuaian parameter proses docking yang menggambarkan seberapa besar perubahan konformasi ligan natural sebelum dan sesudah validasi. Validasi reseptor dikatakan valid apabila nilai $RMSD < 2 \text{ \AA}$ (Cole dkk., 2005). Setelah validasi reseptor mencapai hasil yang sesuai dilakukan analisis data pada senyawa uji dan pembanding Remdesivir. Analisis data dilakukan berdasarkan parameter docking meliputi nilai afinitas, ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, interaksi elektrostatik, jarak ikatan, dan interaksi residu asam amino. Semua pengujian dilakukan replikasi sebanyak 3 kali untuk mendapatkan hasil yang lebih valid. Hasil yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel. Analisa dilakukan secara deskriptif untuk mengetahui perbedaan nilai afinitas dan interaksi residu asam amino senyawa uji dengan senyawa pembanding.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan secara studi *in silico*. Studi *in silico* termasuk kemajuan bidang teknologi pada zaman sekarang ini, studi ini dilakukan dengan menggunakan metode komputasi dimana dilakukannya pengujian senyawa obat untuk penemuan obat baru. Pada penelitian ini dilakukan studi *in silico* terhadap senyawa golongan terpenoid pada tanaman mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) yaitu *6-deacetylnimbin*, *nimbin*, *nimbolide*, *nimbinene*, *nimbidiol* dan *nimbione*. Diketahui bahwasannya pada daun mimba disinyalir mempunyai aktivitas antivirus karena adanya flavonoid, terpenoid dan glikosida (Sukrasno, 2003). Senyawa *6-deacetylnimbin*, *nimbin*, *nimbolide*, *nimbinene* merupakan salah satu senyawa golongan terpenoid yaitu senyawa triterpenoid (Pranoto dan Diana, 2019) sedangkan senyawa *nimbidiol* dan *nimbione* merupakan salah satu senyawa golongan terpenoid yaitu senyawa diterpenoid (Kiranmai *et al.*, 2011).

Studi *in silico* yang dilakukan antara lain untuk memprediksi sifat fisikokimia, toksisitas, dan mengetahui gambaran interaksi senyawa dengan reseptor. Uji yang dilakukan pada penelitian ini adalah uji nilai afinitas, RMSD, ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, interaksi elektrostatik, jarak ikatan, interaksi residu asam amino, prediksi sifat fisikokimia dan prediksi toksisitas senyawa golongan terpenoid pada tanaman mimba. Senyawa pada tanaman mimba yang dilakukan secara *in silico* ini diharapkan berpotensi menjadi kandidat terapi untuk penyakit COVID-19.

5.1 Pengunduhan Target Protein (Reseptor)

Langkah pertama yang dilakukan adalah mengunduh target protein (reseptor) RdRp SARS-CoV-2. Pengunduhan target protein (reseptor) melalui website RSCB PDB (*Protein Data Bank*) (<https://www.rcsb.org/>) dalam format .pdb. Protein reseptor RdRp SARS-CoV-2 yang digunakan yaitu dengan kode PDBid : 7BV2. Struktur ini memiliki tiga jenis subunit yang berbeda-beda. Pemilihan dan pengunduhan struktur tersebut dikarenakan di dalam struktur protein reseptor ini sudah mempunyai *native ligand* yaitu Remdesivir dimana Remdesivir termasuk obat antivirus serta terdapat jurnal yang telah diketahui active site / binding sitenya.

5.2 Preparasi Reseptor dan Ligan

5.2.1 Preparasi Protein (Reseptor)

Preparasi yang dilakukan dalam metode *in silico* adalah dengan menyiapkan protein target (reseptor) dan ligan (senyawa) (Sliwoski *et al.*, 2014). Pada tahap ini, protein (reseptor) yang akan digunakan yaitu protein RdRp SARS-CoV-2. Protein tersebut diunduh dalam bentuk tiga dimensi pada website RSCB PDB (*Protein Data Bank*) (<https://www.rcsb.org/>) dalam format .pdb. Identitas protein yang dipilih adalah 7BV2 untuk struktur *RNA-dependent RNA-polymerase*. Struktur dengan identitas 7BV2 memiliki 3 sub unit yaitu sub unit A, B dan C. Kualitas struktur 7BV2 yang diunduh tercantum pada tabel 5.1

Tabel 5.1 Struktur 7BV2 yang diunduh dari *Protein Data Bank*

Identitas	Sub Unit	Jenis Protein	Resolusi
7BV2	A	<i>RNA-dependent RNA-polymerase</i>	2.50 Å
	B	<i>Non-structural protein 8</i>	2.50 Å
	C	<i>Non-structural protein 7</i>	2.50 Å

Struktur 7BV2 pada tabel 5.1 merupakan struktur utuh dimana terdapat *native ligand*, molekul air maupun residu non standar. Pada penelitian ini, struktur 7BV2 yang dipilih untuk dilakukan *docking* adalah sub unit A yang berupa *RNA-dependent RNA-polymerase*. Pemilihan tersebut dikarenakan sebagian besar virus RNA memerlukan RdRp untuk replikasi dan transkripsi genom virus selain itu terdapat obat sintesis yang bekerja pada RdRp salah satunya yaitu Remdesivir (Neldi and Suhajarno, 2020). Pada pengunduhan melalui situs *Protein Data Bank*, reseptor yang merupakan struktur utuh tersebut harus dipisahkan atau dihilangkan *native ligand*, molekul air maupun residu non-standar menggunakan aplikasi *Discovery Studio Visualizer*. Tujuan *native ligand* dihilangkan karena ligand tersebut terikat pada sisi aktif reseptor sehingga dapat menghalangi ligan lain untuk berikatan, sedangkan tujuan molekul air dihilangkan agar tidak mengganggu proses *docking* dan residu-residu non standar yang dihilangkan merupakan nsp 7 dan nsp 8 (Lionta *et al.*, 2014, Yin *et al.*, 2020). Kemudian struktur tersebut disimpan dalam format .pdb.

Selanjutnya hasil dari struktur pemisahan dilakukan optimasi struktur makromolekul. Tahap optimasi ini dilakukan menggunakan aplikasi MGL Tools dengan dilakukan kembali penghilangan molekul air agar air tidak dapat berinteraksi dengan senyawa yang akan di *docking* kan dengan reseptor (Lemmon and Jens, 2013) dan menambahkan hidrogen untuk memunculkan atom hidrogen yang ada pada struktur sehingga ikatan hidrogen yang terbentuk dapat diamati (Yanuar, 2012) serta menambahkan *kollman charges* untuk menambahkan muatan pada residu asam amino yaitu energi elektrostatik (Kolina dkk., 2018). Kemudian reseptor ditambahkan *gasteiger charge* untuk menyesuaikan dengan lingkungan penambatan molekul (Huey *et al.*, 2012). Lalu struktur tersebut disimpan dalam format .pdbqt.



Gambar 5.1 Hasil Preparasi Reseptor 7BV2

(Sumber Dokumentasi Menggunakan Aplikasi *Discovery Studio Visualizer*)

5.2.2.1 Penentuan Binding Site dan Grid Box

Sebelum melakukan *docking* hal yang harus dilakukan terlebih dahulu adalah penentuan *binding site* dikarenakan protein memiliki wilayah pengikatan yang terbatas. Selain itu juga perlu dilakukan pengaturan *grid box* (ukuran). Pada penelitian ini untuk menentukan *binding site* dan *grid box* dilakukan menggunakan aplikasi *Discovery*

Studio Visualizer dan MGL Tools. Pada aplikasi *Discovery Studio Visualizer* dilakukan untuk menentukan cavity (tempat pengikatan) berdasarkan struktur dari situs *Protein Data Bank*, aplikasi *Discovery Studio Visualizer* dan jurnal penelitian sebelumnya. Menurut Dahab *et al* (2020) diketahui bahwa terdapat 5 ikatan hidrogen dengan Arg553 dan adanya ikatan lain dengan Asp623, Asn691, Leu759 dan Ser682 pada reseptor RdRp SARS-CoV-2 (PDBid : 7BV2) dimana ikatan tersebut membentuk interaksi residu asam amino dalam suatu protein dengan *native ligand* (Remdesivir). Penentuan *binding site* pada penelitian ini berdasarkan residu asam amino yang terletak disekitar *native ligand*, dimana posisi dari *native ligand* disinyalir sebagai sisi aktif dari reseptor (Yin *et al.*, 2020). Berdasarkan hal tersebut ditemukan cavity yang sesuai kemudian didapatkan ukuran center $x = 91.776$, $y = 91.56$ dan $z = 104.863$.

Langkah selanjutnya menentukan *grid box* menggunakan aplikasi MGL Tools. Penentuan *grid box* bertujuan untuk dapat menentukan ruang koordinat antara ligan dengan reseptor (Kolina dkk., 2018). Berdasarkan hasil MGL Tools didapatkan ukuran *grid box* sebesar $x = 8$, $y = 8$ dan $z = 10$. Hasil dari kedua tersebut yaitu penentuan *binding site* dan *grid box* disimpan dalam format .txt untuk proses tahap selanjutnya yaitu *docking*. Berikut daerah *binding site* ditunjukkan pada gambar 5.2

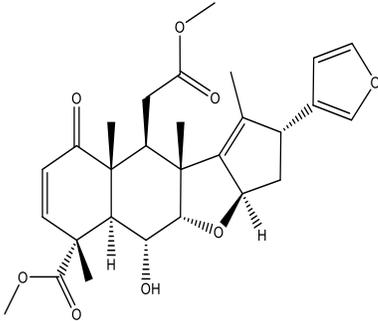
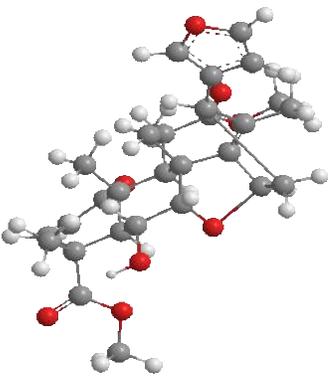


Gambar 5.2 Daerah *Binding site* Reseptor 7BV2 menggunakan *Discovery Studio Visualizer*

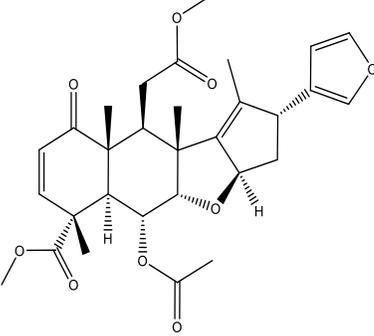
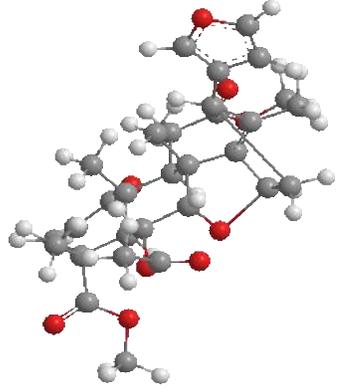
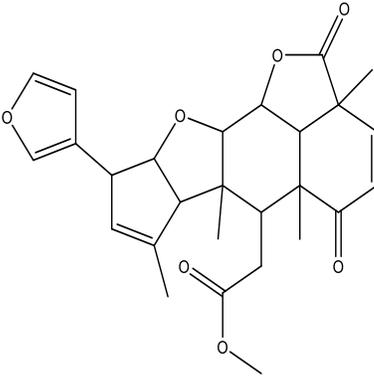
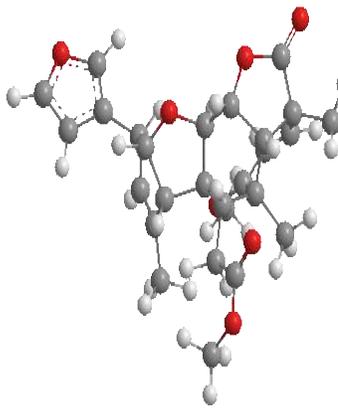
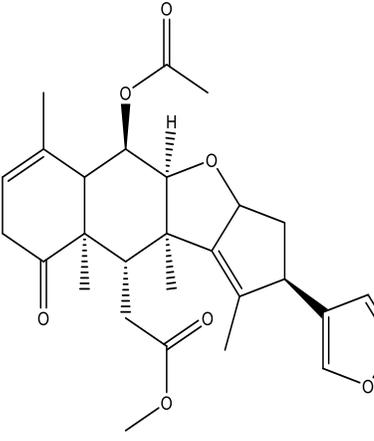
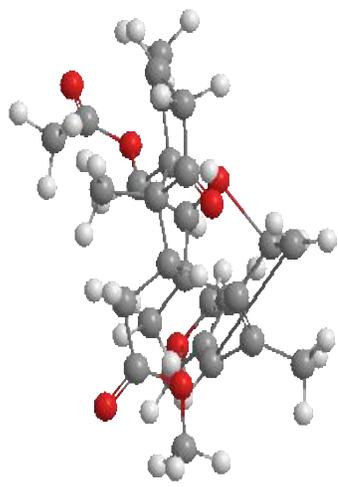
5.2.2 Preparasi Ligan

Ligan yang dipreparasi dalam penelitian ini adalah senyawa golongan terpenoid pada tanaman mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) yaitu *6-deacetylnimbin*, *nimbin*, *nimbolide*, *nimbinene*, *nimbidiol* dan *nimbione*, serta senyawa pembanding. Langkah awal yang harus dilakukan dalam preparasi ligan adalah dengan cara menggambar senyawa *6-deacetylnimbin*, *nimbin*, *nimbolide*, *nimbinene*, *nimbidiol* dan *nimbione* serta senyawa pembanding dengan menggunakan aplikasi *Chem 3D Ultra* versi 19.0, kemudian mengubah struktur molekul 2D ke dalam struktur 3D, tujuan dilakukan mengubah struktur molekul 2D ke dalam struktur 3D karena beberapa tahap *docking* harus menggunakan model struktur 3D. Berikut hasil struktur senyawa *6-deacetylnimbin*, *nimbin*, *nimbolide*, *nimbinene*, *nimbidiol* dan *nimbione* serta senyawa pembanding 2D dan 3D ditunjukkan pada tabel 5.2

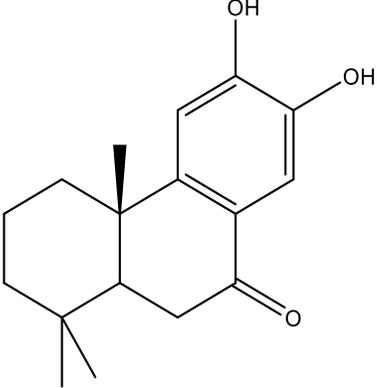
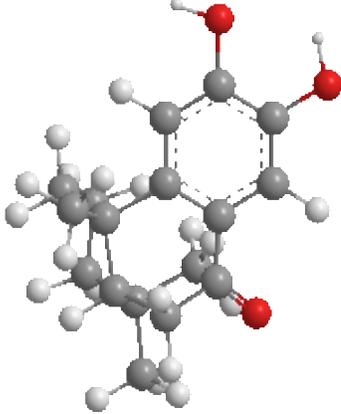
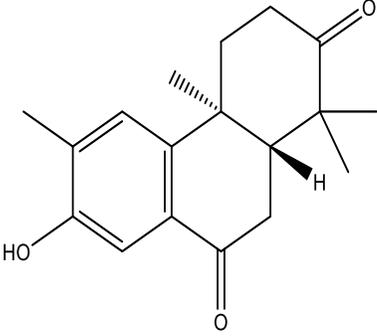
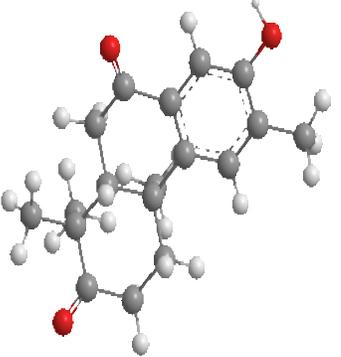
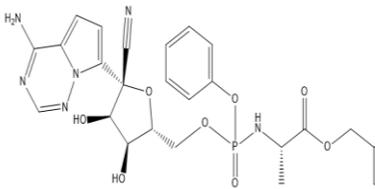
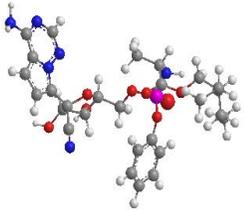
Tabel 5.2 Tabel Struktur Senyawa 2D dan 3D

No	Senyawa	2D	3D
1	<i>6-deacetylnimbin</i> (<i>methyl (1S,2R,3R,4R,8R,9S,10R,13R,15R)-13-(furan-3-yl)-2-hydroxy-9-(2-methoxy-2-oxoethyl)-4,8,10,12-tetramethyl-7-oxo-16-oxatetracyclo[8.6.0.0^{3,8}.0^{11,15}]hexadeca-5,11-diene-4-carboxylate</i>)		

Lanjutan Tabel 5.2

2	<p>Nimbin (methyl (1<i>S</i>,2<i>R</i>,3<i>R</i>,4<i>R</i>,8<i>R</i>,9<i>S</i>,10<i>R</i>,13<i>R</i>,15<i>R</i>)-2-acetyloxy-13-(furan-3-yl)-9-(2-methoxy-2-oxoethyl)-4,8,10,12-tetramethyl-7-oxo-16-oxatetracyclo[8.6.0.0^{3,8}.0^{11,15}]hexadeca-5,11-diene-4-carboxylate)</p>	 <p>The chemical structure of Nimbin is a complex polycyclic molecule. It features a central core with multiple fused rings, including a six-membered ring with a ketone group and a five-membered ring with an oxygen atom. Substituents include a furan ring, a methoxy group, and an acetyloxy group. Stereochemistry is indicated with wedges and dashes.</p>	 <p>A 3D ball-and-stick model of Nimbin, showing the spatial arrangement of atoms. Carbon atoms are represented by grey spheres, oxygen by red, and hydrogen by white. The model illustrates the complex, multi-ring structure and the orientation of various functional groups.</p>
3	<p>Nimbolide (methyl 2-[(1<i>R</i>,2<i>S</i>,4<i>R</i>,6<i>R</i>,9<i>R</i>,10<i>S</i>,11<i>R</i>,15<i>R</i>,18<i>R</i>)-6-(furan-3-yl)-7,9,11,15-tetramethyl-12,16-dioxo-3,17-dioxapentacyclo[9.6.1.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{15,18}]octadeca-7,13-dien-10-yl]acetate)</p>	 <p>The chemical structure of Nimbolide is a complex polycyclic molecule. It features a central core with multiple fused rings, including a six-membered ring with a ketone group and a five-membered ring with an oxygen atom. Substituents include a furan ring, a methoxy group, and an acetate group. Stereochemistry is indicated with wedges and dashes.</p>	 <p>A 3D ball-and-stick model of Nimbolide, showing the spatial arrangement of atoms. Carbon atoms are represented by grey spheres, oxygen by red, and hydrogen by white. The model illustrates the complex, multi-ring structure and the orientation of various functional groups.</p>
4	<p>Nimbinene (methyl 2-[(1<i>S</i>,2<i>R</i>,8<i>R</i>,9<i>S</i>,10<i>R</i>,13<i>R</i>)-2-acetyloxy-13-(furan-3-yl)-4,8,10,12-tetramethyl-7-oxo-16-oxatetracyclo[8.6.0.0^{3,8}.0^{11,15}]hexadeca-4,11-dien-9-yl]acetate)</p>	 <p>The chemical structure of Nimbinene is a complex polycyclic molecule. It features a central core with multiple fused rings, including a six-membered ring with a ketone group and a five-membered ring with an oxygen atom. Substituents include a furan ring, a methoxy group, and an acetate group. Stereochemistry is indicated with wedges and dashes.</p>	 <p>A 3D ball-and-stick model of Nimbinene, showing the spatial arrangement of atoms. Carbon atoms are represented by grey spheres, oxygen by red, and hydrogen by white. The model illustrates the complex, multi-ring structure and the orientation of various functional groups.</p>

Lanjutan Tabel 5.2

5	<p>Nimbidiol <i>((4a<i>S</i>,10a<i>S</i>)-6,7-dihydroxy-1,1,4a-trimethyl-3,4,10,10a-tetrahydro-2<i>H</i>-phenanthren-9-one)</i></p>		
6	<p>Nimbione <i>((4a<i>S</i>,10a<i>R</i>)-7-hydroxy-1,1,4a,6-tetramethyl-3,4,10,10a-tetrahydrophenanthrene-2,9-dione)</i></p>		
7	<p>Remdesivir (<i>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]methoxyphenoxyphosphoryl]amino]propanoate)</i>)</p>		

Dari tabel 5.2 didapatkan struktur 2D dan 3D dari senyawa *6-deacetylnimbin*, *nimbin*, *nimbolide*, *nimbinene*, *nimbidiol* dan *nimbione* serta senyawa pembanding, kemudian dilakukan minimalisasi energi sebanyak 3 kali pada setiap struktur senyawa 3D menggunakan aplikasi *Chem 3D Ultra* versi 19.0 dengan menggunakan metode

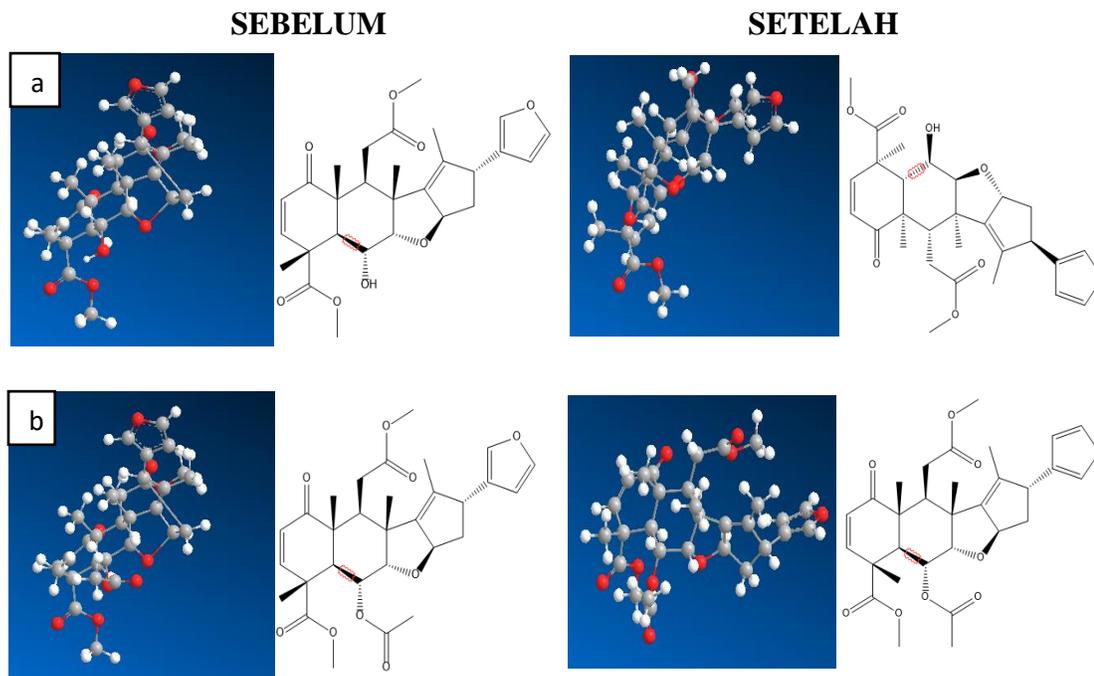
MMFF94 (*Merck Molecular Force Field*). MMFF94 (*Merck Molecular Force Field*) merupakan salah satu jenis persamaan minimalisasi energi yang sering digunakan pada senyawa organik. Dapat diketahui minimalisasi energi dengan menggunakan metode MMFF94 digunakan untuk menghitung energi potensial dan paramater lainnya seperti van der Waals dan elektrosatik (Hanif dkk., 2020). Tujuan dilakukan minimalisasi energi sebanyak 3 kali untuk mendapatkan hasil energi minimalisasi senyawa yang valid. Senyawa yang telah dioptimasi kemudian disimpan dalam format .pdb. selanjutnya senyawa tersebut dikonversi menjadi format .pdbqt. menggunakan aplikasi MGL Tools. Berikut hasil penentuan energi minimal ditunjukkan pada tabel 5.3

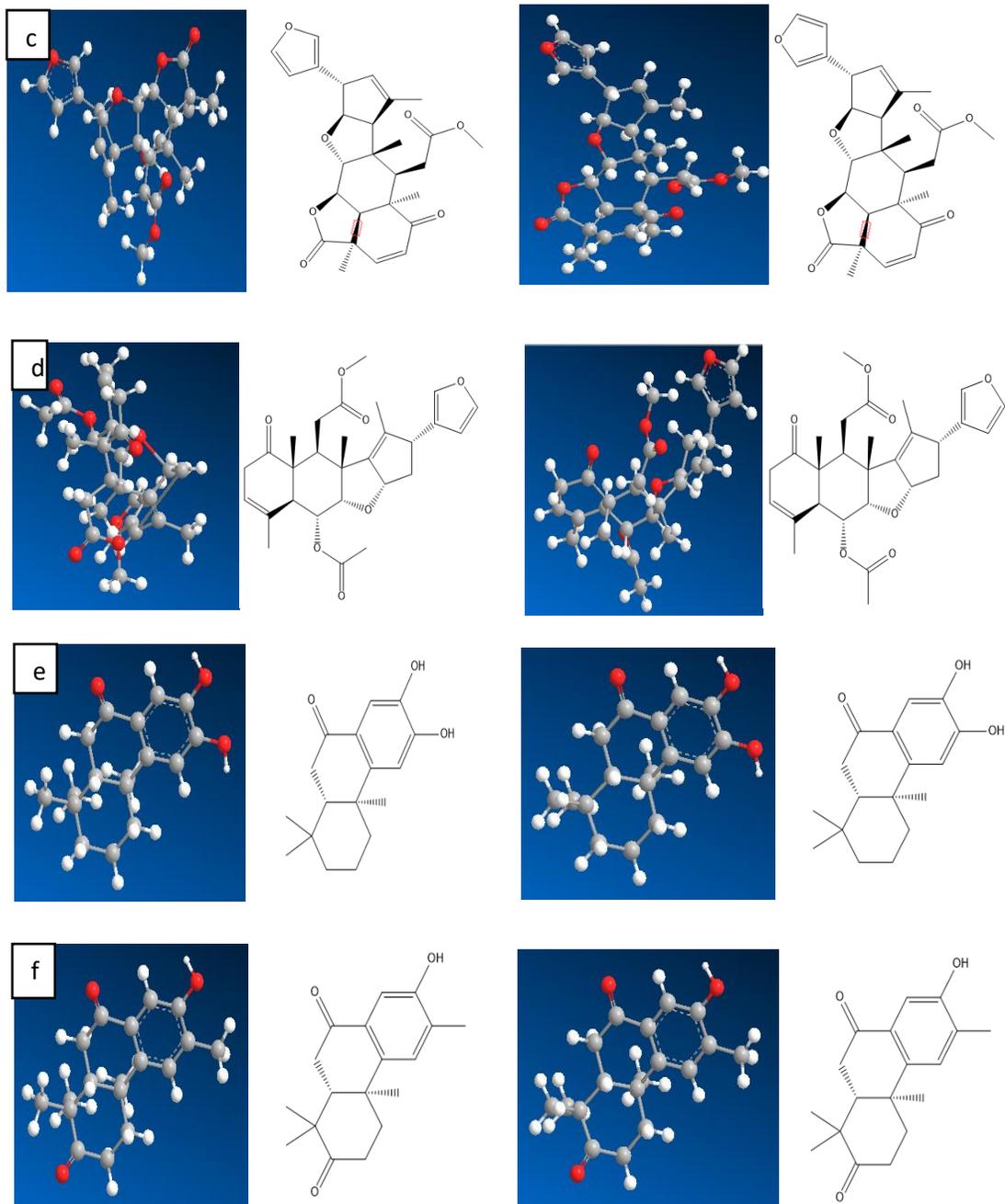
Tabel 5.3 Hasil penentuan energi minimal (kcal/mol) senyawa *6-deacetylnimbin*, *nimbin*, *nimbolide*, *nimbinene*, *nimbidiol* dan *nimbione* serta Remdesivir dengan MMFF94.

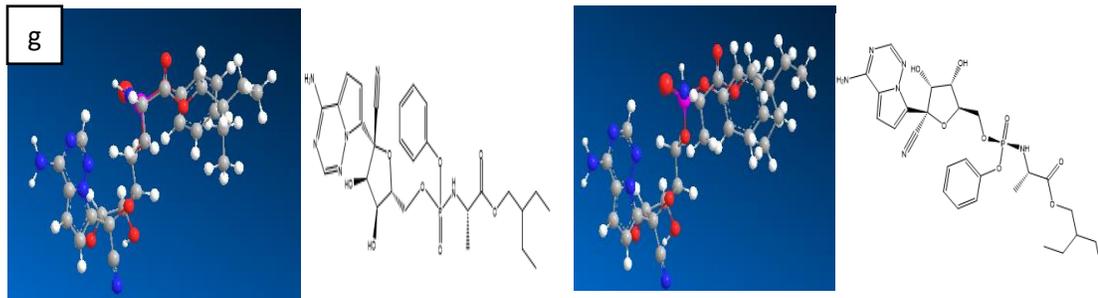
Senyawa	Energi Minimal (Kcal/mol)			Rerata (kcal/mol)
	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III	
<i>6-deacetylnimbin</i>	119.537 kcal/mol	118.2 kcal/mol	118.199 kcal/mol	118.645 kcal/mol
<i>Nimbin</i>	118.483 kcal/mol	116.98 kcal/mol	116.979 kcal/ml	117.481 kcal/mol
<i>Nimbolide</i>	146.666 kcal/mol	146.665 kcal/mol	146.665 kcal/mol	146.665 kcal/mol
<i>Nimbinene</i>	124.308 kcal/mol	124.308 kcal/mol	124.307 kcal/mol	124.308 kcal/mol
<i>Nimbidiol</i>	60.376 kcal/mol	60.376 kcal/mol	60.375 kcal/mol	60.376 kcal/mol
<i>Nimbione</i>	66.664 kcal/mol	66.664 kcal/mol	66.663 kcal/mol	66.664 kcal/mol
Remdesivir	-1.939 kcal/mol	-1.945 kcal/mol	-1.947 kcal/mol	-1.944 kcal/mol

Rerata energi minimal yang didapatkan pada senyawa *6-deacetylnimbin* adalah sebesar 118.645 kcal/mol, *nimbin* adalah sebesar 117.481 kcal/mol, *nimbolide* adalah

sebesar 146.665 kcal/mol, *nimbinene* adalah sebesar 124.308 kcal/mol, *nimbidiol* adalah sebesar 60.376 kcal/mol dan *nimbione* adalah sebesar 66.664 kcal/mol serta senyawa pembanding *remdesivir* adalah sebesar -1.944 kcal/mol. Energi tersebut adalah energi rata-rata seminimal mungkin dari bentuk stereokimia dan bentuk yang paling stabil untuk dilakukan *docking*. Proses dari minimalisasi energi ini dipengaruhi oleh jarak, sudut dan sudut torsi dari masing-masing senyawa sudah mendekati yang sebenarnya sehingga proses optimasi geometrinya berlangsung cepat. Hasil nilai optimasi merupakan nilai mutlak dimana tanda negatif pada senyawa *remdesivir* menunjukkan bahwa elektron terikat dalam atom karena tarikan intinya (Siregar, 2018). Berikut hasil optimasi senyawa uji ditunjukkan pada gambar 5.3







Gambar 5.3 Optimasi Senyawa Sebelum dan Setelah optimasi (a) 6-deacetylnimbin (b) Nimbin (c) Nimbolide (d) Nimbinene (e) Nimbidiol (f) Nimbione (g) Remdesivir (Sumber Dokumentasi Menggunakan Aplikasi ChemDraw 3D)

5.3 Prediksi Sifat Fisikokimia

Setelah melakukan *docking* perlu dilakukan pengecekan dari sifat-sifat ligan yang akan digunakan. Pengecekan tersebut dilakukan dengan prediksi sifat fisikokimia yang didasarkan dengan hukum lima Lipinski. Prediksi sifat fisikokimia dilakukan dengan menggunakan aplikasi online *SwissADME* dengan cara memasukkan kode SMILES dari setiap senyawa. Kode SMILES dibuat dengan menggunakan aplikasi *Chem Bio Draw Ultra* versi 19.0, lalu kode SMILES disalin dan ditempelkan pada kotak *code SMILES* dalam aplikasi online *SwissADME* untuk mendapatkan hasil skrining dari sifat fisikokimia senyawa. Berikut hasil kode SMILES dapat dilihat pada tabel 5.4

Tabel 5.4 Kode SMILES senyawa 6-deacetylnimbin, nimbin, nimbolide, nimbinene, nimbidiol dan nimbione serta Remdesivir.

Nama IUPAC	Kode SMILES
<p>6-deacetylnimbin (methyl (1S,2R,3R,4R,8R,9S,10R,13R,15R)-13-(furan-3-yl)-2-hydroxy-9-(2-methoxy-2-oxoethyl)-4,8,10,12-tetramethyl-7-oxo-16-oxatetracyclo[8.6.0.0^{3,8}.0^{11,15}]hexadeca-5,11-diene-4-carboxylate)</p>	<chem>O=C(OC)[C@@](C=CC1=O)(C)[C@@]2([H])[C@@]1(C)[C@@H](CC(OC)=O)[C@]([C@@H]([C@@H]2O)O[C@]3([H])C4)(C)C3=C(C)[C@@H]4C5=COC=C5</chem>
<p>Nimbin (methyl (1S,2R,3R,4R,8R,9S,10R,13R,15R)-2-acetyloxy-13-(furan-3-yl)-9-(2-methoxy-2-oxoethyl)-4,8,10,12-tetramethyl-7-oxo-16-oxatetracyclo[8.6.0.0^{3,8}.0^{11,15}]hexadeca-5,11-diene-4-carboxylate)</p>	<chem>O=C(OC)[C@@](C=CC1=O)(C)[C@]([C@@]1(C)[C@H]2CC(OC)=O)([H])[C@@H](OC(C)=O)[C@@H](O[C@]3([H])C4)[C@@]2(C)C3=C(C)[C@@H]4C5=COC=C5</chem>
<p>Nimbolide (methyl 2-[(1R,2S,4R,6R,9R,10S,11R,15R,18R)-6-(furan-3-yl)-7,9,11,15-tetramethyl-12,16-dioxo-3,17-dioxapentacyclo[9.6.1.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{15,18}]octadeca-7,13-dien-10-yl]acetate)</p>	<chem>COC(CC1C2(C(C3OC(C4(C=CC(C1(C34)C)=O)C)=O)OC5C(C6=COC=C6)C=C(C25)C)C)=O</chem>
<p>Nimbinene (methyl 2-[(1S,2R,8R,9S,10R,13R)-2-acetyloxy-13-(furan-3-yl)-4,8,10,12-tetramethyl-7-oxo-16-oxatetracyclo[8.6.0.0^{3,8}.0^{11,15}]hexadeca-4,11-dien-9-yl]acetate)</p>	<chem>O=C(OC)C[C@@H]1[C@@](C(C(C)=C2)[C@@H](OC(C)=O)[C@@]3([H])OC4[C@@H](C5=COC=C5)C(C)=C4[C@@]13C)(C)C2=O</chem>
<p>Nimbidiol (4aS,10aS)-6,7-dihydroxy-1,1,4a-trimethyl-3,4,10,10a-tetrahydro-2H-phenanthren-9-one)</p>	<chem>O=C1C2=C(C=C(O)C(O)=C2)[C@@]3(C)CCCC(C)(C)[C@]3([H])C1</chem>
<p>Nimbione (4aS,10aR)-7-hydroxy-1,1,4a,6-tetramethyl-3,4,10,10a-tetrahydrophenanthrene-2,9-dione)</p>	<chem>O=C(CC[C@]1(C)C2=C3C=C(O)C(C)=C2)C(C)(C)[C@]1([H])CC3=O</chem>
<p>Remdesivir ((2-ethylbutyl (2S)-2-[[[(2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-cyano-3,4-dihydroxyoxolan-2-yl]methoxyphenoxyphosphoryl]amino]propanoate)</p>	<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(CC)CC)=O</chem>

Parameter fisikokimia yang digunakan seperti Berat Molekul (BM), logaritma koefisien partisi oktanol/air (Log P), jumlah ikatan antar atom yang dapat berotasi (Torsion), *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA), dan *Hydrogen Bond Donors* (HBD). Parameter tersebut berdasarkan Hukum Lima Lipinski. Aturan Lipinski dapat menentukan sifat fisikokimia ligan untuk menentukan sifat hidrofobik atau hidrofilik suatu senyawa melalui membran sel oleh difusi pasif. Berat molekul yang melebihi 500 Da tidak dapat berdifusi melalui membran sel. Semakin besar nilai log P, maka semakin hidrofobik molekulnya. Molekul yang terlalu hidrofobik cenderung memiliki toksisitas yang lebih tinggi karena tetap berada di lapisan lipid bilayer lebih lama dan terdistribusi lebih luas di dalam tubuh, sehingga mengurangi selektivitas pengikatan pada enzim target. Nilai log P yang terlalu negatif juga tidak baik karena molekul tidak dapat melewati membran lipid bilayer. Jumlah donor dan akseptor ikatan hidrogen menggambarkan bahwa semakin tinggi kapasitas ikatan hidrogen maka semakin tinggi pula energi yang dibutuhkan untuk terjadinya proses absorpsi. Secara umum, aturan Lipinski menjelaskan kelarutan senyawa tertentu yang menembus membran sel melalui difusi pasif. Analisis hukum lima lipinski tersebut dapat digunakan untuk membuktikan bahwa senyawa yang diuji mudah diabsorpsi dan memiliki permeabilitas yang baik (Syahputra, 2014). Berikut hasil skrining sifat fisikokimia senyawa golongan terpenoid tanaman mimba serta senyawa pembanding pada tabel 5.5

Tabel 5.5 Hasil skrining sifat fisikokimia

Senyawa	Parameter Hukum Lima Lipinski					Penerapan Hukum Lima Lipinski
	BM	Log P	HBA	HBD	Torsion	
<i>6-deacetylnimbin</i>	498.56 g/mol	1.69	8	1	6	Ya (tidak ada penyimpangan)
<i>Nimbin</i>	540.60 g/mol	2.04	9	0	8	Ya (1 penyimpangan)
<i>Nimbolide</i>	466.52 g/mol	2.28	7	0	4	Ya (tidak ada penyimpangan)
<i>Nimbinene</i>	482.57 g/mol	2.48	7	0	6	Ya (tidak ada penyimpangan)
<i>Nimbidiol</i>	274.35 g/mol	2.59	3	2	0	Ya (tidak ada penyimpangan)
<i>Nimbione</i>	286.37 g/mol	2.48	3	1	0	Ya (tidak ada penyimpangan)
Remdesivir	602.58 g/mol	0.18	12	4	14	Tidak (3 penyimpangan)

Keterangan :

BM : Berat Molekul ≤ 500

Log P : Koefisien partisi ≤ 5

Σ HBA : Jumlah hidrogen aseptor ≤ 10

Σ HBD : Jumlah hidrogen donor ≤ 5

Torsion : Ikatan antar atom yang dapat berotasi ≤ 10

Dari tabel 5.5 menunjukkan bahwa senyawa golongan terpenoid tanaman mimba yaitu *6-deacetylnimbin*, *nimbin*, *nimbolide*, *nimbinene*, *nimbidiol* dan *nimbione* memenuhi Hukum Lima Lipinski. Sehingga dapat diprediksi bahwa senyawa golongan terpenoid tanaman mimba mudah diabsorpsi dan memiliki permeabilitas yang baik.

Sedangkan untuk senyawa pembanding yaitu *remdesivir* tidak memenuhi Hukum Lima Lipinski, dikarenakan *remdesivir* memiliki berat molekul lebih dari 500 g/mol, memiliki jumlah ikatan hidrogen aseptor lebih dari 10 dan memiliki jumlah ikatan antar atom yang dapat berotasi lebih dari 10 serta *remdesivir* merupakan obat sediaan injeksi sedangkan uji hukum lima lipinski digunakan untuk menentukan bioavaibilitas suatu obat secara oral. Hasil prediksi sifat fisikokimia dapat dilihat dari nilai log p, jumlah *hydrogen bond donor* dan jumlah *hydrogen bond acceptor*. Nilai log P berkaitan dengan lipofilisitas suatu senyawa (Rachmania *et al.*, 2015), dimana keberadaan substituen donor elektron menjadi sangat penting. Log P (logaritma koefisien partisi) dari suatu senyawa dapat dipengaruhi oleh panjangnya rantai karbon, jumlah substituen alkil (-CH₃) dan substituen *lone pairs* (-OH) (Czyrski and Kupczyk, 2013). Dengan demikian dapat diprediksi bahwa senyawa yang cenderung bersifat non polar akan membentuk interaksi hidrofobik dan senyawa yang bersifat polar akan membentuk ikatan hidrogen dengan asam amino reseptor melalui hidrogen donor dan hidrogen aseptor.

Berdasarkan hasil hukum lima lipinski semua senyawa uji mampu menembus membran karena memenuhi lima syarat yang ditentukan oleh Hukum lima lipinski. Lima syarat tersebut adalah senyawa uji memiliki berat molekul tidak lebih besar dari 500, nilai log koefisien partisi oktanol/air (log P) tidak lebih besar 5, torsion tidak lebih besar dari 10, mempunyai ikatan-H donor (HBD) yang dinyatakan dengan jumlah gugus O-H dan N-H tidak lebih besar 5 dan mempunyai ikatan-H aseptor (HBA) yang dinyatakan dengan jumlah atom O dan N tidak lebih besar 10 (Lipinski *et al.*, 1997).

Jika ke lima syarat tersebut tidak terpenuhi maka senyawa uji dikatakan tidak mampu menembus membran sel. Hal ini menjelaskan bahwa suatu proses di muka bumi ini akan berjalan lancar sesuai dengan ketentuannya (ukurannya). Sebagaimana firman Allah SWT dalam Surat Al-Qomar ayat 49 yang berbunyi :

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ (٤٩)

Artinya : “Sesungguhnya kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran”

Pada tafsir *Quraish Shihab* diterangkan bahwa “Sesungguhnya kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran yang sesuai dengan hikmah”, berdasarkan tafsir dan ayat tersebut dapat dipahami bahwa Allah SWT telah menciptakan segalanya dengan ukurannya masing-masing tidak ada yang kurang dan tidak ada yang lebih. Namun, karena ayat ini berbicara tentang segala sesuatu yang Allah miliki, maka adalah lebih cepat untuk memahaminya dalam arti ketentuan dan sistem yang ditetapkan terhadap segala sesuatu. Dengan kata lain, apapun yang tidak sesuai ukurannya maka akan sulit mencapai keseimbangan (Shihab, 2002).

5.4 Penambatan Ligand – Reseptor

Penambatan ligan dengan reseptor dilakukan dengan melalui teknik *Molecular Docking*. Pada dasarnya tujuan dari *molecular docking* ini adalah untuk memberikan prediksi antara reseptor dengan ligan menggunakan metode komputasi (Meng *et al.*, 2011). Umumnya, *molecular docking* dapat dilakukan dengan metode rigid *docking* dan fleksibel *docking*. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah fleksibel *docking*, karena metode rigid *docking* menyebabkan ligan mengalami rotasi yang

terbatas. Sedangkan fleksibel *docking* adalah metode umum yang sering dilakukan karena ikatan kompleks dan fleksibilitas konformasi antara ligan dan protein merupakan parameter utama untuk mengevaluasi afinitas *docking* (Sousa *et al.*, 2006).

Penambatan ligan – reseptor (*molecular docking*) dilakukan dengan menggunakan aplikasi Autodock Vina. Kelebihan dari aplikasi ini yaitu memiliki kecepatan yang lebih baik sehingga dapat memperpendek waktu *running* saat melakukan *docking* (Trott and Olson, 2010). Pada tahap ini, file hasil dari penyiapan protein dan ligan harus berformat .pdbqt. dan terletak pada satu folder yang sama. Program AutoDock Vina menggunakan fungsi *scoring* energi bebas ikatan sebagai parameternya. Proses ini dijalankan menggunakan bantuan command prompt dengan menginput kode tertentu dalam bentuk teks yang akan menampilkan suatu perintah sesuai dengan format tertentu dan kemudian dapat menghasilkan keluaran berupa energi bebas ikatan yang digambarkan dengan afinitas ikatan yang dihasilkan oleh interaksi antara ligan dan reseptor, hasil tersebut berupa energi terendah pada suatu pembentukan kompleks obat reseptor (Suharna, 2012). Berikut proses *docking* dengan program Autodock Vina ditunjukkan pada gambar 5.4

```

C:\Users\acer> Command Prompt - vina.exe --config grid.txt --cpu 4
C:\Users\acer\Documents\Nimbolide> dir
Volume in drive C has no label-
Volume Serial Number is E695-4376

Directory of C:\Users\acer\Documents\Nimbolide
04/28/2021 05:52 AM <DIR> .
04/28/2021 05:52 AM <DIR> ..
04/15/2021 05:50 AM <DIR> 212
03/19/2021 12:12 PM 664,922 Makromolekul.pdbqt
04/15/2021 05:47 AM 3,248 Nimbolide.pdbqt
3 File(s) 668,382 bytes
2 Dir(s) 84,139,143,168 bytes free

C:\Users\acer\Documents\Nimbolide> vina.exe --config grid.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 Nimbolide_out.pdbqt
Reading input ... done.
Setting up the scoring function ... done.
Analyzing the binding site ... done.
Using random seed: 122983169
Performing search ...
0% 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100%
|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
*****

```

Gambar 5.4 Proses *Docking* dengan Program AutoDock Vina

5.4.1 Validasi Metode Docking

Validasi metode penambatan (*docking*) dilakukan dengan metode *redocking*. Validasi ini dilakukan menggunakan aplikasi *AutodockVina* untuk mengetahui bahwa metode penambatan (*docking*) yang digunakan telah memenuhi persyaratan (Prasetiawati *et al.*, 2017). Validasi dilakukan dengan cara menambatkan ulang (*redocking*) *native ligand* dengan protein reseptor yang telah mengalami preparasi. Parameter dari validasi metode adalah nilai RMSD. RMSD merupakan jarak penyimpangan antara ikatan *native ligand* dengan protein setelah didocking dengan posisi *native ligand* sebelum didocking. Nilai RMSD juga disebut jarak ikatan (Rastini *et al.*, 2019). Semakin kecil nilai RMSD maka posisi ligan dapat diperkirakan semakin baik dikarenakan lebih mendekati konformasi aslinya (Lestari, 2015). Validasi reseptor dikatakan valid apabila nilai $RMSD < 2 \text{ \AA}$ (Cole dkk., 2005), sedangkan jika nilai $RMSD > 2 \text{ \AA}$ menunjukkan penyimpangan yang lebih besar dari hasil perhitungan (Ferwadi dkk., 2017) sehingga hasil dari interaksi antara ligan dengan reseptor tidak dapat dijadikan acuan (Saputri dkk., 2016). Validasi reseptor dilakukan replikasi sebanyak tiga kali. Reseptor yang digunakan pada penelitian ini yaitu RdRp SARS-CoV-2 dengan kode PDBid : 7BV2 dan terdapat *native ligand* yaitu [(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. Berikut hasil validasi reseptor ditunjukkan pada tabel 5.6

Tabel 5.6 Hasil Validasi Reseptor

Senyawa	Nama Reseptor	Center	Grid Box	Nilai RMSD			Rata-rata RMSD
				Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III	
[(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	RNA dependent RNA polymerase PDB ID : 7BV2	X : 91.776 Y : 91.56 Z : 104.863	X : 8 Y : 8 Z : 10	1.236 Å	1.201 Å	1.203 Å	1.213 Å

Berdasarkan hasil validasi reseptor pada tabel 5.6 Reseptor *RNA dependent RNA polymerase* (PDB ID : 7BV2) memiliki nilai replikasi yang berbeda-beda. Hal ini menandakan *native ligand* menempati posisi docking yang berbeda, walaupun perbedaan posisi tidak terlalu besar. Perbedaan posisi antara hasil replikasi disebabkan karena metode docking yang digunakan yaitu fleksibel docking, kondisi ini menyebabkan ligan menjadi fleksibel sehingga memungkinkan ligan untuk melakukan penyesuaian struktur demi mencapai konformasi yang stabil saat berikatan sisi aktif reseptor (Muttaqin dkk, 2019). Hasil rata-rata nilai RMSD sebesar 1.213 Å yang menunjukkan bahwa reseptor tersebut valid untuk dilakukan penambatan, dikarenakan hasil tersebut telah tervalidasi dengan baik ditandai dengan bentuk kemiripan antara *native ligan* sebelum dan sesudah *redocking* dan memiliki nilai $RMSD < 2 \text{ \AA}$. Nilai RMSD hasil dari *redocking* tersebut dianalisis dan divisualisasikan menggunakan aplikasi *PyMoL*. Gambar hasil replikasi RMSD pada remdesivir dicantumkan pada lampiran 2 halaman 106.

5.4.2 Analisa Hasil Penambatan

Penambatan ligan dan reseptor merupakan langkah penting dalam penelitian *in silico* yang bertujuan untuk memprediksi suatu ikatan yang terjadi pada ligan dan reseptor. Tujuan pada tahap ini yaitu untuk mengetahui kesesuaian interaksi senyawa uji pada sisi aktif reseptor dan senyawa uji mana yang memiliki afinitas terbaik terhadap reseptor (Muttaqin dkk, 2019). Hasil penambatan antara ligan dan reseptor pada penelitian ini meliputi nilai afinitas energi (*binding affinity*) dan interaksi residu antara ligan dengan protein target (reseptor). Perbandingan hasil dilakukan dengan membandingkan antara senyawa dengan obat pembanding yang digunakan sebagai kontrol. Apabila senyawa aktif dan protein target (reseptor) memiliki ikatan hidrogen dan residu asam amino yang serupa dengan obat pembanding (kontrol), maka senyawa tersebut memiliki ikatan yang kuat dengan protein target (reseptor) (Arwansyah, 2014). Pada tahap ini juga memiliki titik kritis terutama dalam pemilihan perangkat lunak (aplikasi) penambatan karena setiap perangkat lunak memiliki algoritma yang spesifik dalam melakukan penambatan. Hal ini kemudian dapat mempengaruhi hasil penambatan dan analisis yang akan dilakukan serta meminimalkan terjadinya data bias.

5.4.3 Nilai Afinitas Energi (*Binding affinity*)

Nilai afinitas energi (*Binding affinity*) adalah ukuran kemampuan suatu obat untuk mengikat dengan reseptor. Nilai afinitas energi dilihat dari semakin kecil *binding affinity* maka semakin tinggi afinitas antara reseptor dengan ligan, begitu pula sebaliknya semakin besar *binding affinity* maka semakin rendah afinitas antara reseptor dengan ligan (Saputri dkk., 2016). Selain itu afinitas juga sangat berpengaruh terhadap

kestabilan interaksi antara ligan dengan reseptor pada *binding site* dan nilai afinitas menunjukkan bahwa energi paling kecil yang digunakan pada reseptor untuk berinteraksi dengan ligan (Adriani, 2018). Berikut hasil dari nilai afinitas energi dengan AutoDock Vina ditunjukkan pada tabel 5.7.

Tabel 5.7 Hasil Nilai Afinitas Energi dengan AutoDock Vina

SENYAWA	Afinitas Energi			
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rata – Rata
<i>6-deacetylnimbin</i>	-5.5	-5.5	-5.5	-5.5
<i>Nimbin</i>	-5.5	-5.5	-5.5	-5.5
<i>Nimbolide</i>	-6.2	-6.2	-6.2	-6.2
<i>Nimbinene</i>	-5.4	-5.4	-5.4	-5.4
<i>Nimbidiol</i>	-5.1	-5.1	-5.1	-5.1
<i>Nimbione</i>	-5.3	-5.3	-5.3	-5.3
<i>Remdesivir</i>	-5.2	-5.2	-5.2	-5.2
<i>Native Ligand</i>	-5.1	-5.1	-5.1	-5.1

Berdasarkan hasil tabel 5.7 menunjukkan bahwa senyawa yang diujikan memiliki nilai afinitas energi yang berbeda-beda. Perbedaan nilai afinitas energi dari masing-masing senyawa dipengaruhi oleh ikatan yang terbentuk. Ikatan hidrogen berperan penting dalam menentukan besarnya nilai afinitas energi yang dihasilkan oleh proses penambatan karena memiliki energi yang lebih tinggi dibandingkan dengan ikatan hidrofobik. Menurut Hernandez dan Appu (2006) mengatakan bahwa ikatan hidrogen memiliki energi lebih tinggi daripada interaksi hidrofobik yaitu dengan nilai 1-7 kcal/mol banding 1 kcal/mol.

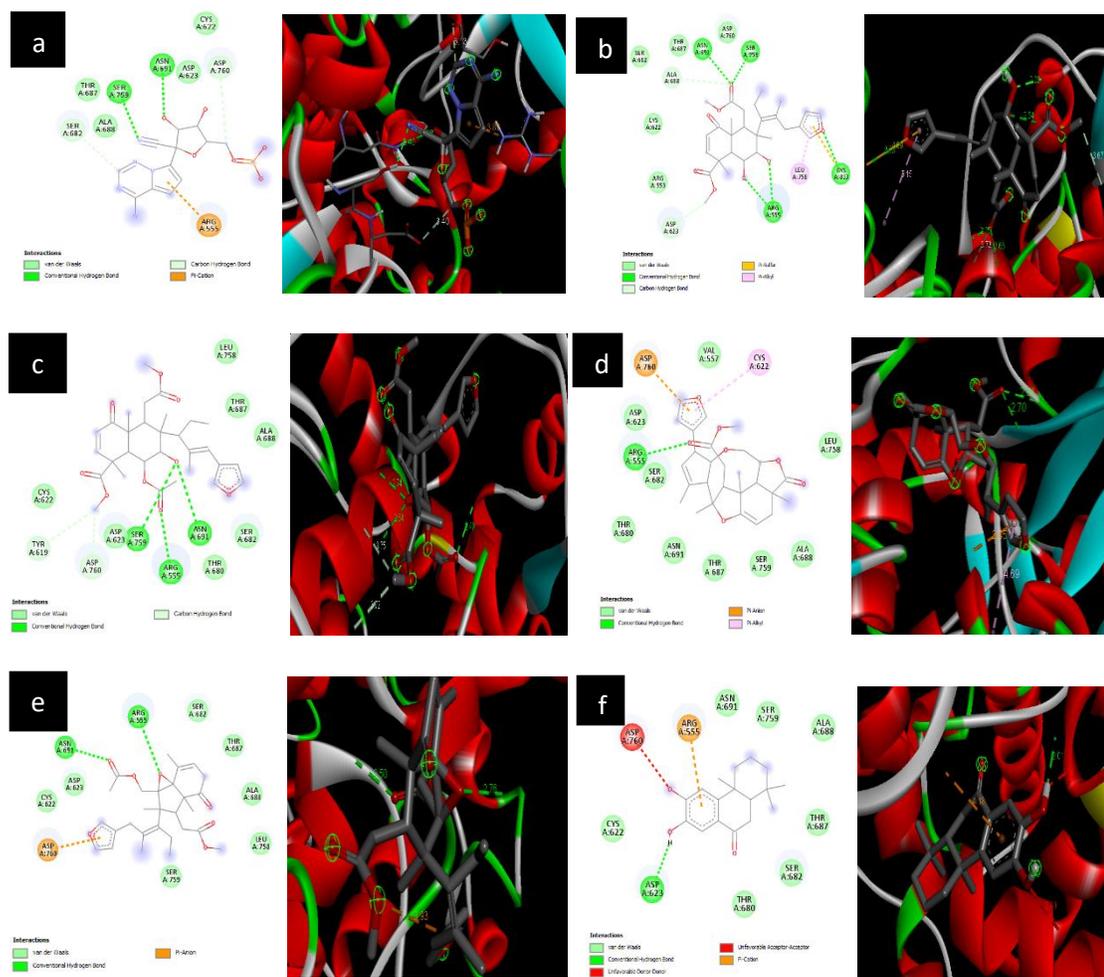
Dari hasil tersebut semua senyawa yang diujikan nilai afinitas energi terendah didapatkan dari senyawa *Nimbidiol* yaitu -5.1 kcal/mol. Namun, berbeda dengan senyawa *Nimbolide* dengan nilai afinitas energi sebesar -6.2 kcal/mol merupakan

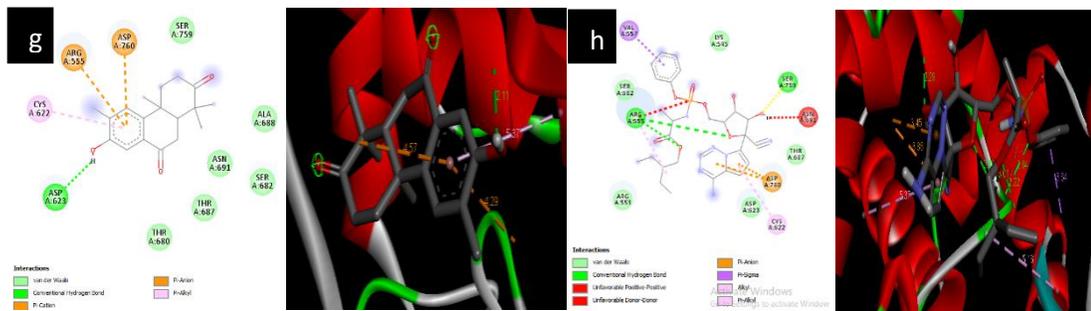
senyawa yang dianggap paling efektif untuk dijadikan sebagai inhibitor reseptor RdRp SARS-CoV-2 dan obat antivirus, dikarenakan senyawa tersebut memiliki nilai afinitas energi yang paling negatif (kecil) dibandingkan dengan senyawa lainnya. Berdasarkan hasil tersebut semua senyawa yang diujikan kecuali senyawa *nimbidiol* memiliki nilai afinitas energi lebih negatif (kecil) ketika dilakukan penambatan dengan reseptor RdRp SARS-CoV-2 dibandingkan senyawa pembandingnya yaitu Remdesivir (-5.2 kcal/mol) dan *native ligand* (-5.1 kcal/mol). Diketahui bahwasannya semakin negatif (kecil) nilai afinitas energi yang dihasilkan maka semakin baik kestabilan antara ligan dan reseptor (stabil), sehingga ikatan yang terbentuk akan semakin kuat (Syahputra dkk, 2014) dan hasil dari nilai negatif tersebut menunjukkan adanya interaksi antara ligan dengan reseptor yang terjadi secara spontan (Adriani, 2018). Penurunan dari nilai afinitas energi (*binding affinity*) tersebut juga menunjukkan kemudahan bioaktif dalam berinteraksi pada *binding site* masing-masing target protein dibandingkan ligan pembanding (Kellenberger *et al.*, 2008).

5.4.4. Interaksi Residu Asam Amino

Terdapat interaksi antara ligan dan beberapa asam amino yang aktif dari reseptor RdRp SARS-CoV-2 (PDBid : 7BV2). Salah satu ciri reseptor adalah tersusun dari asam amino yang dapat berinteraksi dengan ligan sehingga akan mengetahui interaksi yang terjadi pada ikatan antara ligan dan asam amino (Yahalom *et al.*, 2011., Khazanov dan Karlson 2013). Pengamatan interaksi residu asam amino ini bertujuan untuk mengetahui interaksi yang terjadi antara ligan dengan reseptor. Interaksi ini dilakukan untuk memastikan bahwa ligan dapat berikatan dengan tempat pengikatan

(*binding site*) protein tersebut. *Binding site* merupakan area permukaan protein yang digunakan untuk mengikat senyawa ligan (obat) (Mahdiyah Umi, 2015). Area *binding site* melibatkan residu asam amino yang berperan penting dalam pengikatan ligan. Interaksi molekuler antara ligan dan reseptor terdiri dari ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik dan interaksi elektrostatik (Arwansyah dkk, 2014). Identifikasi interaksi residu asam amino dianalisis dan divisualisasikan dengan aplikasi *Discovery Studio Visualizer*. Berikut hasil visualisasi interaksi residu asam amino ditunjukkan pada gambar 5.5 dan tabel 5.8





Gambar 5.5 Visualisasi interaksi (A) Native ligand (B) 6-deacetylnimbin (C) Nimbin (D) Nimbolide (E) Nimbinene (F) Nimbidiol (G) Nimbine (H) Remdesivir (Sumber Dokumentasi Menggunakan Aplikasi *Discovery Studio Visualizer*)

Tabel 5.8 Interaksi Residu Asam Amino antara Ligan dan Reseptor

No	Senyawa	Ikatan Hidrogen			Interaksi Elektrostatik	Interaksi Hidrofobik
		Asam Amino	Jarak (Å)	Gugus AsamAmino		
1	Native Ligand	Ser759 (A)*** Asn691 (A)* Ser682 (A)* Asp760 (A)*	3.08 3.33 3.16 3.04 3.39	N-H N-H O-H O-H	Thr687 (A)***, Ala688 (A)*, Asp623 (A)***, Cys622 (A)*	
2	<i>Remdesivir</i>	Arg555 (A)** Ser759 (A)***	3.09 3.15 2.82	O-H O-H O-H	Arg553 (A)**, Lys545 (A)**, Asp623 (A)***, Ser682 (A)**, Thr687 (A)***, Asp760 (A)**.	Val557(A)* *, Cys622 (A)**.
3	6-deacetylnimbin	Asn691 (A)* Ser759 (A)*** Arg555 (A)** Cys813 (A) Asp623 (A) Ala688 (A)	2.66 2.16 2.54 2.23 3.53 3.67 3.73	O-H O-H O-H O-H O-H O-H O-H	Asp760 (A)**, Thr687 (A)***, Ser682 (A)**, Cys622 (A)*, Arg553 (A)**	Leu758 (A)
4	<i>Nimbin</i>	Asn691 (A)* Arg555 (A)** Ser759 (A)*** Asp760 (A)* Tyr619 (A)	2.64 2.40 2.74 3.75 3.72	O-H O-H O-H O-H O-H	Leu758 (A), Thr687 (A)***, Ala688 (A)*, Ser682 (A)**, Thr680 (A), Asp623 (A)***, Cys622 (A)*	

Lanjutan Tabel 5.8

5	<i>Nimbolide</i>	Arg555 (A)**	2.70 2.51	O-H O-H	Val557 (A), Leu758 (A), Ala688 (A)*, Ser759 (A), Thr687 (A)***, Asn691 (A), Thr680 (A), Ser682 (A)**, Asp623 (A)***, Asp760 (A)**	Cys622 (A)**
6	<i>Nimbinene</i>	Arg555 (A)** Asn691 (A)*	2.76 2.50	O-H O-H	Ser682 (A)**, Thr687 (A)***, Ala688 (A)*, Leu758 (A), Ser759 (A), Cys622 (A)*, Asp623 (A)***, Asp760 (A)**	
7	<i>Nimbidiol</i>	Asp623 (A)	2.01	O-H	Asn691 (A), Ser759 (A), Ala688 (A)*, Thr687 (A)***, Ser682 (A)**, Thr680 (A), Cys622 (A)*, Arg555 (A)	
8	<i>Nimbione</i>	Asp623 (A)	2.11	O-H	Ser759 (A), Ala688 (A)*, Asn691 (A), Ser682 (A)**, Thr687 (A)***, Thr 680 (A), Asp760 (A), Arg555 (A),	Cys622 (A)**

Keterangan :

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

Berdasarkan dari tabel 5.8 menunjukkan bahwa senyawa uji, *native ligan* dan senyawa pembanding (remdesivir) memiliki interaksi yang terjadi berupa ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik dan interaksi elektrostatik. Senyawa uji tersebut

termasuk dalam kelompok ligan polidentat. Diketahui bahwa ligan polidentat dapat menyumbang lebih dari dua atom (Fajri, 2017). Pada struktur senyawa uji terdapat lebih dari dua atom donor dimana atom tersebut berperan sebagai donor ialah atom oksigen (O). Pada gambar 5.5 menunjukkan ikatan hidrogen ditandai dengan garis putus – putus berwarna hijau muda, interaksi elektrostatik ditandai dengan residu asam amino disekitar senyawa yang tidak berikatan dan garis putus-putus berwarna orange serta interaksi hidrofobik ditandai dengan garis putus – putus berwarna ungu dan merah muda. Jenis ikatan kimia dipengaruhi oleh interaksi antara senyawa dengan reseptor. Jenis ikatan yang tak jarang digunakan pada penentuan kekuatan ikatan obat dan reseptor ialah ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen merupakan ikatan utama untuk menjaga stabilitas protein (Voet dan Judith, 2011). Ikatan hidrogen dapat dihasilkan dengan adanya interaksi atom hidrogen yang terikat secara kovalen dengan atom bermuatan negatif seperti flour (F), nitrogen (N), dan oksigen (O) (Arwansyah dkk, 2014). Ikatan hidrogen pada *native ligand* terjadi pada residu Ser759, Asn691, Ser682 dan Asp760 sedangkan ikatan hidrogen pada senyawa pembanding (remdesivir) terjadi pada residu Arg555 dan Ser759 dimana dari semua senyawa uji yang tidak memiliki kemiripan dengan ikatan hidrogen pada *native ligand* dan senyawa pembanding yaitu senyawa *nimbidiol* dan *nimbione*. Penelitian yang dilakukan Dahab *et al* (2020) menunjukkan bahwa terdapat ikatan dengan Asp623, Asn691, Ser759 dan Ser682 pada reseptor RdRp SARS-CoV-2 (PDBid : 7BV2) dimana ikatan tersebut membentuk interaksi residu asam amino dalam suatu protein dengan *native ligand* (Remdesivir). Penelitian lain 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 (Yin *et al.*, 2020). Berdasarkan hasil interaksi ikatan hidrogen senyawa uji *6-deacetylnimbin*, *nimbin*, *nimbolide*, *nimbinene* memiliki kemiripan ikatan hidrogen dengan *native ligand* dan pembanding (remdesivir). Apabila semakin banyak interaksi hidrogen antara senyawa dengan residu asam amino maka diprediksi interaksinya senyawa dan reseptor semakin baik (Ruswanto, 2015). Senyawa uji yang memiliki ikatan hidrogen yang sama dengan senyawa pembanding kemungkinan memiliki aktivitas yang sama dengan senyawa pembanding (Prasetiawati dkk., 2021). Struktur *native ligand* pada reseptor 7BV2 merupakan struktur dari remdesivir monofosfat yang akan diubah menjadi bentuk aktifnya yaitu remdesivir trifosfat dalam tubuh (Eastman *et al.*, 2020). Remdesivir mempunyai aktivitas dapat menghambat *RNA-dependent RNA polymerase* (RdRp). RdRp merupakan protein yang memiliki peran yang signifikan dalam replikasi virus corona pada sel epitel saluran pernapasan (Neldi dan Suharjono, 2020). Telah diketahui bahwasanya remdesivir bekerja menghambat RdRp suatu virus sehingga berdasarkan hasil interaksi ikatan hidrogen senyawa uji dan pembanding maka kemungkinan senyawa uji bersifat inhibisi terhadap reseptor RdRp SARS-CoV-2 (PDBid : 7BV2).

Interaksi elektrostatik juga dapat berperan dalam menentukan kestabilan ligan terhadap reseptor. Interaksi elektrostatik merupakan interaksi yang disebabkan oleh perbedaan polaritas antar atom (Sharp dan Honis, 1990). Interaksi ini termasuk dalam interaksi yang lemah dan bersifat non-kovalen sehingga mudah lepas (Arwansyah dkk, 2014). Pada *native ligand* interaksi elektrostatik terjadi pada residu Thr687,

Ala688, Asp623 dan Cys622 sedangkan interaksi elektrostatik pada senyawa pembanding (remdesivir) terjadi pada residu Arg553, Lys545, Asp623, Ser682, Thr687 dan Asp760 dimana dari semua senyawa uji memiliki interaksi elektrostatik yang mirip dengan *native ligand* dan senyawa pembanding. Hal ini dibuktikan dari hasil residu beberapa asam amino yang sama antara *native ligand*, senyawa uji dan senyawa pembanding. Berdasarkan hasil tersebut dapat diprediksi senyawa uji menempati sisi aktif yang sama dengan *native ligand* pada reseptor RdRp SARS-CoV-2 (PDB id : 7BV2).

Interaksi hidrofobik juga dapat berperan dalam menentukan kestabilan ligan terhadap reseptor. Interaksi hidrofobik adalah interaksi yang menghindari lingkungan cair dan cenderung berkumpul dalam struktur globular dari protein (Lin & Brasseur, 1995). Pembentukan dari ikatan hidrofobik dapat meminimalkan interaksi yang terjadi antara residu non-polar dan air (Arwansyah dkk, 2014). Pada senyawa pembanding (remdesivir) interaksi hidrofobik terjadi pada residu Val557 dan Cys622 dimana dari semua senyawa uji yang memiliki interaksi hidrofobik dengan senyawa pembanding (remdesivir) yaitu *nimbolide* dan *nimbione* dengan residu Cys622. Sedangkan untuk *native ligand* diketahui tidak memiliki interaksi hidrofobik. Hasil untuk interaksi hidrofobik memiliki interaksi yang sedikit dikarenakan daerah *binding site* banyak residu asam amino yang bersifat polar. Residu asam amino yang bersifat polar yaitu serin, arginine, aspartat, asparagine, tirosin, treonin dan sistein (Sumardjo, 2009). Selain residu asam amino yang bersifat polar senyawa uji memiliki nilai log P yang rendah sehingga cenderung bersifat hidrofilik, sehingga pada penelitian ini tidak

ditemukan banyak interaksi hidrofobik. Residu asam amino non-polar (hidrofobik) cenderung membentuk kelompok di dalam protein (Arwansyah dkk, 2014).

Residu asam amino yang memiliki kemiripan dengan *native ligand* menunjukkan bahwa ligan mampu menghambat aktivitas protein target dan berpotensi memiliki fungsi yang sama dengan *native ligand*, dimana jarak ikatan hidrogen yang telah memenuhi syarat dengan rentang antara 2,5-3,5 Å (Syahputra dkk., 2014). Beberapa asam amino yang tidak memiliki kemiripan dengan *native ligand* dan senyawa pembanding menunjukkan bahwa asam amino tersebut tidak berpotensi memiliki fungsi yang sama dengan *native ligand* dan senyawa pembanding. Dari hasil pada tabel 5.8 senyawa yang diujikan memiliki jarak ikatan yang berbeda-beda dan hampir semua senyawa tersebut memiliki jarak ikatan antara 2,5-3,5 Å kecuali pada senyawa *6-deacetylnimbin* pada residu Cys813, Asp623, Ala688 dan senyawa *nimbin* pada residu Asp760 dan Tyr619. Perbedaan jarak ikatan membuktikan bahwa minimalisasi energi akan mempengaruhi hasil penambatan ligan dan reseptor (Hanif dkk, 2020). Sedangkan visualisasi pada area penambatan ligan dan reseptor semua senyawa terdapat ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik dan interaksi elektrostatik yang sama dengan *native ligand* dan remdesivir.

5.5 Prediksi Toksisitas

Senyawa yang akan diujikan juga perlu di prediksi toksisitasnya dengan parameter berupa nilai LD₅₀, *Skin Sensitization*, *Hepatotoxicity*, dan *Ames Toxicity*. Tujuan dilakukannya pada tahap ini yaitu untuk memprediksi dan mengevaluasi kemungkinan toksisitas dan resiko senyawa uji yang dapat mempengaruhi manusia.

Prediksi toksisitas sangat penting dilakukan karena senyawa uji tidak hanya memerlukan aktivitas biologi yang baik sebagai kandidat obat, tetapi juga senyawa dengan toksisitas yang lebih rendah (Muttaqin dkk, 2019). Untuk menguji nilai LD₅₀, *Skin Sensitization*, *Hepatotoxicity*, dan *Ames Toxicity* menggunakan *pkCSM online tool* dan *Protox II Online Tool* dengan cara memasukkan kode SMILES dari setiap senyawa. Kelas toksisitas LD₅₀ diklasifikasikan berdasarkan *Globally Harmonized System* (GHS) dimana kelas toksisitasnya dapat dibagi menjadi 1 hingga 6. Ambang batas LD₅₀ untuk keenam kelas toksisitas adalah 5, 50, 300, 2000 dan 5000 mg / kg berat badan (Drwal *et al.*, 2014). Hasil dari prediksi toksisitas didapatkan dengan cara menyalin Kode SMILES kemudian ditempelkan pada kotak *code SMILES* dalam *pkCSM online tool* dan *Protox II Online tool*. Parameter yang digunakan pada prediksi toksisitas meliputi LD₅₀, *Hepatotoxicity*, *Ames Toxicity* dan *Skin Sensitization*. Berikut hasil dari prediksi toksisitas dapat dilihat pada tabel 5.9.

Tabel 5.9 Hasil Prediksi Toksisitas

Senyawa	Toksisitas				
	LD ₅₀ (mg/kg)*	Kelas LD ₅₀	<i>Hepatotoxicity</i> **	<i>Ames Toxicity</i> **	<i>Skin Sensitization</i> **
<i>6-deacetylnimbin</i>	600 mg/kg	4	No	No	No
<i>Nimbin</i>	1000 mg/kg	4	No	No	No
<i>Nimbolide</i>	1000 mg/kg	4	No	No	No
<i>Nimbinene</i>	600 mg/kg	4	Yes	No	No
<i>Nimbidiol</i>	760 mg/kg	4	No	No	No
<i>Nimbione</i>	5000 mg/kg	5	No	No	No
<i>Remdesivir</i>	1000 mg/kg	4	Yes	No	No

Keterangan :

* Menggunakan *Protox II Online tool*

** Menggunakan *pkCSM online tool*

LD₅₀ : Letal Dose 50

Berdasarkan tabel 5.9 hasil yang didapatkan yaitu senyawa *6-deacetylnimbin*, *Nimbin*, *Nimbolide*, *Nimbinene*, *Nimbidiol* dan *Remdesivir* memiliki nilai LD₅₀ pada hewan coba sebesar 600 mg/kg, 1000 mg/kg, 1000 mg/kg, 600 mg/kg, 760 mg/kg dan 1000 mg/kg. Berdasarkan hasil tersebut diklasifikasikan pada kelas toksisitas 4 ($300 < LD_{50} \leq 2000$ mg/kg) yang menunjukkan toksisitasnya relatif rendah. Sedangkan untuk senyawa *Nimbione* memiliki nilai LD₅₀ pada hewan coba sebesar 5000 mg/kg dari hasil tersebut diklasifikasikan pada kelas toksisitas 5 ($2000 < LD_{50} \leq 5000$ mg/kg) yang menunjukkan senyawa mempunyai efek toksisitas akut yang rendah (El Din *et al.*, 2016). Hal tersebut menunjukkan bahwa semua senyawa golongan terpenoid pada tanaman mimba yaitu *6-deacetylnimbin*, *nimbin*, *nimbolide*, *nimbinene*, *nimbidiol* dan *nimbione* memiliki toksisitas yang relatif rendah karena semakin tinggi nilai LD₅₀ dari senyawa maka semakin rendah toksisitas yang ada pada senyawa (Supandi *et al.*, 2018). Selain itu, senyawa juga dilakukan uji *Hepatotoxicity*, *Ames Toxicity* dan *Skin Sensitization*. Hasil yang didapatkan dari uji *Hepatotoxicity* pada senyawa *Nimbinene* dan senyawa pembanding *Remdesivir* berpotensi menimbulkan kerusakan pada hati, sedangkan pada uji *Ames Toxicity* dan *Skin Sensitization* semua senyawa diprediksi tidak menimbulkan efek mutagenik dan tidak menimbulkan sensitisasi pada kulit.

5.6 Analisa Data

Analisa data yang dilakukan pada penelitian ini berupa deskriptif. Analisis deskriptif merupakan analisa yang digunakan untuk menganalisis data dengan cara menggambarkan atau mendeskripsikan data yang dikumpulkan. Menurut penelitian Ghozali (2009) tujuan dari analisis ini yaitu untuk memberikan gambaran atau

deskripsi data pada variabel dilihat dari nilai rata-rata (*mean*), minimum, maksimum dan standar deviasi. Variabel bebas yang digunakan adalah senyawa golongan terpenoid tanaman mimba yaitu *6-deacetylnimbin*, *nimbin*, *nimbolide*, *nimbinene*, *nimbidiol* dan *nimbione*, serta *native ligan* dan senyawa pembanding (remdesivir). Sedangkan variabel terikat yang digunakan adalah nilai dari *binding affinity*, interaksi residu asam amino, sifat fisikokimia dan toksisitas. Berikut hasil penelitian analisis deskriptif nilai *binding affinity* dapat dilihat dalam tabel 5.10 di bawah ini.

Tabel 5.10 Hasil Data Deskriptif Nilai *Binding Affinity*

Senyawa	<i>Binding affinity</i> (Kcal/mol)			Std. Deviation
	Minimum	Maksimum	Mean	
<i>Nimbolide</i>	-6.2	-6.2	-6.2	0
<i>6-deacetylnimbin</i>	-5.5	-5.5	-5.5	0
<i>Nimbin</i>	-5.5	-5.5	-5.5	0
<i>Nimbinene</i>	-5.4	-5.4	-5.4	0
<i>Nimbione</i>	-5.3	-5.3	-5.3	0
Remdesivir	-5.2	-5.2	-5.2	0
<i>Nimbidiol</i>	-5.1	-5.1	-5.1	0
<i>Native Ligand</i>	-5.1	-5.1	-5.1	0

Berdasarkan hasil tabel 5.10 menunjukkan bahwa semua senyawa yang diujikan memiliki nilai minimum, maksimum dan mean yang sama setelah direplikasi sebanyak 3 kali sehingga hasil dari nilai standar deviasi adalah 0. Standar deviasi adalah nilai statistik yang digunakan untuk sebaran data dalam sampel dan seberapa dekat setiap titik data dengan rata-rata (*mean*) nilai sampel. Apabila standar deviasi dari suatu kumpulan data sama dengan nol berarti semua nilai dalam kumpulan tersebut adalah sama (Hidayat dkk, 2019). Hal ini menunjukkan bahwa tidak ada variasi hasil dari nilai *binding affinity* pada kumpulan data hasil docking antara senyawa yang

diujikan, native ligand dan senyawa pembanding dengan reseptor RdRp SARS-CoV-2 yang menunjukkan bahwa data sama. Pada nilai *binding affinity* didapatkan hasil dari yang tertinggi hingga terendah berturut-turut yaitu native ligand, *nimbidiol*, remdesivir, *nimbione*, *nimbinene*, *6-deacetylnimbin*, *nimbin*, dan *nimbolide*.

Selanjutnya dilakukan analisis data pada interaksi residu asam amino, sifat fisikokimia dan toksisitas. Berikut hasil penelitian analisis deskriptif interaksi residu asam amino dapat dilihat dalam tabel 5.11.

Tabel 5.11 Hasil Data Deskriptif Interaksi Residu Asam Amino

Residu Asam Amino	<i>Native Ligand</i>	<i>6-deacetylnimbin</i>	<i>Nimbin</i>	<i>Nimbolide</i>	<i>Nimbinene</i>	<i>Nimbidiol</i>	<i>Nimbione</i>	<i>Remdesivir</i>
Ser759	✓	✓	✓	-	-	-	-	✓
Asn691	✓	✓	✓	-	✓	-	-	-
Ser682	✓	-	-	-	-	-	-	-
Asp760	✓	-	✓	-	-	-	-	-
Thr687	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Ala688	✓	-	✓	✓	✓	✓	✓	-
Asp623	✓	-	✓	✓	✓	-	-	-
Cys622	✓	✓	✓	-	✓	✓	-	-
Arg555	-	-	-	✓	-	✓	✓	✓

Berdasarkan hasil tabel 5.11 menunjukkan bahwa interaksi residu asam amino senyawa yang diujikan memiliki kemiripan yang hampir sama dengan *native ligand* dan senyawa pembanding. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa uji memiliki kemiripan yang sama dikarenakan dapat menepati posisi *docking* yang sama dengan *native ligand* dan senyawa pembanding. Semakin banyak kemiripan residu asam amino dengan *native ligand* maka menunjukkan adanya kemiripan aktivitas (Arwansyah dkk, 2014). Dari hasil tersebut dapat diketahui senyawa uji, senyawa pembanding serta

native ligand kemungkinan memiliki kemiripan aktivitas dalam menghambat protein target RdRp SARS-CoV-2.

Selanjutnya dilakukan analisis data pada sifat fisikokimia dan toksisitas senyawa yang diuji serta senyawa pembanding. Berikut hasil penelitian analisis deskriptif sifat fisikokimia dan toksisitas dapat dilihat dalam tabel 5.12.

Tabel 5.12 Hasil Data Deskriptif Sifat Fisikokimia dan Toksisitas

No	Senyawa	Fisikokimia	Toksisitas
1.	<i>6-deacetylnimbin</i>	Ya (tidak menyimpang)	4
2.	<i>Nimbin</i>	Ya (1 menyimpang)	4
3.	<i>Nimbolide</i>	Ya (tidak menyimpang)	4
4.	<i>Nimbinene</i>	Ya (tidak menyimpang)	4
5.	<i>Nimbidiol</i>	Ya (tidak menyimpang)	4
6.	<i>Nimbione</i>	Ya (tidak menyimpang)	5
7.	Remdesivir	Tidak (3 menyimpang)	4

Berdasarkan hasil tabel 5.12 menunjukkan bahwa hasil sifat fisikokimia dari senyawa golongan terpenoid tanaman mimba yaitu *6-deacetylnimbin*, *nimbin*, *nimbolide*, *nimbinene*, *nimbidiol* dan *nimbione* telah memenuhi syarat hukum lima Lipinski berdasarkan analisis pada *SwissADME online tool*, sedangkan untuk senyawa pembanding yaitu remdesivir tidak memenuhi syarat hukum lima lipinski. Dan toksisitas dari semua senyawa yang diujikan masuk dalam kelas 4 dan 5. Tingkat kelas toksisitas berdasarkan *Globally Harmonized System (GHS)* Kelas III (toksik jika tertelan ($50 < LD50 \leq 300$ mg / kg)), Kelas IV (berbahaya jika tertelan ($300 < LD50 \leq$

2000 mg / kg)) dan Kelas V (kemungkinan bisa berbahaya jika tertelan ($2000 < LD50 \leq 5000$ mg / kg)) (El din *et al.*, 2016). Dari hasil tersebut didapatkan tingkat toksisitas dari yang tertinggi hingga terendah berturut-turut yaitu *6-deacetylnimbin*, *nimbin*, *nimbolide*, *nimbinene*, *nimbidiol*, *remdesivir* dan *nimbione*.

BAB VI

PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Senyawa golongan terpenoid pada tanaman mimba yaitu *6-deacetylnimbin*, *nimbin*, *nimbolide*, *nimbinene*, *nimbidiol* dan *nimbione* telah memenuhi Hukum Lima Lipinski.
2. Senyawa golongan terpenoid pada tanaman mimba yaitu *6-deacetylnimbin*, *nimbin*, *nimbolide*, *nimbinene*, *nimbidiol* dan *nimbione* memiliki interaksi terhadap reseptor RdRp SARS-CoV-2 (PDBid : 7BV2) berupa interaksi residu asam amino, ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, dan interaksi elektrostatik yang diprediksi dapat menghambat reseptor tersebut dan nilai afinitas terendah didapatkan dari senyawa *nimbolide*.
3. Senyawa golongan terpenoid pada tanaman mimba menurut GHS memiliki toksisitas yang relatif rendah karena senyawa *6-deacetylnimbin*, *nimbin*, *nimbolide*, *nimbinene*, dan *nimbidiol* memiliki tingkat toksisitas tergolong kelas 4 ($300 < LD_{50} \leq 2000$ mg/kg) dan senyawa *nimbione* memiliki tingkat toksisitas tergolong kelas 5 ($2000 < LD_{50} \leq 5000$ mg/kg).

6.2 Saran

Berdasarkan penelitian potensi antivirus senyawa terpenoid pada tanaman mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) terhadap reseptor RdRp SARS-CoV-2 (PDBid : 7BV2) secara *in silico* peneliti dapat memberikan saran bagi peneliti selanjutnya yaitu diharapkan dapat melakukan penyempurnaan pada proses penambatan dengan pengaturan *grid box* dan *grid size* yang lebih tepat atau mengganti kode pdb reseptor, sehingga dapat diperoleh nilai afinitas yang lebih rendah dan interaksi residu asam amino yang terdeteksi lebih banyak. Selain itu juga perlu dilakukan penambatan pada reseptor yang berbeda, agar ditemukan informasi baru terkait mekanisme aktivitas antivirus.

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.
- Abdullah bin Muhammad bin Abdurrahman bin Ishaq Al-Syeikh, DR. 2003. *Labaabut Tafsir Min Ibni Katsiir* : Terjemah Abdul Ghofar. Bogor : Pustaka Imam Syafi'i.
- Accelrys Enterprise Platform. 2005. *Introduction to the Discovery Studio Visualizer*. San Diego, USA : Accelrys Software Inc.
- Adriani. 2018. Prediksi Senyawa Bioaktif dari Tanaman Sanrego (*Lunasia amara*) sebagai Inhibitor Enzim Siklooksigenase-2 (COX-2) melalui Pendekatan Molecular Docking. *Jurnal Ilmiah Pena*. 1(1).
- 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).
- Ambarwati. 2011. Mimba Sebagai Antibakteri, Antifungi dan Biopestisida. *Jurnal Kesehatan*. Vol. 4 No.2
- Apriani, Fitria. 2015. Studi Penambatan Molekul Senyawa-Senyawa Amdasi Etil Para Metoksinamat pada Peroxisome Proliferator-Activated Reseptor Gamma [skripsi]. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah
- Arwansyah, Laksmi A., Tony I. S. 2014. Simulasi *Docking* Senyawa Kurkumin dan Analognya Sebagai Inhibitor Reseptor Androgen pada Kanker Prostat. *Current Biochemistry* Volume 1 (1): 11-19
- Arwansyah. 2014. Simulasi Docking Senyawa Kurkumin dan Analognya sebagai Inhibitor Reseptor Androgen pada Kanker Prostat [Tesis]. Bogor: Sekolah Pascasarjana IPB Bogor.
- 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
- 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.
- 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 Nonklinis Secara In Vivo*. Jakarta: BPOM RI.

- Brushett, Donald. 2018. *An investigation into the effects of adjuvants on the ovicidal activity of neem triterpenes*. Lismore : Southern Cross University
- Campbell, N. A. & J. B. Reece. 2008. *Biologi*, Edisi Kedelapan Jilid 1. Terjemahan: Damarling 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 pharmaceuticals*, 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).
- Cole, J.C., Murray, C.W., Nissink, J.W.M., Taylor, R.D., Taylor, R. 2005. Comparing Protein – Ligand Docking Programs Is Difficult. *PROTEINS : Structure, Function, and Bioinformatics* Volume 60 Issue 3.
- Czyrski, A. and Kupczyk, B., 2013. The Determination of Partition Coefficient of 6-Mercaptopurine Derivatives by Thin Layer Chromatography. *Journal of Chemistry*.. doi: 10.1155/2013/419194.
- 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
- 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/>
- Dona R, Neni Frimayanti, Ihsan Ikhtiarudin, Benni Iskandar, Fikri Maulana, & Nova Tantri Silalahi. 2019. Studi *In Silico*, Sintesis, dan Uji Sitotoksik Senyawa P-Metoksi Kalkon Terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis* (6) 3.

- 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(W1), 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., Jacob, S. R., Kyle, R. B., Anton D, Min Shen, Samarjit Patnaik and Matthew D. H. 2020. Remdesivir : A Review of Its Discovery and Development Leading to Emergency Use Authorization for Treatment of COVID-19. *ACS Central Science*, 672-683.
- El Din, H. M. A., Loutfy, S. A., Fathy, N., Elberry, M. H., Mayla, A. M., Kassem, S., Naqvi, A. 2016. Molecular *docking* based screening of compounds against VP40 from Ebola virus. *Bioinformation*. 12(3) : 192-196.
- Fajri, L. 2017. Analisis Kemampuan Memori Mahasiswa Prodi Pendidikan Sains pada Materi Tata Nama Senyawa Kompleks. *Jurnal Edukasi Matematika dan Sains*, 5(1).
- Ferwadi, S., Gunawan, R., Astuti, W. 2017. Studi *Docking* Molekular Senyawa Asam Sinamat dan Derivatnya Sebagai Inhibitor Protein 1J4X pada Sel Kanker Serviks. *Jurnal Kimia Mulawarman* Volume 14 Nomor 2.
- Fita, F. E, Listianingsih D, Hapsari, Y. A, Pradana, R. A, Indah E, Arifin I. 2015. Efek Sitotoksik Kombinasi Ekstrak Metanol Dau Kenikir (*Cosmos caudarus*, Kunth) dan Doksorubisin Terhadap Sel Kanker Payudara T47D Secara In vitro dan In Silico. *Prosiding Seminar Nasional Peluang Herbal Sebagai Alternatif Medicine*. 978-602-19556-2-8.
- Fitriani Nur Indah. 2020. Tinjauan Pustaka COVID-19 : Virologi, Patogenesis, dan Manifestasi Klinis. *Jurnal Medika Malahayati* Vol 4 No 3.
- Gennaro Francesco Di, Damiano Pizzol, Claudia Marotta, Mario Antunes, Vincenzo Racalbutto, Nicola Veronese and Lee Smith. 2020. Coronavirus Diseases (COVID-19) Current Status and Future Perspectives: A Narrative Review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*.
- Guan W, Z. Ni, Yu Hu, W. Liang, C. Ou, J. He, L. Liu, H. Shan et al. 2020. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *The New England Journal of Medicine*.
- Hameed Usama K Abdel. 2014. Delimitation of *Azadirachta indica* A. Juss. from *Melia azedarach* L. (Meliaceae Juss.) based on leaf morphology. *International Journal Of Experimental Botany*. ISSN 0031 9457.
- Handayani Diah, Dwi Rendra Hadi, Fathiyah Isbaniah, Erlina Burhan, Heidy Agustin. 2020. Penyakit Virus Corona 2019. *Jurnal Respirologi Indonesia*. Vol. 40 No. 2.
- Hanif, Atika Umi, Prima Agusti Lukis, dan Arif Fadlan. 2020. Pengaruh Minimisasi Energi MMFF94 denga MarvinSketch dan Open Babel PyRx pada Penambatan Molekular Turunan Oksindola Tersubstitusi. *Alchemy: Journal of Chemistry*. 8(2).

- Hashmat, Imam, Hussain Azad and Ajjj Ahmed. 2012. Neem (*Azadirachta indica* A. Juss) - A Nature's Drugstore: An overview. *International Research Journal of Biological Sciences*. Vol. 1(6).
- Helmy, Yosra A, Mohamed Fawzy, Ahmed Elasad, 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*.
- Herliandry Luh Devi, Nurhasanah, Maria Enjelina Suban, Heru Kuswanto. 2020. Pembelajaran Pada Masa Pandemi Covid-19. *Jurnal Teknologi Pendidikan*. Vol. 22 No. 1.
- Hernandez, M. A and Appu, R. 2006. *Basic Pharmacology : Understanding Drug Actions and Reaction*. Boca Raton, CRC Press.
- Hodgson, E. 2010. *A textbook of modern toxicology*. 4th ed. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.
- 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.
- Jensen F. 2007. Introduction to Computational Chemistry, 2nd Ed, Odense Denmark : 415-216
- 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
- Kellenberger, E., Foata N., and Rognan D. 2008. Ranking Targets in Structure Based Virtual Screening of Three Dimensional Protein Libraries: Methods and Problems. *Journal of Chemical Information and Modelling*. 48(5).
- Kesuma, D., Siswandono, Purwanto, B. T. dan Hardjono. 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*. Volume 1.
- Khazanov, N. A and Carlson, H. A. 2013. Exploring the Composition of Protein-Ligand Binding Sites on a Large Scale. *PloS Comput Biol* 9(11) : e1003321.
- 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.
- Kiranmai M, CB Mahendra Kumar, Mohammed Ibrahim. 2011. Comparison of Total Content of *Azadirachta indica* Root Bark Extracts Prepared by Different Methods of Extraction. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences* Vol 2 Issue 3.
- Kolina, Jennifer, Sri Adi Sumiwi, dan Jutti Levita. 2018. Mode Ikatan Metabolit Sekunder di Tanaman Akar Kuning (*Arcangelisia flava* L.) dengan Nitrat Oksida Sintase. *Fitofarmaka Jurnal Ilmiah Farmasi*. 8(1).
- 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
- Krysanti A dan Simon BW. 2014. Toksisitas subakut tepung glukomanan (*A Muelleri* Blume) terhadap SGOT dan natrium tikus Wistar secara *in vivo*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* Vol. 2 No. 1.
- Kumar Arun HS. 2020. Molecular Docking of Natural Compounds from Tulsi (*Ocimum sanctum*) and Neem (*Azadirachta indica*) Against SARS-CoV-2 Protein Targets. *BEMS Reports* 6(1).
- Kumar,R., Simpi M., and Seema R. P. 2018. *Bioactive constituents of neem*. Haryana : Amity University.
- Kurniati Ridha, Nurdin Saidi and Rosnani Nasution. 2018. Antifeedant Activity from Neem Leaf Extract (*Azadirachta indica* A. Juss). *Jurnal Natural* Vol 18 (1).
- Kusuma A.B, Tyas Rini Saraswati dan Agung Janika Sitasiwi. 2019. Efek Pemberian Daun Mimba (*Azadirachta indica*) Terhadap Diameter Hepatosit Tikus (*Rattus norvegicus*). *Bioma*. Vol. 21 No. 2.
- Lajnah, 2009. Tafsir Al-Qur'an Tematik: Kesehatan dalam Perspektif Al-Qur'an. Lajnah Pentashihan Al-Qur'an, Jakarta.
- 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 T. 2015. *Studi Interaksi Turunan 1,3Dibenzoiltiourea sebagai Ribonukleotida Reduktase Inhibitor*. Tasikmalaya : STIKes Bakti Tuna Husada.
- 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.
- Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. 1997. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 23, 3-25.
- Lipinski, C.A., Lombardo, F., Dominy, B.W., dan Feeney, P.J. 2001. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 46:3-26.
- Lo, M.K., Friederike, F., Gary, J.M., Jordan, R., Bannister, R., Cronin, J., Patel, N.R., Klena, J.D., Nichol, S.T., Cihlar, T., Zaki, S.R., Feldmann, H., Spiropoulou, C.F., & Wit, E.D. 2019. Remdesivir (GS-5734) protects African green monkeys from nipah virus challenge. *Science Translational Medicine*, 11.

- Lodish H, Berk A, Zipursky SL, *et al.* 2000. *Molecular Cell Biology* 4th edition. New York: W. H. Freeman
- Lu, F.C. 1991. *Toksikologi dasar asas, organ, sasaran dan penilaian risiko*, Edisi kedua. Jakarta : UI Press.
- M. Quraish Shihab. 2012. *Tafsir al-Misbah*. Jakarta : Lentera Hati.
- Mahdiyah, Umi. 2015. Integrasi Seleksi Data dan *Extreme Learning Machine* (LEM) untuk Prediksi *Binding Site* Protein-Ligan. *Tesis*. Surabaya : Institut Teknologi Sepuluh Nopember.
- Meng, X. Y., Hong-Xing Zhang, Mihaly Mezei and Meng Cui. 2011. Molecular Docking : A Powerful Approach for Structure-based drug discovery. *Curr Comput Aided Drug Des.* 7(2).
- 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*.
- Muchtaridi., Yannuar, A., Megantara, S., Purnomo, H. 2018. *Dasar-Dasar dalam Perancangan Obat Edisi Pertama*. Jakarta: Prenadamedia Group.
- Murray, R. K., Granner, D. K., & Rodwell, V. W. 2000. *Harper's Biochemistry* 25th 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. *Pharmacoscrypt*, 2(2), 131-151.
- Neldi V 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.
- Ogbuewu I. P, V.U. Odoemenam, H.O. Obikaonu, M.N. Opara, O.O. Emenalom, M.C. Uchegbu, I.C. Okoli, B.O. Esonu and M.U. Iloeje. 2011. The Growing Importance of Neem (*Azadirachta indica* A. Juss) in Agriculture, Industry, Medicine and Environment: A Review. *Research Journal of Medicinal Plants*, 5: 230-245.
- 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.
- Parasuraman P, Suresh R, Perumal P. 2017. Searching Antiviral Drugs for Eboola Virus from Phytoconstituents of *Azadirachta indica* : Application of Molecular Modeling Studies. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* Vol 10 Issue 7.
- 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 15 April 2021, dari <http://biosig.unimelb.edu.au.pkcsm/prediction>
- Pranoto M. E dan Diana Lady Yunita Handoyo. 2019. Pengaruh Ukuran Serbuk Terhadap Karakteristik Rendaman Serbuk Daun *Azadirachta indica* Dalam Minyak Zaitun. *Jurnal Farmasi Tinctura* Vol 1 No 1.
- 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.
- Protox Online Tool. 2021. ProTox – Prediction of Toxicity of Chemicals. Diakses pada 14 April 2021, dari <https://tox-new.charite.de/protox II/>
- PubChem Web site. 2020. National Library of Medicine. Diakses pada 10 Desember 2020, pada <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
- Purwaniati dan Aiyi Asnawi. 2020. Target Kerja Obat Antivirus COVID-19 : *Review*. *Jurnal Farmagazine* Vol. VII No. 2.
- Qardhawi, M.Y., 2008. Al-Ghauil Fi Al-Islam. AFP Publisher, Doha.
- Rachmania, R. A., Supandi, S., and Larasati, O. A., 2015. Analisis In Silico Senyawa Diterpenoid Lakton Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) pada Reseptor Alpha-Glukosidase sebagai Antidiabetes Tipe II. *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia (Pharmaceutical Journal of Indonesia)*. 12(2): 210–222.
- Rahman S and Tamanna Bahar. 2020. COVID-19 : The New Threat. *Int J Infect* 7(1).
- Ramakrishnamacharya CH, Vanitha Muralikumar, Chandrasekar Seshachalam. 2020. Inhibitory Effect of Phytochemicals from *Azadirachta indica* A. Juss and *Tinospora cordifolia* (Thunb.) Miers Against SARS-CoV-2 Mpro and Spike Protease-An In Silico Analysis.
- Rastini, M. B. O., N. K. M. Giantari, K. D. Adnyani dan N. P. L. Laksmiani. 2019. Molecular Docking Aktivitas Antikanker Dari Kuersetin terhadap Kanker Payudara Secara *In Silico*. *Jurnal Kimia (Journal of Chemistry)* 13(2).
- RCSB Protein Data Bank (RCSB PDB) Web site. 2020. PDB Current Holdings Breakdown. Diakses pada 23 November 2020, dari <https://www.rcsb.org/>
- Roychoudhury, Rashmi. 2016. Ecofriendly Pest Management for Food Security. San Diego : Elsevier.
- Ruswanto, R. 2015. Molecular Docking Empat Turunan Isonicotinohidrazide 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.
- Santoyo A.H, Aldo Y. T. B., Victor A., Héctor V. C., & Claudia M. B. 2013. *Protein-Protein and Protein-Ligand Docking*. Mexico : InTech.
- Saputri, K. E., Fakhmi, N., Kusumaningtyas, E., Priyatama, D., dan Santoso B. 2016. Docking Molekular Potensi Anti Diabetes Melitus Tipe 2 Turunan Zerumbon

- sebagai Inhibitor Aldosa Reduktase dengan AutoDock Vina. *Chimica et Natura Acta*. 4(1): 16-20.
- 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.
- Savitri, E.S. 2008. *Rahasia Tumbuhan Berhasiat Obat Perspektif Al-Qur'an*. Malang: UIN-Press.
- Septiana Eris. 2020. Prospek Senyawa Bahan Alam Sebagai Antivirus dalam Menghambat SARS-CoV-2. *BioTrends* Vol 11 No 1.
- 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.
- 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.
- Sheahan, T.P., Sims, A.C., Graham, R.L., Menachery, V.D., Gralinski, L.E., Case, J.B., Leist, S.R., Pyrc, K., Feng, J.Y., Trantcheva, I., Bannister, R., Park, Y., Babusis, D., Clarke, M.O., Mackman, R.L., Spahn, J.E., Palmiotti, C.A., Siegel, D., Ray, A.S., Cihlar, T., Jordan, R., Denison, M.R., & Baric, R.S. 2017. Broad-spectrum antiviral GS-5734 inhibits both epidemic and zoonotic coronaviruses. *Science Translational Medicine*, 9.
- 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, Hal 91-98.
- Shihab, M. Q. 2002. *Tafsir Al-Misbah (Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur'an) Vol 1*. Jakarta: Lentera Hati.
- Singhal Tanu. 2020. A Review of Coronavirus Disease-2019 (COVID-19). *The Indian Journal of Pediatrics*. 87(4):281-286.
- Siregar, Rustam. 2018. *Fisika Kuantum*. Bandung : UNPAD Press.
- Sliwoski, G., Kothiwale, S., Meiler, J., Lowe, E. W. Jr. 2014. Computational Methods in Drug Discovery. *Pharmacol Rev*. 66:334-395.
- 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.
- 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

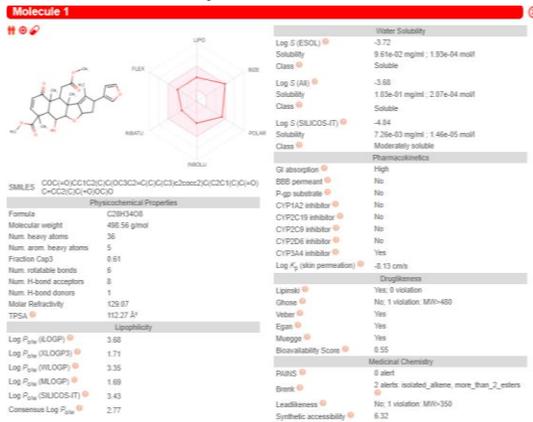
- Supandi, Yeni, Merdekawati F. 2018. In Silico Study of Pyrazolylaminoquinazoline Toxicity by Lazar, Protox, and Admet Predictor. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* Vol. 8(9), pp 119-129.
- Susilo Adityo, C. Martin Rumende, Ceva W Pitoyo, Widayat Djoko Santoso, Mira Yulianti. 2019. Coronavirus Disease 2019: Tinjauan Literatur Terkini. *Jurnal Penyakit Dalam*. Vol. 7 No. 1.
- SwissADME Web site. 2021. Swiss Institute of Bioinformatics. Diakses pada 14 April 2021, dari <http://www.swissadme.ch/index.php>
- Syahputra, G., L. Ambarsari, dan T. Sumaryada. 2014. Simulasi Docking Kurkumin Etanol, Bisdemetoksi Kurkumin dan Analoginya sebagai Inhibitor Enzim 12-Lipoksigenase. *Jurnal Biofisika*. 10(1).
- Syamsul, E. S, Desy Nur Indah Sari, Supomo. 2015. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Kerehau (*Callicarpa longifolia* Lam.) Terhadap Mencit Putih. *Jurnal Imiah Manuntung*. Akademi Farmasi Samarinda.
- 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).
- Trot, O., and A. J. Olson. 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).
- Unhale S.S, Quazi Bilal Ansar, Shubham Sanap et al. 2020. A Review On Corona Virus (COVID-19). *World Journal of Pharmaceutical and Life Sicences*. Vol. 6 No. 4.
- Voet, D. and Judith G.V. 2011. *Biochemistry* Fourth Edition. USA : John Wiley & Sons Inc.
- 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
- 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. Corbett2, 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.
- Yahalom R, Reshef D, Wiener A, Frankel A, Kalisman N, Lerner B, Keasar C. 2011. Structure-based identification of catalytic residues. *Protein* 79: 1952-1963.
- Yanuar, Arry. 2012. *Penambatan Molekular Praktek dan Aplikasi pada Virtual Screening*. Depok: Fakultas Farmasi Universitas Indonesia.
- Yasothe 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.
- Yuki, K. M. (2020). COVID-19 pathophysiology: A review. *Clinical Immunology*.
- Zuhcrian, Mochammad Rezza. 2010. Penambatan Molekuler Beberapa Senyawa Xanton dari Tanaman Garcinia mangostana Linn. pada Enzim Plasmepsin pada Reduktase Protein Pembawa Enoil Asil Plasmodium falciparum. *Skripsi*. Depok: Universitas Indonesia.

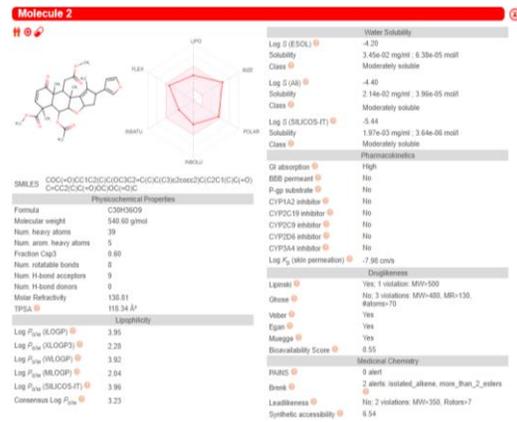
LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Prediksi Sifat Fisikokimia

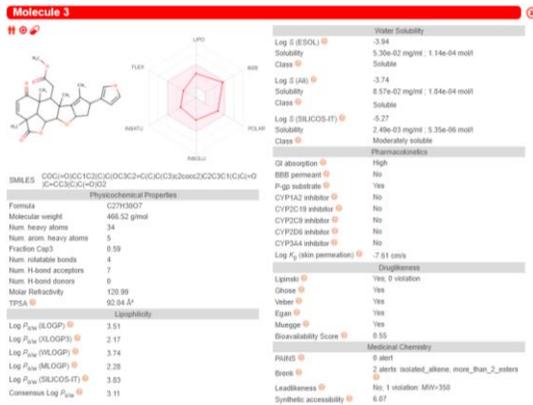
A. 6-deacetylnimbin



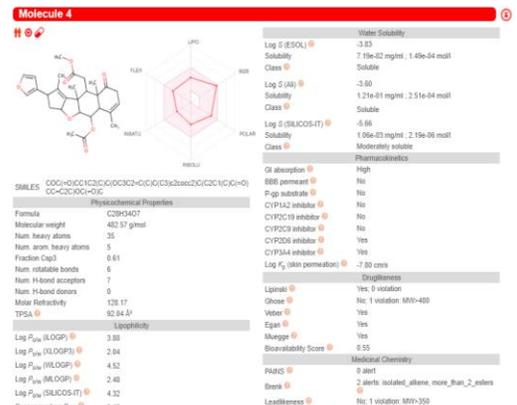
B. Nimbin



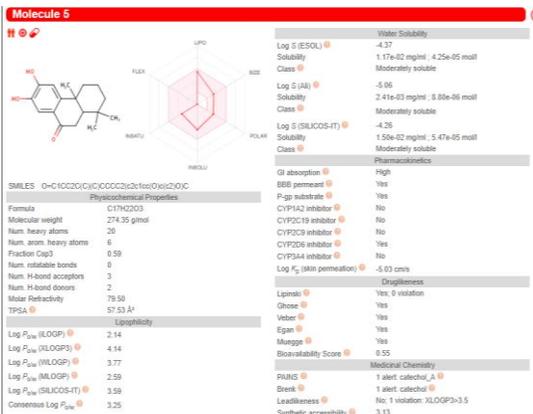
C. Nimbolide



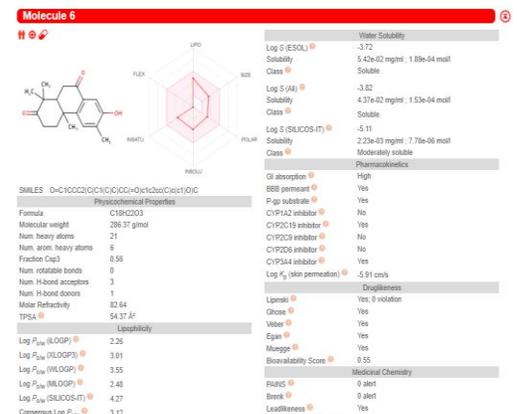
D. Nimbinene



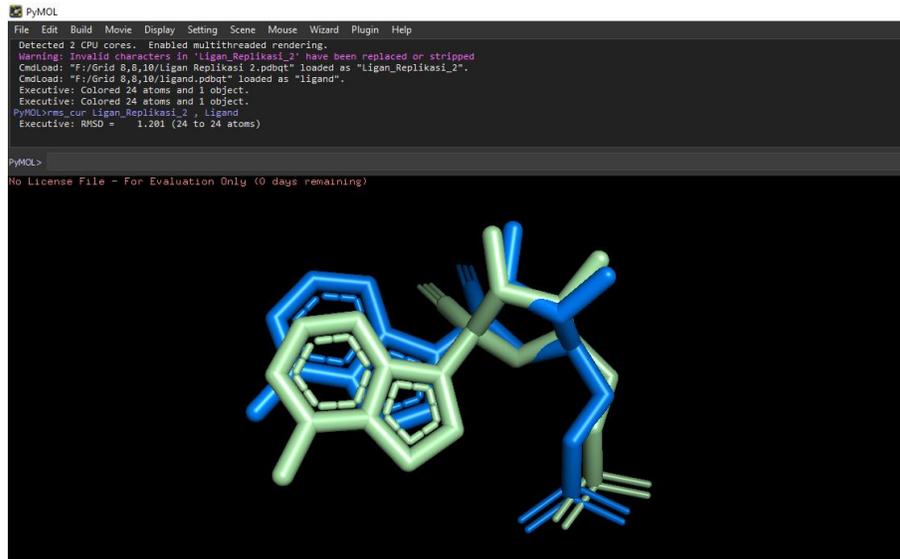
E. Nimbidiol



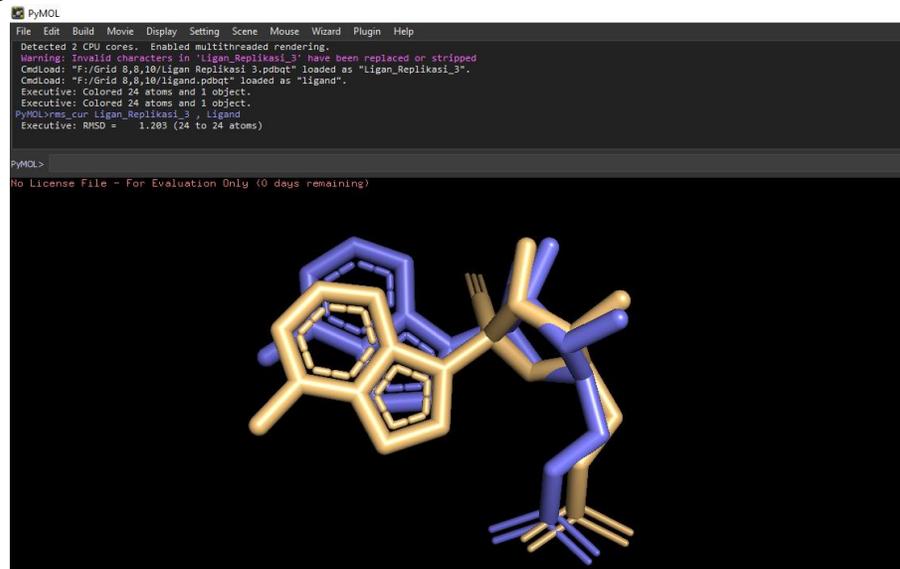
F. Nimbione



B. Replikasi 2



C. Replikasi 3



Lampiran 3. Hasil Penambatan Ligand – Reseptor

A. 6-deacetylnimbin

```
#####
# 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 6_deacetylnimbin_out.pdbqt
Reading input ... done.
Setting up the scoring function ... done.
Analyzing the binding site ... done.
Using random seed: 1737065688
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 | -5.3 | 1.288 | 1.651
3 | -5.3 | 1.731 | 2.492
4 | -5.2 | 2.380 | 4.808
5 | -5.1 | 3.419 | 6.951
6 | -5.0 | 2.891 | 6.159
7 | -4.9 | 2.168 | 7.215
8 | -4.9 | 3.700 | 7.170
9 | -4.9 | 3.103 | 7.090
10 | -4.8 | 2.511 | 4.902

Writing output ... done.
```

B. Nimbin

```
#####
# 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 Nimbin_out.pdbqt
Reading input ... done.
Setting up the scoring function ... done.
Analyzing the binding site ... done.
Using random seed: 1524375680
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 | -5.2 | 2.901 | 7.071
3 | -5.2 | 2.512 | 5.057
4 | -5.1 | 2.237 | 4.989
5 | -4.9 | 2.013 | 3.255
6 | -4.9 | 2.927 | 7.527
7 | -4.8 | 1.638 | 2.405
8 | -4.6 | 1.730 | 2.375
9 | -4.6 | 3.150 | 6.561
10 | -4.6 | 1.466 | 1.796

Writing output ... done.
```

C. Nimbolide

```
#####
# 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 Nimbolide_out.pdbqt
Reading input ... done.
Setting up the scoring function ... done.
Analyzing the binding site ... done.
Using random seed: 358038980
Performing search ... done.
Refining results ... done.

mode | affinity | dist from best mode
      | (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----|-----|-----|-----
1 | -6.2 | 0.000 | 0.000
2 | -5.8 | 1.622 | 2.349
3 | -5.7 | 2.953 | 4.822
4 | -5.6 | 2.191 | 5.620
5 | -5.5 | 2.196 | 4.820
6 | -5.5 | 2.643 | 4.986
7 | -5.4 | 2.118 | 4.448
8 | -5.3 | 1.696 | 2.358
9 | -5.2 | 3.038 | 7.093
10 | -5.2 | 2.369 | 4.562

Writing output ... done.
```

D. Nimbinene

```

#####
# 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 Nimbinene_out.pdbqt
Reading input ... done.
Setting up the scoring function ... done.
Analyzing the binding site ... done.
Using random seed: 931977808
Performing search ... done.
Refining results ... done.

mode | affinity | dist from best mode
| (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----|-----|-----|-----
1 | -5.4 | 0.000 | 0.000
2 | -5.4 | 2.258 | 4.955
3 | -5.2 | 1.941 | 4.952
4 | -5.1 | 1.973 | 5.794
5 | -5.1 | 1.970 | 4.789
6 | -4.9 | 1.818 | 5.548
7 | -4.9 | 2.040 | 4.937
8 | -4.9 | 1.621 | 2.103
9 | -4.7 | 2.220 | 6.421
10 | -4.6 | 2.171 | 5.990

Writing output ... done.

```

E. Nimbidiol

```

#####
# 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 Nimbidiol_out.pdbqt
Reading input ... done.
Setting up the scoring function ... done.
Analyzing the binding site ... done.
Using random seed: -1700259896
Performing search ... done.
Refining results ... done.

mode | affinity | dist from best mode
| (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----|-----|-----|-----
1 | -5.1 | 0.000 | 0.000
2 | -5.0 | 3.509 | 6.605
3 | -4.9 | 1.086 | 1.102
4 | -4.7 | 1.633 | 3.079
5 | -4.6 | 1.818 | 2.954
6 | -4.6 | 2.526 | 5.533
7 | -4.6 | 2.165 | 3.058
8 | -4.6 | 1.894 | 2.951
9 | -4.6 | 1.589 | 3.257
10 | -4.6 | 1.449 | 1.599

Writing output ... done.

```

F. Nimbione

```

#####
# 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 Nimbione_out.pdbqt
Reading input ... done.
Setting up the scoring function ... done.
Analyzing the binding site ... done.
Using random seed: -1889645248
Performing search ... done.
Refining results ... done.

mode | affinity | dist from best mode
| (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----|-----|-----|-----
1 | -5.3 | 0.000 | 0.000
2 | -5.2 | 2.822 | 6.594
3 | -5.2 | 2.277 | 5.567
4 | -5.1 | 2.311 | 3.246
5 | -5.0 | 3.385 | 6.462
6 | -5.0 | 2.846 | 4.851
7 | -5.0 | 1.976 | 5.791
8 | -4.9 | 2.561 | 5.945
9 | -4.9 | 2.119 | 6.072
10 | -4.8 | 2.601 | 5.738

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 | dist from best mode
      | (kcal/mol) | 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

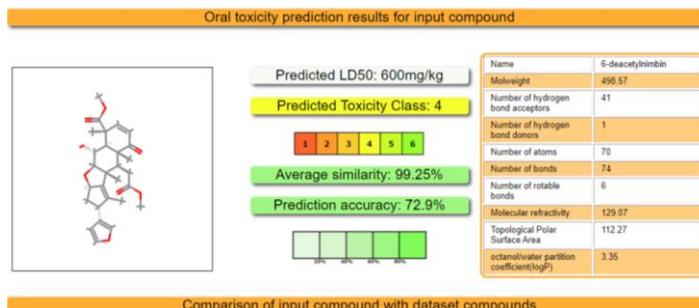
```
#####
# If you used AutoDock Vina in your work, please cite: #
# #
# O. Trott, A. J. Olson, #
# AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking #
# with a new scoring function, efficient optimization and #
# multithreading, Journal of Computational Chemistry 31 (2010) #
# 455-461 #
# DOI 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 | dist from best mode
      | (kcal/mol) | 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
```

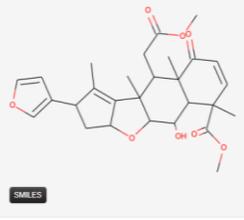
Lampiran 4. Hasil Prediksi Toksisitas

A. 6-deactylnimbin - Prottox II Online Tool



- pKCSM Online Tool

Molecule Depiction



SMILES

Molecule properties:

Descriptor	Value
Molecular Weight	498.572
Loop	3.3516

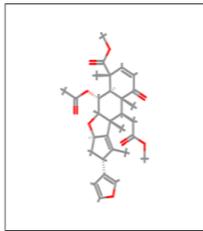
Property	Model Name	Predicted Value	Unit
Toxicity	AMES toxicity	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	Max. tolerated dose (human)	-0.733	Numeric (log mg/kg/day)
Toxicity	hERG I inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	hERG II inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	Oral Rat Acute Toxicity (LD50)	2.843	Numeric (mol/kg)
Toxicity	Oral Rat Chronic Toxicity (LOAEL)	1.833	Numeric (log mg/kg_bw/day)
Toxicity	Hepatotoxicity	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	Skin Sensitisation	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	T.Pyriformis toxicity	0.326	Numeric (log ug/L)
Toxicity	Minnow toxicity	1.119	Numeric (log mM)

[Run another prediction](#)
[Back](#)

B. Nimbin

- Prottox II Online Tool

Oral toxicity prediction results for input compound



Predicted LD50: 1000mg/kg

Predicted Toxicity Class: 4

1 2 3 4 5 6

Average similarity: 100%

Prediction accuracy: 100%

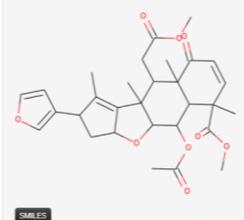
10% 40% 80% 100%

Name	nimbin
Moleweight	540.6
Number of hydrogen bond acceptors	44
Number of hydrogen bond donors	0
Number of atoms	75
Number of bonds	79
Number of rotatable bonds	8
Molecular refractivity	138.81
Topological Polar Surface Area	118.34
octanol/water partition coefficient(logP)	3.92

Comparison of input compound with dataset compounds

- pKCSM Online Tool

Molecule Depiction



SMILES

Molecule properties:

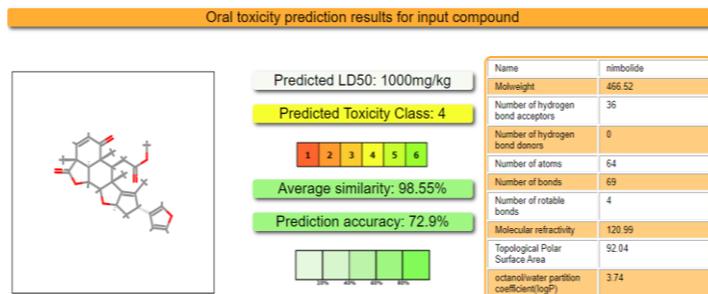
Descriptor	Value
Molecular Weight	540.609

Property	Model Name	Predicted Value	Unit
Toxicity	AMES toxicity	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	Max. tolerated dose (human)	-0.371	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)	2.48	Numeric (mol/kg)
Toxicity	Oral Rat Chronic Toxicity (LOAEL)	1.57	Numeric (log mg/kg_bw/day)
Toxicity	Hepatotoxicity	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	Skin Sensitisation	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	T.Pyriformis toxicity	0.295	Numeric (log ug/L)
Toxicity	Minnow toxicity	1.269	Numeric (log mM)

[Run another prediction](#)
[Back](#)

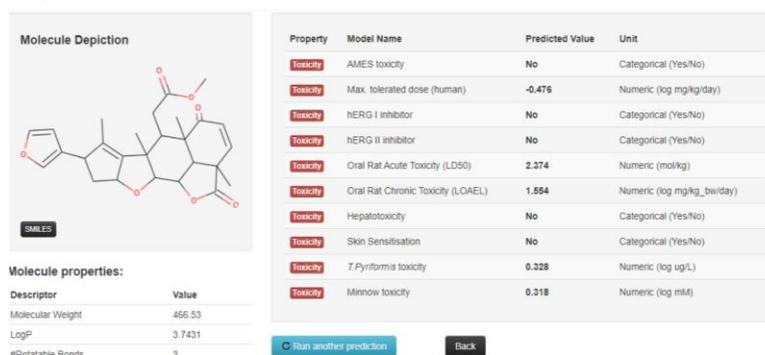
C. Nimbolide

- Prottox II Online Tool



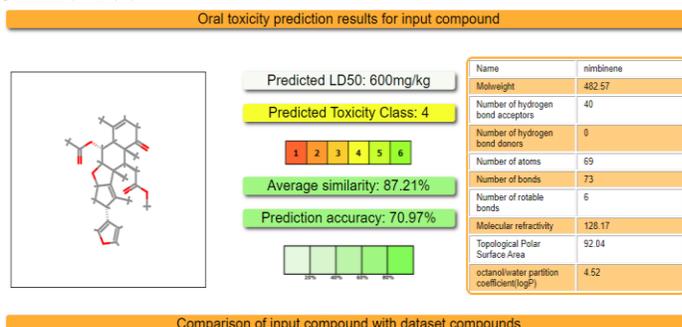
Comparison of input compound with dataset compounds

- pKCSM Online Tool



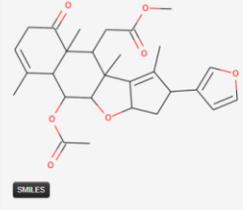
D. Nimbinene

- Prottox II Online Tool



- pKCSM Online Tool

Molecule Depiction



Molecule properties:

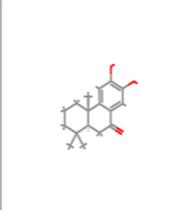
Descriptor	Value
Molecular Weight	482.573
LogP	4.5233
#Rotatable Bonds	4
#Aromaticity	7

Property	Model Name	Predicted Value	Unit
Toxicity	AMES toxicity	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	Max. tolerated dose (human)	-0.346	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)	3.072	Numeric (mol/kg)
Toxicity	Oral Rat Chronic Toxicity (LOAEL)	0.705	Numeric (log mg/kg_bw/day)
Toxicity	Hepatotoxicity	Yes	Categorical (Yes/No)
Toxicity	Skin Sensitisation	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	T.Pyriformis toxicity	0.318	Numeric (log ug/L)
Toxicity	Minnow toxicity	Running	Numeric (log mM)

E. Nimbidiol

- Protox II Online Tool

Oral toxicity prediction results for input compound



Predicted LD50: 760mg/kg

Predicted Toxicity Class: 4

1 2 3 4 5 6

Average similarity: 71.61%

Prediction accuracy: 69.26%

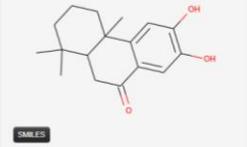
0% 20% 40% 60% 80%

Name	nimbidiol
Molweight	274.36
Number of hydrogen bond acceptors	25
Number of hydrogen bond donors	2
Number of atoms	42
Number of bonds	44
Number of rotatable bonds	0
Molecular refractivity	79.5
Topological Polar Surface Area	57.53
octanol/water partition coefficient(logP)	3.77

Comparison of input compound with dataset compounds

- pKCSM Online Tool

Molecule Depiction



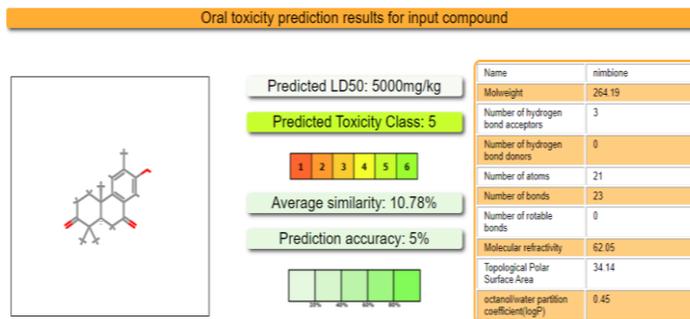
Molecule properties:

Descriptor	Value
Molecular Weight	274.36
LogP	3.7682
#Rotatable Bonds	0
#Acceptors	3

Property	Model Name	Predicted Value	Unit
Toxicity	AMES toxicity	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	Max. tolerated dose (human)	-0.434	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)	2.4	Numeric (mol/kg)
Toxicity	Oral Rat Chronic Toxicity (LOAEL)	2.174	Numeric (log mg/kg_bw/day)
Toxicity	Hepatotoxicity	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	Skin Sensitisation	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	T.Pyriformis toxicity	1.36	Numeric (log ug/L)
Toxicity	Minnow toxicity	0.805	Numeric (log mM)

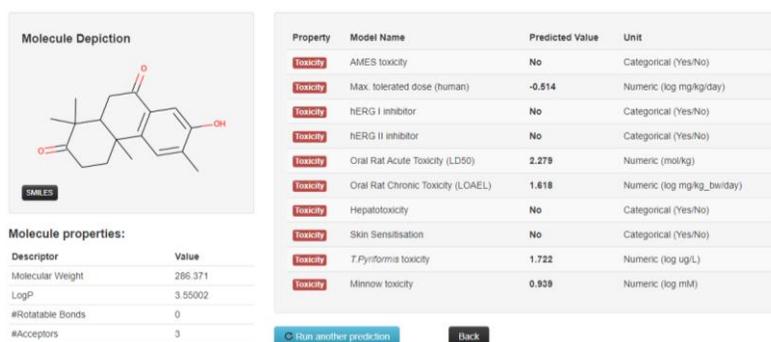
F. Nimbione

- Prottox II Online Tool



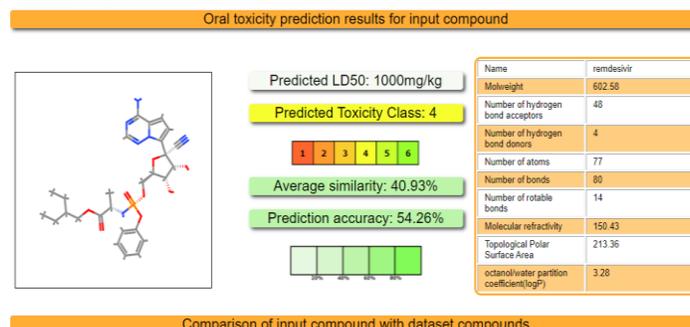
Comparison of input compound with dataset compounds

- pKCSM Online Tool



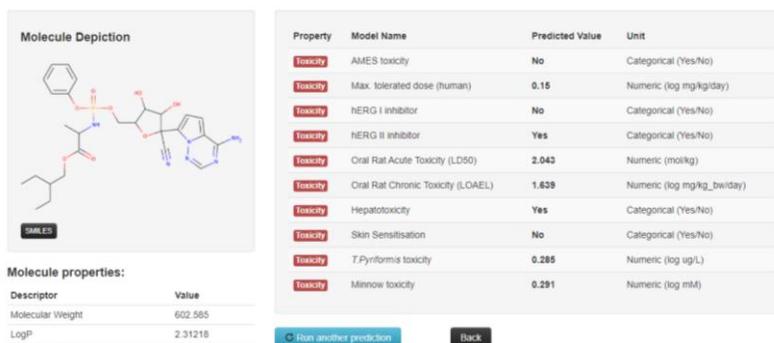
G. Remdesvir

- Prottox II Online Tool



Comparison of input compound with dataset compounds

- pKCSM Online Tool





KEMENTERIAN AGAMA REPUBLIK INDONESIA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN

Jl. Locari, Tlekung, Kota Batu, Tlp. 03415057739, Website: <http://fkik.uin-malang.ac.id>.
Email: fkik@uin-malang.ac.id(Fakultas), farmasi@uin-malang.ac.id(Prodi Farmasi)

LEMBAR PERSETUJUAN PERBAIKAN (REVISI)
SKRIPSI

Naskah Skripsi yang disusun oleh:

Nama : Felia Kurniasari
NIM : 17930043
Judul : Potensi Antivirus Senyawa Terpenoid Pada Tanaman Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) Terhadap Reseptor RdRp SARS-CoV-2 (7BV2) Secara *In Silico*
Tanggal Sidang : 18 Juni 2021

Telah dilakukan perbaikan sesuai dengan saran tim pembimbing dan tim penguji.

NO	NAMA DOSEN	TANGGAL REVISI	TANDA TANGAN
1	Dr. Begum Fauziah, S.Si., M.Farm.	07 JULI 2021	
2	apt. Yen Yen Ari I., M.Farm.Klin.	23 JUNI 2021	
3	Prof. Dr. apt. Roihatul Muti'ah, M.Kes.	09 JULI 2021	
4	apt. Hajar Sugihantoro, M.P.H.	24 JUNI 2021	

Catatan:

1. Batas waktu maksimum melakukan revisi naskah skripsi adalah 2 Minggu semenjak tanggal ujian skripsi, jika tidak selesai maka mahasiswa **HARUS** ujian ulang.
2. Lembar revisi dilampirkan dalam naskah skripsi yang telah dijilid (foto copy), dan aslinya dilampirkan di Bagian Unit Tugas Akhir Program Studi Farmasi selanjutnya mahasiswa berhak menerima Bukti Lulus Ujian Skripsi.

Malang, Juni 2021

Koordinator Unit Tugas Akhir

Ria Ramadhani Dwi Atmaja, S.Kep., NS., M.Kep.
NIP. 19850617 200912 2 005