

**STUDI IN SILICO SENYAWA NITAZOXANIDE DAN
ARBIDOL SEBAGAI ANTIVIRUS SARS-COV-2 TERHADAP
RESEPTOR NSP5 (7BQY DAN 2GZ7) DAN ACE2 (3D0G dan
1R4L)**

SKRIPSI

**Oleh:
AMI FINI FAQIHA
NIM. 17930035**



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

**STUDI IN SILICO SENYAWA NITAZOXANIDE DAN
ARBIDOL SEBAGAI ANTIVIRUS SARS-COV-2 TERHADAP
RESEPTOR NSP5 (7BQY DAN 2GZ7) DAN ACE2 (3D0G dan
1R4L)**

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**

**STUDY IN SILICO COMPOUND NITAZOXANIDE AND
ARBIDOL AS SARS-COV-2 ANTIVIRUS TOWARDS NSP5
(7BQY AND 2GZ7) AND ACE2 (3D0G AND 1R4L) RECEPTOR**

UNDERGRADUATE

**By:
AMI FINI FAQIHA
NIM. 17930035**

**A Thesis Submitted to:
Faculty of Medical and Health Science, the
State Islamic University of Malang in Partial Fulfillment for the
Requirements for the Degree of
Undergraduate of Pharmacy (S.Farm)**

**DEPARTMENT OF PHARMACY
MEDICAL AND HEALTH SCIENCE FACULTY
MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC
UNIVERSITY MALANG
2021**

**STUDI IN SILICO SENYAWA NITAZOXANIDE DAN ARBIDOL
SEBAGAI ANTIVIRUS SARS-COV-2 TERHADAP RESEPTOR NSP5
(7BQY DAN 2GZ7) DAN ACE2 (3D0G dan 1R4L)**

SKRIPSI

**Oleh:
AMI FINI FAQIHA
NIM. 17930035**

**Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:
Tanggal: 2021**

Pembimbing I

Pembimbing II



Prof. Dr. Apt. Roihatul Muti'ah, M.Kes

NIP. 19800203 200912 2003



Apt. Yen Yen AriUndrawijaya, M.Farm.Klin.

NIP. 19930130 20180201 2 203

**Mengetahui,
Ketua Program Studi Farmasi**



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

NIP. 19761214 200912 1 002

**STUDY IN SILICO COMPOUND NITAZOXANIDE AND ARBIDOL AS
SARS-COV-2 ANTIVIRUS TOWARDS NSP5 (7BQY AND 2GZ7) AND
ACE2 (3D0G AND 1R4L) RECEPTOR**

UNDERGRADUATE

**By:
AMI FINI FAQIHA
NIM. 17930035**

**Approved By:
Date: 2021**

Supervisor I



Prof. Dr. apt. Roihatul Muti'ah, M.Kes

NIP. 19800203 200912 2003

Supervisor II



Apt. Yen Yen Ari Indrawijaya, M.Farm.Klin.

NIP. 19930130 20180201 2 203

**Acknowledged,
Head of Pharmacy Department**



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

NIP. 19761214 200912 1 002


**STUDI IN SILICO SENYAWA NITAZOXANIDE DAN ARBIDOL
SEBAGAI ANTIVIRUS SARS-COV-2 TERHADAP RESEPTOR NSP5
(7BQY DAN 2GZ7) DAN ACE2 (3D0G dan 1R4L)**


SKRIPSI


**Oleh:
AMI FINI FAQIHA
NIM. 17930035**


**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi Dan Dinyatakan
Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan Untuk Memperoleh Gelar Sarjana
Farmasi (S.Farm)**

Tanggal:

Ketua Penguji : Apt. Yen Yen Ari Indrawijaya , M.Farm.Klin. 
NIP. 19930130 20180201 2 203

Anggota Penguji : 1. Prof. Dr. Apt. Roihatul Muti'ah, M.Kes 
NIP. 19800203 200912 2003

2. drg. Arief Suryadinata, Sp.,Ort. 
NIP. 19850720 200912 1 003

3. Muhammad Amiruddin, Lc., M.Pd. 
NIP. 19780317 20180201 1 218

**Mengesahkan,
Ketua Program Studi Farmasi**



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

**STUDY IN SILICO COMPOUND NITAZOXANIDE AND ARBIDOL AS
SARS-COV-2 ANTIVIRUS TOWARDS NSP5 (7BQY AND 1P9U) AND
ACE2 (3D0G) RECEPTOR**

UNDERGRADUATE

**By:
AMI FINI FAQIHA
NIM. 17930035**

**Has Been Examined by Comitte Member of Examiner as The Requirements
for the Degree of Undergraduate of Pharmacy (S.Farm)**

Date ..

Ketua Penguji : Apt. Yen Yen Ari Indrawijaya , M.Farm.Klin

NIP. 19930130 20180201 2 203

Anggota Penguji : 1. Prof. Dr. Apt. Roihatul Muti'ah, M.Kes

NIP. 19800203 200912 2003

2. drg. Arief Suryadinata, Sp.,Ort.

NIP. 19850720 200912 1 003

3. Muhammad Amiruddin, Lc., M.Pd.

NIP. 19780317 20180201 1 218



**Approved by,
Head of Pharmacy Department**



apt. Abdur Halim, M.P.I., M. Farm

NIP. 19761214 200912 1 002

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Ami Fini Faqiha

NIM : 17930035

Program studi : Farmasi

Fakultas : Kedokteran Dan Ilmu-Ilmu Kesehatan

Judul Penelitian : Studi In Silico Senyawa Nitazoxanide dan Arbidol sebagai Antivirus SARS-CoV-2 terhadap Reseptor NSP5 (7BQY dan 2GZ7) dan ACE2 (3D0G dan 1R4L)

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-banar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan 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 bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 3 Agustus 2021

Yang membuat pernyataan,



Ami Fini Faqiha

NIM. 17930035

MOTTO

Hidup adalah serangkaian variabel

Life is full of ups and downs

Tidak mengapa untuk larut dalam kesedihan, namun perlu melakukan healing dengan segera agar keterpurukan itu tidak menguasai diri.

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillah saya panjatkan segala puji kepada Allah SWT dengan senantiasa bersyukur atas segala nikmat, taufik, rahmat dan hidayah-Nya sehingga bisa skripsi ini bisa terselesaikan.

Dengan rasa berterimakasih, karya sederhana ini saya persembahkan kepada:

1. Kedua orang tua, abi saya Dr. Miftahu Soleh, M. Sc dan umi saya Titik Budi Trisula, S. Pd. Terimakasih telah mendukung dan mendoakan saya selalu sehingga saya bisa sampai sejauh ini. Saya mengetahui didikan dan batasan-batasan yang saya terima tujuannya agar nantinya saya bisa menjadi orang yang sukses. Tanpa support kalian saya tidak akan bisa melangkahi zona nyaman ini.
2. Saudara saudari saya yang selalu menemani saya mengerjakan skripsi. Saya berterimakasih sekali kepada saudari saya Fatnun Fajriyah yang selalu menyemangati dan membantu saya tanpa pamrih. Harik Baskara yang berkenan meminjamkan laptopnya saat laptop saya ada kendala. Aulia Akbar yang selalu menjadi moodbooster saya.
3. Diriku sendiri yang mampu bangkit di masa terpuruk yang tidak dapat saya bayangkan bisa mengalaminya saat pengerjaan skripsi ini. Walaupn mental saya tidak begitu kuat, saya mampu mengerjakan BAB V dan VI skripsi dan melakukan penelitian selama kurang lebih 2 minggu dengan effort yang besar, kerja bagus!
4. Kepada Arief yang tidak segan membantu dan mengajari saya dengan sabar. Terimakasih untuk setiap waktu yang telah diberikan sejak semester tujuh.
5. Kepada pembimbing saya Prof. Dr. Apt. Roihatul Muti'ah, M.Kes dan Apt. Yen Yen Ari Indrawijaya, M.Farm. Klin. yang selalu support dan meluangkan waktunya untuk membimbing saya. drg. Arief Suryadinata, Sp.,Ort. dan Muhammad Amiruddin, Lc., M.Pd. sebagai penguji saya.
6. Bapak Yuwono, S.sos selaku admin Program Studi Farmasi beserta staff Program Studi Farmasi yang banyak membantu dan memberikan support selama perkuliahan
7. Teman-teman tersayang *Farmakan*, terutama Mahfirani Ayuningrum, Felia Kurniasari, Rosalina Yunindra, Futna Naufa, Yudin *and the gank*, Dhanti dan Nanda Garin yang tanpa henti memberikan support dan bantuan selama masa perkuliahan. Saya bersyukur Allah SWT telah mengenalkan kalian kepada saya. Semoga Allah SWT selalu menuntun kalian di jalan yang baik untuk menuju kesuksesan
8. Semua pihak yang telah membantu saya saat masa perkuliahan yang tidak bisa saya sebutkan satu-satu.

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Segala puji bagi Allah SWT. yang telah memberikan nikmat, rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang merupakan salah satu syarat kelulusan Strata-1 (S-1) di Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Penulis menyadari bahwa telah banyak pihak yang telah berpartisipasi dalam karya sederhana ini. Iringan do'a, harapan jazakumullah ahsanal jaza' dan ucapan terimakasih penulis haturkan kepada:

1. Prof. Dr. Abdul Haris, M.Ag., selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Prof. Dr. dr. Yuyun Yueniwati P.W., M.Kes., Sp.Rad (K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Apt. Abdul Hakim, M.P.I., M.Farm. selaku ketua program studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Prof. Dr. apt. Roihatul Muti'ah, M.Kes dan Apt. Yen Yen Ari Indrawijaya., M.Farm. Klin. selaku dosen pembimbing skripsi yang sangat banyak membantu memberikan pengarahan dan pengalaman yang berharga.
5. Meilina Ratna D,S.Kep., Ns., M.Kep. Selaku dosen wali yang selalu memberikan semangat dan dukungan
6. Segenap sivitas akademik Program Studi Farmasi terutama seluruh dosen, staff dan asisten laboratorium, terimakasih banyak atas segala ilmu yang tidak terbatas dan bimbingannya selama masa perkuliahan.
7. Arief Hidayatullah selaku asisten Laboratorium Biotek Universitas Malang yang telah memberikan pengalaman dan arahan kepada penulis
8. Keluargaku, abi saya Dr. Miftahu Soleh, M. Sc., umi saya Titik Budi Trisula, S. Pd., serta saudara saudariku tercinta yang selalu memberikan doa dan dukungan kepada penulis.
9. Teman-teman yang telah memberikan pengalaman serta motivasinya kepada penulis
10. Semua pihak yang telah berpartisipasi dan membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik berupa materiil maupun moril.

Penulis menyadari dalam skripsi ini banyak sekali kekurangan namun diharapkan dari tulisan ini penulis dapat memberikan manfaat bagi pembaca maupun peneliti selanjutnya.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Malang, 3 Agustus 2021

Penulis



Amri Fidi Faqiha

NIM 17930035

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	
HALAMAN PENGAJUAN	
HALAMAN PENGESAHAN	
HALAMAN PERNYATAAN	
MOTTO	
HALAMAN PERSEMBAHAN	
KATA PENGANTARi
DAFTAR ISI iii
DAFTAR GAMBAR vii
DAFTAR TABELix
DAFTAR SIMBOLx
DAFTAR LAMPIRAN xiii
ABSTRAKxiv
ABSTRACTxv
مستخلص البحثxvi
BAB I PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang 1
1.2. Rumusan Masalah9
1.3. Tujuan Penelitian9
1.4. Manfaat Penelitian 10
1.5. Batasan Masalah 10
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Tinjauan COVID-19 12
2.2. Nitazoxanide 17
2.2.1 Tinjauan Bahan 17
2.2.2 Identitas Obat 17

2.2.3	Aktivitas Obat Nitazoxanide Sebagai Antivirus	21
2.3.	Arbidol	23
2.3.1	Tinjauan Bahan	23
2.3.2	Identitas Obat	24
2.3.4	Aktivitas Obat Arbidol Sebagai Antivirus	26
2.4.	Macam Reseptor	29
2.4.1	Reseptor <i>Main Protease</i>	31
2.4.2	Reseptor <i>Angiotensin-Converting Enzyme 2 (ACE2)</i>	32
2.5	Tinjauan Senyawa Pembanding	34
2.6	Interaksi Obat-Reseptor	37
2.6.1	Ikatan Hidrogen	37
2.6.2	Ikatan Hidrofobik	38
2.7	Hukum Lima Lipinski	38
2.8	Toksistas	39
2.9	Metode In silico	41
2.9.1	<i>Molecular Docking</i>	42
2.10	Tinjauan Aplikasi	45
2.10.1	PyRx	45
2.10.2	PyMOL	46
2.10.3	AutoDockTools-1.5.6	47
2.10.4	SwissADME	47
2.10.5	SPSS 25.0 <i>for windows</i>	47
2.10.6	pkCSM Online Tool	49
2.10.7	Protein Data Bank (PDB)	49
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL		
3.1	Kerangka Konseptual	50
3.1.1	Bagan Kerangka Konseptual.....	50
3.1.2	Uraian Kerangka Konseptual	51
3.2	Hipotesis Penelitian	52

BAB IV METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	53
4.1.1 Jenis Penelitian	53
4.1.2 Rancangan Penelitian	53
4.2 Waktu dan Tempat Penelitian	53
4.3 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	53
4.4 Alat dan Bahan Penelitian	55
4.4.1 Alat	55
4.4.2 Bahan	55
4.5 Prosedur Penelitian	60
4.5.1 Skema Kerja Penelitian	60
4.5.2 Preparasi Ligan	61
4.5.3 Prediksi Sifat Fisikokimia dan Toksisitas Ligan.....	61
4.5.4 Preparasi Protein Reseptor	62
4.5.5 Penambatan Molecular <i>Docking</i>	62
4.5.6 Visualisasi Hasil <i>Docking</i>	63
4.6 Analisa Data	63

BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Preparasi Sampel dalam Metode <i>In Silico</i>	65
5.1.1 Pengunduhan ligan dan senyawa pembanding.....	66
5.1.2 Penyiapan Struktur 2 Dimensi dan 3 Dimensi (ligan, reseptor, senyawa pembanding)	67
5.1.3 Penentuan <i>Minimal Energy</i>	69
5.1.4 Pembuatan Kode SMILES	71
5.1.5 Pembacaan Parameter Kritis Menggunakan SwissADME (ligan dan senyawa pembanding)	72
5.1.6 Prediksi Sifat Toksisitas	76
5.2 Penambatan Molekul Ligand-Reseptor.....	79
5.2.1 Pengunduhan reseptor	79
5.2.2 Penyiapan struktur tiga dimensi Reseptor.....	80

5.2.3 Penentuan <i>Grid Box Center</i> dan <i>Sizes</i>	82
5.2.4 Validasi Reseptor	84
5.2.5 Hasil Penambatan Ligand-Reseptor.....	87
5.2.5.1 Hasil Docking Senyawa Terhadap Reseptor 7BQY	88
5.2.5.2 Hasil Docking Senyawa Terhadap Reseptor 2GZ7	90
5.2.5.3 Hasil Docking Senyawa Terhadap Reseptor 3D0G.....	91
5.2.5.4 Hasil Docking Senyawa Terhadap Reseptor 1R4L	93
5.3 Penentuan Interaksi Ligan dengan Asam Amino.....	95
5.3.1 Interaksi Residu Asam Amino 7BQY.....	98
5.3.2 Interaksi Residu Asam Amino 2GZ7.....	101
5.3.3 Interaksi Residu Asam Amino 3D0G	104
5.3.4 Interaksi Residu Asam Amino 1R4L.....	107
5.4 Perbandingan interaksi ligan dengan senyawa perbandingan menggunakan analisa ANOVA	110
BAB VI PENUTUP	
6.1 Kesimpulan	117
6.2 Saran	118
DAFTAR PUSTAKA	119
LAMPIRAN	138

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Mekanisme masuknya sel SARS-CoV-2	15
Gambar 2.2 Struktur 2D Nitazoxanide.....	17
Gambar 2.3 Struktur 3D Nitazoxanide.....	18
Gambar 2.4 Struktur 2D Arbidol	24
Gambar 2.5 Struktur 3D Arbidol	24
Gambar 2.6 Struktur virus SARS-CoV-2	29
Gambar 2.7 Struktur 3D Protein 7BQY.....	31
Gambar 2.8 Struktur 3D Protein 2GZ7	32
Gambar 2.9 Struktur 3D Protein 3D0G	34
Gambar 2.10 Struktur 3D Protein 1R4L	34
Gambar 2.11 Struktur 2D Lopinavir	35
Gambar 2.12 Hasil docking Chloroquine dengan ACE2 (6CS2)	36
Gambar 2.13 Struktur 2D Chloroquine.....	36
Gambar 2.14 Mekanisme berbagai obat memerangi infeksi SARS-CoV-2	37
Gambar 2.15 Teori <i>The Lock and Key</i>	43
Gambar 2.16 Teori <i>The Induced-Fit</i>	44
Gambar 3.1 Bagan Kerangka Konsep.....	50
Gambar 4.1 Struktur 3D Nitazoxanide	56
Gambar 4.2 Struktur 3D Arbidol	56
Gambar 4.3 Struktur 3D NSP5 (7BQY)	57
Gambar 4.4 Struktur 3D NSP5 (2GZ7)	57
Gambar 4.5 Struktur 3D ACE2 (3D09)	58
Gambar 4.6 Struktur 3D ACE2 (1R4L).....	58
Gambar 4.7 Struktur 3D Lopinavir	59
Gambar 4.8 Struktur 3D Chloroquine.....	59
Gambar 4.9 Skema kerja penelitian	60

Gambar 5.1 Struktur tiga dimensi senyawa Nitazoxanide (A). Struktur tiga dimensi senyawa Arbidol (B). Struktur tiga dimensi senyawa Lopinavir (C). Struktur tiga dimensi senyawa Chloroquine (D).....	68
Gambar 5.2 Struktur dua dimensi senyawa Nitazoxanide (A). Struktur dua dimensi senyawa Arbidol (B). Struktur dua dimensi senyawa Lopinavir (C). Struktur dua dimensi senyawa Chloroquine (D).....	69
Gambar 5.3 Hasil pengunduhan reseptor (A) <i>Non Structural Protease-5</i> (7BQY) (B) <i>Non Structural Protease-5</i> (2GZ7) (C) <i>Angiotensin-converting enzyme 2</i> (3D0G) (D) <i>Angiotensin-converting enzyme 2</i> (1R4L).....	80
Gambar 5.4 Hasil penyiapan struktur tiga dimensi reseptor (A) <i>Non Structural Protease-5</i> (7BQY) (B) <i>Non Structural Protease-5</i> (2GZ7) (C) <i>Angiotensin-converting enzyme 2</i> (3D0G) (D) <i>Angiotensin-converting enzyme 2</i> (1R4L)	82
Gambar 5.5 Bentuk tiga dimensi antara Nitazoxanide (warna cyan) dan Lopinavir (warna ungu) dengan reseptor 7BQY, tercantumkan juga <i>active site</i> His41 dan Cys145 (warna kuning).....	98
Gambar 5.6 Bentuk dua dimensi antara (A) Nitazoxanide (B) Lopinavir dengan reseptor 7BQY	99
Gambar 5.7 Bentuk tiga dimensi antara Nitazoxanide (warna cyan) dan Lopinavir (warna ungu) dengan reseptor 2GZ7 (warna orange), tercantumkan juga <i>active site</i> His41 dan Cys145 (warna kuning).....	101
Gambar 5.8 Bentuk dua dimensi antara Nitazoxanide dan Lopinavir dengan reseptor 2GZ7	102
Gambar 5.9 Bentuk tiga dimensi antara Arbidol (warna cyan) dan Chloroquine (warna ungu) dengan reseptor 3D0G (warna orange), tercantumkan juga <i>active site</i> Arg357 dan Val487 (kuning)	104
Gambar 5.10 Bentuk dua dimensi antara (A) Arbidol (B) Chloroquine dengan reseptor 3D0G	105
Gambar 5.11 Bentuk tiga dimensi antara Arbidol (warna cyan) dan Chloroquine (warna ungu) dengan reseptor 1R4L (warna orange), tercantumkan juga <i>active site</i> Arg357 dan His505 (kuning).....	107
Gambar 5.12 Bentuk dua dimensi antara (A) Arbidol (B) Chloroquine dengan reseptor 1R4L	108

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1 Kriteria Struktur Protein (reseptor)	67
Tabel 5.2 Hasil penentuan minimal energy (kcal/mol) senyawa <i>Nitazoxanide</i> dan Arbidol menggunakan metode MMFF94	70
Tabel 5.3 Hasil code SMILES Nitazoxanide, Arbidol, Lopinavir dan Chloroquine	71
Tabel 5.4 Hasil pembacaan sifat fisikokimia dengan menerapkan hukum lima Lipinski terhadap senyawa protein Nitazoxanide dan Arbidol, serta pada senyawa pembanding Lopinavir dan Chloroquine.....	73
Tabel 5.5 Hasil prediksi sifat toksisitas senyawa protein Nitazoxanide dan Arbidol, serta pada senyawa pembanding Lopinavir dan Chloroquine menggunakan <i>pkCSM Online Tools</i> dan <i>Protox II Online Tools</i>	77
Tabel 5.6 Hasil validasi docking dari nilai RMSD.....	86
Tabel 5.7 Hasil <i>docking</i> senyawa Nitazoxanide, Lopinavir dan <i>native ligand</i> terhadap reseptor 7BQY	89
Tabel 5.8 Hasil <i>docking</i> senyawa Nitazoxanide, Lopinavir dan <i>native ligand</i> terhadap reseptor 2GZ7	90
Tabel 5.9 Hasil <i>docking</i> senyawa Arbidol, Chloroquine dan <i>native ligand</i> terhadap reseptor 3D0G	92
Tabel 5.10 Hasil <i>docking</i> senyawa Arbidol, senyawa pembanding Chloroquine dan <i>native ligand</i> terhadap reseptor 1R4L	94
Tabel 5.11 Asam amino dan gugus fungsi yang terlibat dalam ikatan hydrogen dan interaksi sterik pada reseptor 7BQY	100
Tabel 5.12 Asam amino dan gugus fungsi yang terlibat dalam ikatan hydrogen dan interaksi sterik pada reseptor 2GZ7	103
Tabel 5.13 Asam amino dan gugus fungsi yang terlibat dalam ikatan hydrogen dan interaksi sterik pada reseptor 3D0G	106
Tabel 5.14 Asam amino dan gugus fungsi yang terlibat dalam ikatan hydrogen dan interaksi sterik pada reseptor 1R4L	109
Tabel 5.15 Analisa hasil <i>binding affinity</i> menggunakan metode ANOVA.....	113
Tabel 5.16 Analisa hasil <i>affinity</i> menggunakan Uji <i>Mann Whitney</i>	115

DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN

π	: Pi
σ	: Sigma
Å	: Angstrom
°C	: Derajat celcius
%	: Persen
2019- nCoV	: 2019 novel coronavirus
2D	: <i>2 Dimension</i>
3CLpro	: 3-Chymotrypsin like protease
3D	: <i>3 Dimension</i>
ACE2	: <i>Angiotensin-converting enzyme 2</i>
ADME	: Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, dan Eksresi
APC	: <i>Antigen Presentation Cells</i>
ARDS	: <i>Acute Respiratory Distress Syndrome</i>
BM	: Berat Molekul
COVID-19	: Coronavirus 2019
CT scan	: <i>Computerised Tomography scan</i>
Da	: Dalton
DPP4	: <i>Dipeptidyl peptidase 4</i>
DNA	: Deoksiribonukleat
E protein	: Protein envelop
EFA	: <i>Exploratory Factor Analysis</i>
FDA	: <i>Food and Drug Administration</i>
H ₀	: Hipotesis nol
HA	: Hemaglutinin
HBA	: <i>Hydrogen Bond Acceptors</i>
HBD	: <i>Hydrogen Bond Donors</i>

HE	: <i>Hemagglutinin Esterase</i>
HIV	: <i>Human Immunodeficiency Virus</i>
HKSA	: Hubungan Kuantitatif Struktur dan Aktivitas
IC ₅₀	: <i>Inhibition Concentration 50%</i>
IE2	: <i>Immediate Early 2</i>
IgG	: <i>Immunoglobulin G</i>
IgM	: <i>Immunoglobulin M</i>
IL6	: Interleukin 6
IFN-alpha	: <i>Interferon alpha</i>
LD ₅₀	: <i>Lethal Dose 50%</i>
LPV/r	: Lopinavir
Log P	: Logaritma koefisien partisi
M protein	: Protein membran
MERS-CoV	: <i>Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus</i>
MLR	: <i>Multiple Linear Regression</i>
M ^{pro}	: <i>Main protease</i>
N protein	: Protein nukleokapsid
NH ₂	: Amina
NSP	: <i>Nonstructural protein</i>
NTZ	: Nitazoxanide
OH	: Hidroksil
PDB	: Protein Data Bank
PLpro	: <i>Papain-like protease</i>
PRRs	: <i>Pattern Recognition Receptors</i>
RBD	: <i>Receptor-binding domain</i>
RBV	: Ribavirin
RdRp	: <i>RNA-dependent RNA polymerase</i>
RMSD	: <i>Root Mean Square Deviation</i>
RNA	: <i>Ribonukleat acid</i>

S protein	: Spike glikoprotein
SARS	: <i>Severe Acute Respiratory Syndrome</i>
SARS-CoV-2	: <i>Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2</i>
SGPT	: <i>Serum Glutamic Pyruvate Transaminase</i>
TMPRSS2	: <i>Transmembrane Protease Serine 2</i>
g	: Gram
kcal	: Kilokalori
kg	: Kilogram
µg	: Microgram
µM	: Mikrometer
mg	: Miligram
mmol	: Milimol
mol	: Mol
ml	: Milliliter
pdqt	: <i>Protein Data Bank, Partial Charge (Q), & Atom Type (T)</i>
pH	: <i>Power of Hydrogen</i>
pKa	: Konstanta disosiasi asam

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Hasil penentuan <i>Grid Box Center</i> dan <i>Sizes</i> dengan aplikasi CB-Dock	138
Lampiran 2	Hasil Analisis Uji-T Pada reseptor 7BQY	141
Lampiran 3	Hasil Analisis Uji-T Pada reseptor 2GZ7	142
Lampiran 4	Hasil Analisis Uji-T Pada reseptor 3D0G	144
Lampiran 5	Hasil Analisis Uji-T Pada reseptor 1R4L.....	145
Lampiran 6	Hasil Analisis Uji <i>Mann Whitney</i> Pada reseptor 7BQY	147
Lampiran 7	Hasil Analisis Uji <i>Mann Whitney</i> Pada reseptor 1R4L.....	148

ABSTRAK

Faqiha, Ami Fini. 2021. Studi *In Silico* Senyawa Nitazoxanide dan Arbidol sebagai Antivirus SARS-CoV-2 terhadap Reseptor NSP5 (7BQY Dan 2GZ7) dan ACE2 (3D0G Dan 1R4L). *Skripsi*. Program Studi Farmasi. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing (I) Prof. Dr. Roihatul Muti'ah, S. F., M.Kes., Apt (II) Apt. Yen Yen Ari Indrawijaya, M.Farm.Klin.

COVID-19 merupakan penyakit pandemi yang disebabkan oleh virus SARS-CoV-2. Virus tersebut merupakan jenis coronavirus baru. Terapi pengobatan terhadap gejala COVID-19 dapat menggunakan obat sintesis. Penelitian kali ini menggunakan obat sintesis seperti Nitazoxanide dan Arbidol. Nitazoxanide merupakan obat *pro-drug* untuk tizoxanide. Obat tersebut diketahui memiliki aktivitas antivirus pada MERS-CoV. Arbidol memiliki aktivitas antivirus pada H3N2 HA, H3N2 HA diketahui memiliki kesamaan struktur dengan SARS-CoV-2. Tujuan dilaksanakannya penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antivirus SARS-CoV-2 senyawa Nitazoxanide dan Arbidol secara *in silico*. Senyawa Nitazoxanide dan Arbidol dipreparasi terlebih dahulu dengan melakukan pengunduhan kode PDB ID, penyiapan struktur 2D dan 3D, penentuan *minimal energy*, pembuatan kode SMILES serta prediksi sifat fisikokimia dan toksisitas. Setelah dipreparasi, dilanjutkan proses penambatan molekul menggunakan aplikasi PyRx-Vina. Hasil *docking* dianalisis dengan perangkat lunak PyMOL dan *Discovery Studio Visualizer*. Hasil menunjukkan bahwa senyawa Arbidol dan Nitazoxanide telah memenuhi hukum Lima Lipinski dan masing-masing memiliki nilai LD₅₀ sebesar 1350 mg/kg dan 340 mg/kg. Interaksi yang dihasilkan yaitu ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, interaksi elektrostatik dan lainnya. Nitazoxanide terhadap reseptor 2GZ7 serta Arbidol terhadap reseptor 3D0G dan 1R4L menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan nilai $p < 0.05$, sehingga senyawa tersebut diprediksi berpotensi (sebagai obat) lebih baik daripada senyawa pembanding.

Kata Kunci: COVID-19, *Nitazoxanide*, *Arbidol*, Fisikokimia, Toksisitas dan *In silico*

ABSTRACT

Faqiha, Ami Fini. 2021. Study In Silico Compound Nitazoxanide and Arbidol as SARS-CoV-2 Antivirus towards NSP5 (7BQY and 2GZ7) and ACE2 (3D0G dan 1R4L) Receptor. *Thesis*. Department of Pharmacy. Faculty of Medicine and Health Sciences. Maulana Malik Ibrahim State Islamic University Malang. Advisor (I) Prof. Dr. Roihatul Muti'ah, S. F., M.Kes., Apt (II) Apt. Yen Yen Ari Indrawijaya, M.Farm.Klin.

COVID-19 is a pandemic disease caused by SARS-CoV-2. The virus is a new type of coronavirus. Treatment of COVID-19 symptoms can use synthetic drugs. This research uses synthetic drugs such as Nitazoxanide and Arbidol. Nitazoxanide is a pro-drug for tizoxanide. The drug is known to have antiviral activity on MERS-CoV. Arbidol has antiviral activity on H3N2 HA, H3N2 HA is known to have a similar structure with SARS-CoV-2. The purpose of this study was to determine the antiviral activity of the SARS-CoV-2 compound Nitazoxanide and Arbidol in silico. First, Nitazoxanide and Arbidol compounds were prepared by downloading the PDB ID code, preparing 2D and 3D structures, determining the minimum energy, generating SMILES codes, and predicting physicochemical and toxicity properties. After preparation, the docking process was continued using the PyRx-Vina application. Docking results were analyzed using PyMOL and Discovery Studio Visualizer software. The results showed that Arbidol and Nitazoxanide complied with Lipinski's Rule of Five and had LD₅₀ values of 1350 mg/kg and 340 mg/kg, respectively. The resulting interactions are hydrogen bonds, hydrophobic interactions, electrostatic interactions, and others. Nitazoxanide to 2GZ7 receptors and Arbidol to 3D0G and 1R4L receptors showed significant differences with p-value < 0.05 so that these compounds were predicted to have better potential (as drugs) than the comparison compounds.

Keyword: COVID-19, *Nitazoxanide*, *Arbidol*, Physicochemical, Toxicity dan *In silico*

مستخلص البحث

فقيهة عامي فيني. 2021. في دراسة السيليكو لمركبات النيتازوكسانيد والأرييدول كمضاد للفيروسات SARS-CoV-2 ضد مستقبلات NSP5 (7BQY و 2GZ7) و ACE2 (3D0G و 1R4L). البحث الجامعي. قسم الصيدلة. كلية الطب والعلوم الصحية. جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. مشرفة (I) ا.د. رائحة المطيعة الماجستير، (II) ين ين آري إندراويجايا الماجستير.

COVID-19 هو داء وبائي الذي يسببه SARS-CoV-2 وهو نوع جديد من فيروس كورونا. يمكن أن يستخدم العلاج لأعراض COVID-19 الأدوية الصناعية. تستخدم هذه الدراسة الأدوية الصناعية Nitazoxanide و Arbidol. Nitazoxanide دواء مؤيد لعقار تيزوكسانيد، الذي له نشاط مضاد للفيروسات ضد MERS-CoV. Arbidol له نشاط مضاد للفيروسات على H3N2 HA، ومن المعروف أن H3N2 HA له هيكل مماثل لـ SARS-CoV-2. من أهداف هذه الدراسة هو لمعرفة النشاط المضاد للفيروسات لمركب Nitazoxanide و Arbidol في السيليكو. تم تحضيرهما مسبقًا عن طريق تنزيل رمز PDB ID، واعداد هياكل الأبعاد الثانية والثالثة، وتحديد الحد الأدنى من الطاقة وصناعة رمز SMILES، وتقدير الخصائص الفيزيائية والكيميائية والسمية. بعد تم التحضير، استمرت عملية التثبيت الجزيئي باستخدام تطبيق PyRx-Vina. حللت نتائج الإرساء باستخدام برنامج PyMOL و Discovery Studio Visualizer. أظهرت النتائج أن Arbidol و Nitazoxanide يتوافقان مع قوانين Lipinski الخمسة وأن قيم LD50 تبلغ 1350 مجم / كجم و 340 مجم / كجم على التوالي. التفاعلات الناتجة هي الروابط الهيدروجينية والتفاعلات الكارهة للماء والتفاعلات الكهروستاتيكية وغيرها. أظهر Nitazoxanide إلى مستقبلات 2GZ7 ومستقبلات Arbidol إلى 3D0G و 1R4L اختلافات كبيرة مع قيمة $p < 0.05$ ، لذلك كان من المتوقع أن يكون لهذه المركبات إمكانات أفضل (كأدوية) من مركبات المقارنة.

الكلمات المفتاحية : Covid-19، Nitazoxanide، Arbidol، فيسيكوكيميا، التسمم، و
السيليكو

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Nama virus korona diambil dari tampilannya yang diteliti dengan mikroskop. Ketika diteliti, virus berbentuk bulat itu memiliki mahkota dari protein yang disebut peplomer yang menonjol keluar dari pusatnya ke segala arah, sehingga dinamakan korona dari kata “crown” dengan makna "mahkota". Protein ini membantu virus mengidentifikasi apakah ia dapat menginfeksi inangnya. Kondisi yang dikenal sebagai *Severe Acute Respiratory Syndrome* (SARS) juga dikaitkan dengan *coronavirus* yang sangat menular di awal tahun 2000-an (WHO, 2020; Alinia-ahandani dkk, 2020). Penyakit ini disebabkan oleh virus *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2* (SARS-CoV-2), yang sebelumnya disebut sebagai novel coronavirus 2019 (2019-nCoV) (CDC, 2020). SARS-CoV-2 adalah jenis *coronavirus* baru yang merupakan agen penyebab pandemi penyakit coronavirus 2019 (COVID-19) (Zhou et al, 2020).

Penyakit ini penyebaran utamanya melalui droplet pernapasan dari batuk dan bersin. (Alinia-ahandani dkk, 2020; CDC, 2020). Paru-paru adalah organ dengan risiko infeksi terbesar oleh COVID-19 karena virus mengakses sel inang melalui enzim *angiotensin-converting enzyme 2* (ACE2), enzim ini banyak terdapat di sel alveolar tipe II paru-paru. Dengan menggunakan spike glikoprotein, virus menambatkan diri ke reseptor ACE2 dan menginfeksi sel inang (Letko et al., 2020). Saat gangguan alveolar terus meningkat, mungkin akan terjadi kegagalan pernafasan hingga kematian. ACE2 mungkin juga menjadi jalur

virus untuk menyerang jantung yang dapat menyebabkan *acute cardiac injury*. Orang dengan kondisi kardiovaskular yang tidak baik memiliki prognosa terburuk (Alinia-ahandani dkk, 2020).

Tatalaksana terapi simptomatis dan terapi oksigen merupakan langkah pertama untuk mengatasi gangguan pernapasan. Proses pembuatan vaksin yang aman dan efektif sangat penting karena dengan adanya vaksin dapat memberikan perlindungan bagi orang yang divaksinasi maupun masyarakat luas dengan mengurangi penyebaran penyakit dalam suatu populasi (Orensteina dan Ahmedb, 2017). Vaksin merupakan agen biologis yang memiliki respon imun terhadap antigen spesifik dari patogen penyebab penyakit menular (Czochor dan Turchick, 2014). Namun produksi vaksin membutuhkan waktu bertahun-tahun (Sari dan Sriwidodo, 2020).

Adapun obat-obat yang Negara Cina tetapkan yaitu: IFN-alpha, LPV/r, RBV, Klorokuin fosfat dan Arbidol. Obat tersebut direkomendasikan selama 10 hari dan dilakukan percobaan uji klinis (Dong et al, 2020). Dalam penelitian Sari dan Sriwidodo (2020), beberapa vaksin yang sudah masuk ke dalam tahap klinik, yaitu diantaranya: vaksin oxford-AstraZeneca® (Fase 2b/3 dan Fase ½); vaksin CanSino (Fase 2 dan Fase 1); vaksin Moderna (mRNA-1273) (Fase 1-2); vaksin Sinopharm (Fase 1-2); vaksin Sinopharm (Fase ½); vaksin Sinovac (Fase ½); vaksin Novavax (Fase ½); vaksin Pfizer dan BioNTech (Fase ½); vaksin inaktif oleh Institute of Medical Viology, Chinese Academy of Medical Science (Fase 1) dan vaksin Inovio (Fase 1)

Terapi pengobatan COVID-19 dapat menggunakan obat sintesis maupun obat herbal. Pada penelitian kali ini menggunakan obat sintesis dikarenakan

peneliti berkeinginan untuk memusatkan bagian dari *FDA-approved small molecules and biologics* yang biasanya digunakan untuk mengobati penyakit jantung, peradangan dan penyakit menular. *Small molecule* dipilih agar dapat memastikan kriteria Hukum Lima Lipinski dapat terpenuhi. Salah satu kriterianya yaitu Berat Molekul (BM), apabila nilai BM lebih dari 500 Da maka obat tersebut tidak dapat berdifusi menembus membrane sel (Lipinski et al, 1997). Salah satu obat yang diidentifikasi sebagai *small molecules* adalah Nitazoxanide. Studi tambahan yang dilakukan dengan *small molecule inhibitors* yang diprioritaskan, menunjukkan bahwa senyawa ini memiliki efek *moderate* terhadap masuknya virus dan mengganggu interaksi antara *spike protein* dan ACE2 (Risner et al, 2020). Nitazoxanide merupakan obat pro-drug untuk tizoxanide (metabolit primer dari nitazoxanide (Pankuch dan Peter, 2006)), yang memiliki sifat antivirus berspektrum luas, memiliki banyak indikasi virus dan menunjukkan farmakodinamik yang menjanjikan terhadap Coronaviridae (Pepperell, 2020).

Obat Nitazoxanide belum diuji pada pasien COVID-19 tetapi sebelumnya menunjukkan konsentrasi IC_{50} yang sangat tinggi yaitu 0.83 $\mu\text{g/ml}$ terhadap *Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus* (MERS-CoV). Dan nilai ini serupa dengan yang diamati pada influenza dan virus lainnya (canine coronavirus 1 $\mu\text{g/ml}$) (Rossignol, 2016). Hasil evaluasi genomik isolasi dari 10 pasien dengan tujuan penelitiannya untuk menentukan kesamaan antara SARS-CoV-2 dengan SARS-CoV dan MERS-CoV, didapatkan kesamaan (identik 88%) dengan *bat_derived Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS)-like coronaviruses*, bat-SL-CoVZC45 dan bat-SLCoVZXC21, yang diambil pada tahun 2018 di Zhoushan, Cina bagian Timur. Ketiga virus tersebut memiliki kedekatan dengan

SARS-CoV 79% dan dengan MERS-CoV 50% (Lu et al, 2020). Selain itu pada penelitian yang dilakukan oleh Rossignol (2014) dilakukan uji in vitro tizoxanide pada *canine coronavirus* (*coronavirus* pada anjing) dan menunjukkan bahwa tizoxanide merupakan antivirus (*canine coronavirus*) yang sangat kuat. Dalam konteks model infeksi MERS-CoV, Nitazoxanide juga terbukti menurunkan ekspresi *proinflammatory cytokine* IL6, yang juga berimplikasi pada kerusakan inflamasi yang ditimbulkan akibat infeksi SARS-CoV-2 (Risner, 2020).

Obat *small molecule inhibitors* lainnya yaitu Arbidol, Arbidol adalah antivirus berspektrum luas dengan aktivitasnya melawan beberapa penyakit seperti influenza, parainfluenza, coronavirus, polio, demam Lassa, virus pernafasan syncytial, adenovirus, Coxsackie B5, dan hepatitis B dan C dan beberapa virus lainnya (Blaising et al, 2014; Boriskin et al, 2008; Herod et al, 2019; Pecheur et al, 2016). Arbidol terbukti menghambat perubahan konformasi low-pH dari hemagglutinin (HA) dan menghalangi proses fusi (Kadam dan Wilson, 2017). Virus influenza (H3N2) HA memiliki kesamaan rangkaian atau struktur dengan SARS-CoV-2 *spike glycoprotein*. Analisis sekuens dan protein komparatif menunjukkan wilayah sempit domain trimerisasi (S2) (aa947-aa1027) dari SARS-CoV-2 *spike glycoprotein* memiliki kemiripan dengan H3N2 HA (Wrapp et al, 2020; Vankadari, 2020). Pada penelitian Blaising et al (2014), arbidol dapat berikatan dengan membran lipid dan dapat mengubah konfigurasi membran sitoplasma atau endosom, yang sangat penting untuk perlekatan dan fusi virus. Arbidol juga diketahui mampu memblokir masuknya virus dengan menghalangi pelekatan dan pelepasan virus dari ELs (Wang et al, 2020). Arbidol maupun Nitazoxanide belum terdaftar di Indonesia berdasarkan web BPOM

(cekbpom.pom.go.id), oleh karenanya berdasarkan literature mengenai indikasinya, maka kedua senyawa tersebut dapat berpotensi sebagai obat baru di Indonesia.

Reseptor yang digunakan yaitu NSP5 atau yang biasa disebut dengan M^{pro} (Wu et al, 2020) maupun *3-Chymotrypsin like protease* (3CLpro) (Zhang et al, 2020). Pemilihan reseptor ini dikarenakan mekanismenya dalam memediasi replikasi dan transkripsi protein-protein virus, mekanisme ini sangat penting dalam menentukan kelangsungan hidup CoV (Jin et al, 2020). 3CLpro SARS-CoV berperan dalam replikasi virus dan proses infeksi, sehingga dapat dijadikan terapi yang ideal sebagai antivirus (Geoffrey, 2020). Pada penelitian Niak et al (2020), peneliti telah melakukan *molecular docking* ligan Nitazoxanide pada reseptor 6Lu7, diketahui reseptor tersebut termasuk dalam struktur NSP5 atau M^{pro}, dan didapatkan nilai afinitas sebesar $-6,7$ kcal/mmol. Selain itu telah dilakukan penelitian oleh Oliveira dan Kelson (2020), dilakukan *molecular docking* ligan Nitazoxanide pada reseptor NSP5 atau 3CLpro dan didapatkan nilai afinitas $-7,6$ kcal/mmol. Dapat disimpulkan ligan tersebut menunjukkan interaksi dengan 2019-nCoV M^{pro} dapat menghambat NSP5. Pemilihan reseptor ACE2 dikarenakan enzim ini memiliki tiga fungsi fisiologis, yaitu sebagai *negative regulator* pada sistem renin-angiotensin, fasilitator transport asam amino dan reseptor tempat terikatnya SARS-CoV maupun SARS-CoV-2 (Gheblawi et al, 2020). ACE2 terlibat dalam pengaturan fungsi jantung dan sebagai reseptor fungsional untuk virus korona, yang terkait dengan *Severe Acute Respiratory Syndrome* (SARS) (Khelfaoui, et al 2020). Selain itu telah dilakukan penelitian oleh Padhi et al (2021) terhadap reseptor ACE2 (6LZG) dan didapatkan nilai

binding affinity -5,7 kcal/mmol. Oleh karenanya, Arbidol disinyalir dapat menghambat fusi membran SARS-CoV-2 ke sel inang.

Untuk menentukan keefektifan ligan yang diuji sebagai obat baru, maka dilakukan juga perbandingan nilai *binding affinity* dengan senyawa pembanding yang telah diketahui efektif terhadap SARS-CoV-2. Senyawa pembanding yang digunakan yaitu Chloroquine dan Lopinavir. Chloroquine memiliki mekanisme dalam menghambat perlekatan virus ke reseptor ACE2 dan menginduksi degenerasi endosom yang mengandung virus. ACE2 sendiri memiliki fungsi dalam pengikatan SARS-S ke ACE2 di permukaan sel inang dan memungkinkan fusi dua membran (yaitu, inang dan virus) dan masuknya virus (Oroojalian et al, 2020). Senyawa pembanding lainnya yaitu Lopinavir. Lopinavir menunjukkan aktivitas *in vitro* menghambat 3CLpro atau M^{pro}, sebuah protein yang berperan dalam perbanyakan virus (de Wilde, 2014). Lopinavir menekan pembentukan peptida yang diperlukan untuk perakitan mesin replikasi virus (*RNA-dependent RNA polymerase* (RdRp)) (Oroojalian et al, 2020).

Kemajuan bidang teknologi pada zaman sekarang ini, khususnya yang akan dibahas dalam penelitian ini yaitu komputer, dapat menjadi salah satu cara untuk dilakukannya pengujian senyawa obat dalam penemuan obat baru. Penemuan obat baru dengan metode *in silico* atau secara komputerisasi merupakan metode yang baru ada di zaman sekarang ini. Maka dapat dipastikan dengan berjalannya waktu, teknologi maupun bidang lainnya akan ikut berkembang. Oleh karenanya, sebagai manusia yang telah diberikan akal oleh Allah agar memanfaatkannya dengan menimba ilmu dan senantiasa mengikuti

perkembangan ilmu yang baru. Salah satunya pada Qur'an Surah An Naml ayat 15:

وَلَقَدْ آتَيْنَا دَاوُدَ وَسُلَيْمَانَ عِلْمًا وَقَالَا الْحَمْدُ لِلَّهِ الَّذِي فَضَّلَنَا عَلَى كَثِيرٍ مِّنْ عِبَادِهِ الْمُؤْمِنِينَ

١٥

“Dan sesungguhnya Kami telah memberi ilmu kepada Daud dan Sulaiman; dan keduanya mengucapkan: "Segala puji bagi Allah yang melebihkan kami dari kebanyakan hamba-hambanya yang beriman".” (QS. An Naml : 15).

Menurut tafsir dari Teungku Muhammad Hasbi As-Shiddiqiey, kata (العلم)

pada firman Allah tersebut berarti Allah telah memberikan ilmu kepada Daud dan kepada anaknya, Sulaiman, ilmu yang didapat mengenai zat-Nya, sifat-sifat *jalal*-Nya dan *kamal*-Nya, suatu ilmu yang paling mulia yang mengumpulkan kebajikan dunia dan akhirat. Selanjutnya pada kata (الحمد) memiliki arti, kemudian mereka dengan keyakinan dan kemauan yang teguh mengamalkan ilmu yang diterima dengan mengerjakan semua macam ketaatan, menjauhi segala macam maksiat serta bersyukur kepada Allah SWT (Ash-Shiddieqy, 2000).

Firman ini menunjukkan keutamaan ilmu (Ash-Shiddieqy, 2000) dan dengan berilmu Allah akan mengangkat derajat hambanya. Selain terangkatnya derajat, orang yang berilmu tentunya memiliki kompetensi profesional yaitu berupa penguasaan ilmu pengetahuan. Nabi Sulaiman AS. menguasai dan memiliki banyak ilmu. Ilmu-ilmu tersebut merupakan karunia yang secara khusus diberikan oleh Allah SWT kepada para nabi dan rasul utusan-Nya sekaligus memperkokoh kedudukannya sebagai nabi dan rasul utusan Allah SWT. Jika dikaitkan dengan kompetensi pendidik dalam konteks pendidikan nasional di Indonesia, maka kemampuan menguasai bidang ilmu yang diajarkan termasuk ke dalam kompetensi professional (Yandri, 2018). Dengan ilmu, manusia dapat

menyelesaikan tugas-tugasnya dan menjalani kehidupannya di dunia maupun sebagai bekal di akhirat nanti.

Ilmu pengetahuan dan teknologi komputasi yang semakin maju dan berkembang merupakan peluang para pelajar untuk mempelajarinya secara mendalam kemudian mengembangkan ilmu tersebut melalui simulasi dan kalkulasi dalam merancang obat. Metode yang sekarang sedang dikembangkan adalah pemodelan molekul. Metode ini digunakan untuk memprediksi sifat (ADME), toksisitas, dan mengetahui gambaran interaksi obat dengan reseptor (Schlick, 2010). Teknik ini disebut *uji in silico* yang mempunyai peran dalam rangka merancang, menemukan dan optimasi senyawa bioaktif pada proses pengembangan obat (Hinchliffe, 2008; Siswandono, 2016)

Untuk melakukan simulasi *molecular docking* dibutuhkan aplikasi docking. Aplikasi yang digunakan yaitu PyRx 0.8. Program PyRx-Vina dipilih karena tidak berbayar (gratis), mudah dioperasikan, akurat, memiliki tingkat error yang rendah dan hasilnya dapat dipercaya (Trott dan Olson, 2010). Metode Vina sendiri merupakan salah satu metode yang terdapat di program PyRx-Vina. Jika dibandingkan dengan program gratis lainnya, Vina memiliki keunggulan dalam melakukan docking yang cepat dan akurat (Saputri et al, 2016).

Penelitian ini penting untuk dilakukan karena dalam pengembangan obat COVID-19 diperlukan dalam memprediksi sifat (ADME), toksisitas dan mengetahui gambaran interaksi obat dengan reseptor. Obat ini diharapkan dapat menjadi salah satu solusi dalam pemilihan obat COVID-19. Uji yang dilakukan pada penelitian ini adalah uji nilai afinitas dan RMSD, uji interaksi dan prediksi sifat fisikokimia maupun toksisitas Nitazoxanide. Kemudahan ligan untuk di

absorpsi dan permeabilitasnya ditunjukkan dengan terpenuhinya Hukum Lima Lipinski (Lipinski, 2017). Selain itu, keamanan suatu target obat dapat dilihat dari nilai *Lethal Dose 50* (LD₅₀), *skin sensitization*, *Ames toxicity* dan *Hepatotoxicity*nya secara *in silico*.

1.2 Rumusan Masalah

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

1. Bagaimana sifat fisikokimia senyawa Nitazoxanide dan Arbidol berdasarkan Hukum Lipinski?
2. Berapa toksisitas senyawa Nitazoxanide dan Arbidol secara *in silico*?
3. Bagaimana aktivitas senyawa Nitazoxanide terhadap reseptor NSP5 (7BQY dan 2GZ7) dan Arbidol terhadap reseptor ACE2 (3D0G dan 1R4L)?
4. Bagaimana perbandingan aktivitas antara Nitazoxanide dengan senyawa pembanding Lopinavir terhadap reseptor NSP5 (7BQY dan 2GZ7) dan Arbidol dengan senyawa pembanding Chloroquine terhadap reseptor ACE2 (3D0G dan 1R4L)?

1.3 Tujuan Penelitian

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

1. Menguji bagaimana sifat fisikokimia senyawa Nitazoxanide dan Arbidol berdasarkan Hukum Lipinski
2. Menguji toksisitas senyawa Nitazoxanide dan Arbidol secara *in silico*

3. Menguji aktifitas senyawa Nitazoxanide dan Arbidol sebagai obat COVID-19 masing-masing terhadap reseptor NSP5 (7BQY dan 2GZ7) dan ACE2 (3D0G dan 1R4L)
4. Menguji perbandingan aktivitas antara Nitazoxanide dengan senyawa pembanding Lopinavir terhadap reseptor NSP5 (7BQY dan 2GZ7) dan Arbidol dengan senyawa pembanding Chloroquine terhadap reseptor ACE2 (3D0G dan 1R4L)

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian bagi peneliti maupun masyarakat luas yaitu dapat memberikan informasi dan ilmu tentang nilai afinitas dan RMSD, sifat fisikokimia, toksisitas dan interaksi senyawa Nitazoxanide dan Arbidol sebagai antivirus COVID-19 melalui reseptor NSP5 (7BQY dan 2GZ7) dan ACE2 (3D0G dan 1R4L). Informasi ini dapat dijadikan bahan pertimbangan para peneliti dalam penelitian selanjutnya.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Ligan (senyawa) yang digunakan adalah Nitazoxanide dan Arbidol
2. Protein target yang digunakan adalah NSP5 (7BQY dan 2GZ7) dan ACE2 (3D0G dan 1R4L)
3. Pembanding yang digunakan adalah Chloroquine dan Lopinavir

4. Uji *in silico* antara ligan (senyawa) Nitazoxanide dan Arbidol dengan reseptor target menggunakan aplikasi PyRx 0.8.
5. Untuk melihat senyawa apakah lebih baik dibandingkan dengan senyawa pembanding menggunakan aplikasi SPSS 25.0 *for windows*
6. Parameter *molecular docking* berupa nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD), interaksi hydrogen, interaksi asam amino dan interaksi hidrofobik.
7. Parameter kelas toksisitas berdasarkan LD₅₀, *skin sensitization*, *Ames toxicity* dan *Hepatotoxicity* menggunakan *Protox online tool* dan *pkCSM Online tool* secara *in silico*.
8. Parameter prediksi sifat fisikokimia berupa Berat Molekul (BM), logaritma koefisien partisi (Log P), *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA), *Hydrogen Bond Donors* (HBD) dan *molar refractivity* menggunakan SwizADME
9. Parameter interaksi protein dengan ligan (konformasi struktur molekul hasil docking) menggunakan aplikasi Discovery Studio Visualizer dan PyMOL

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan COVID-19

Pada Desember 2019, kasus pneumonia misterius pertama kali dilaporkan di Wuhan, Provinsi Hubei. Sumber penularan kasus ini masih belum diketahui pasti, tetapi kasus pertama dikaitkan dengan pasar ikan di Wuhan (Rothan dan Siddappa, 2020). Tanggal 18 Desember hingga 29 Desember 2019, terdapat lima pasien yang dirawat dengan *Acute Respiratory Distress Syndrome* (ARDS) (Ren et al, 2020). Awalnya kebanyakan laporan datang dari Hubei dan provinsi di sekitar, kemudian bertambah hingga ke provinsi-provinsi lain dan seluruh China (Wu et al, 2020).

Rabu, 8 Januari 2019, outlet berita dan ProMED-mail melaporkan bahwa kasus di Wuhan memiliki sekuensing genetik yang menunjukkan virus corona jenis baru sebagai organisme penyebab penyakit pneumonia tersebut. Mengingat sejarah baru-baru ini penularan zoonosis dari virus corona yang muncul dari pasar hewan hidup di Cina pada tahun 2002, dan potensi patogen baru untuk menyebar dengan cepat secara global melalui perjalanan udara (Bogoch et al, 2020). Penyakit ini mulanya dinamakan sebagai 2019 novel coronavirus (2019-nCoV), kemudian WHO mengumumkan pada 11 Februari 2020 bahwa telah terjadi epidemi Coronavirus Disease (Covid19) yang disebabkan oleh virus Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS-CoV2) (WHO,2020).

COVID-19 pertama dilaporkan di Indonesia pada tanggal 2 Maret 2020 sejumlah dua kasus (WHO, 2020). Jumlah kasus yang dikonfirmasi dan kematian

akibat pandemi COVID-19 global meningkat setiap hari. Jumlah kasus COVID-19 di seluruh dunia menurut STAT sampai tanggal 8 Juli 2021 mencapai angka 132.486.716 kasus dengan angka kematian 3.997.096 jiwa dan presentase perubahan rata-rata kematian per 2 mingguan sebesar -18%, sedangkan jumlah kasus COVID-19 di Indonesia mencapai angka 1.973.388 kasus dengan angka kematian 62.908 jiwa.

Pandemi ini tentunya menjadi musibah yang membawa hikmah serta keberkahan bagi warga Negara Indonesia. Namun, apabila seorang hamba mencoba bersabar dan ikhlas terhadap musibah tersebut, Allah SWT akan menyediakan ganjaran yang serupa atau lebih dari musibah yang dialaminya. Allah SWT telah menjanjikan balasan yang lebih baik dari dunia dan seisinya kepada penerima musibah berupa tingkatan derajat, pahala, kenikmatan dan hidayah dari Allah SWT (Syofrianisda, 2015). Allah SWT telah berfirman dalam Al-Qur'an surah Al-Baqarah ayat 157 yang berbunyi:

أُولَٰئِكَ عَلَيْهِمْ صَلَوَاتٌ مِّن رَّبِّهِمْ وَرَحْمَةٌ ۖ وَأُولَٰئِكَ هُمُ الْمُهْتَدُونَ ١٥٧

Artinya: *“Mereka itulah yang mendapat keberkatan yang sempurna dan rahmat dari Tuhan mereka dan mereka itulah orang-orang yang mendapat petunjuk”*

Menurut tafsir dari Ahmad bin Muhammad al-Shawiy, kata (صلوات) merupakan jamak dari kata (الصلوات) yang berarti (المغفرة) dimana artinya ialah

ampunan, sementara jika dijama'kan kata (الصلوات) memiliki makna memberikan

ampunan, sementara jika dijama'kan kata (الصلوات) memiliki makna memberikan

isyarat bahwasannya baginya ampunan terus menerus. Selanjutnya pada kata

(الرحمة) adalah (النعمة) maksudnya kesempurnaan hidayat baginya, Allah SWT memberikan hidayah yang sempurna kepadanya (al-Shawiy, 2004).

Musibah pandemi ini dapat diantisipasi salah satunya dengan menghindari keramaian sesuai dalam penelitian Baghdadi et al. (2021), bahwa pemerintah dalam mengantisipasi penyebaran pandemi secara global memberikan kebijakan penting untuk menghindari keramaian dengan memanfaatkan media berbasis internet dalam pembelajaran. Saling bertemu dan menyebabkan keramaian merupakan tindakan membahayakan bagi diri sendiri dan orang lain. Nabi saw. melarang terjadinya semua hal tindakan membahayakan yang tidak dapat dibenarkan. Seorang muslin di mana saja hendaknya mendatangkan keamanan bagi dirinya dan lingkungan sekitar (Al-Hanbali, 2015). Seperti yang tercantum dalam hadits berikut:

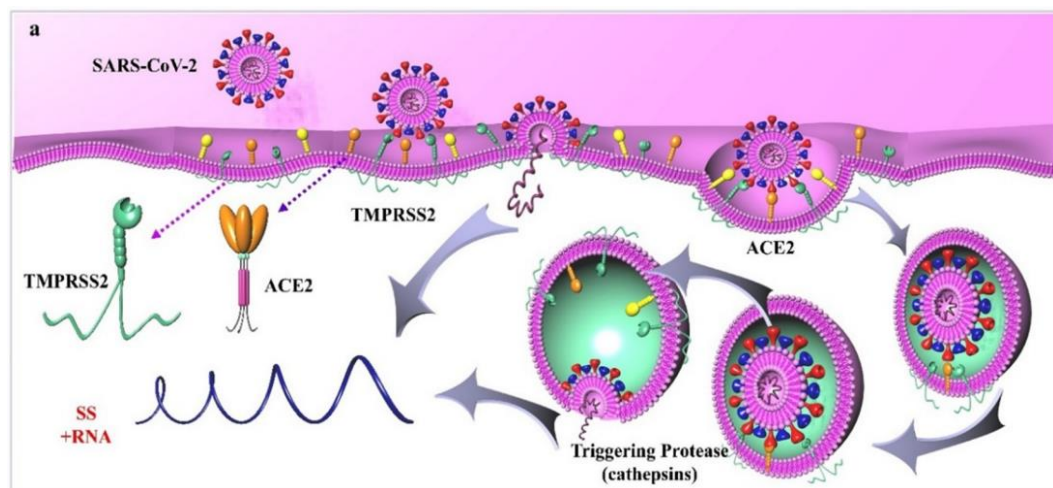
عَنْ أَبِي سَعِيدٍ سَعْدُ بْنُ سِنَانَِ الْخُدْرِيِّ رَضِيَ اللَّهُ عَنْهُ أَنَّ رَسُولَ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ قَالَ : لَا

ضَرَرَ وَلَا ضِرَارَ

Dari Abu Sa'id, Sa'ad bin Sinan al-Khudri RA, sesungguhnya Rasulullah SAW bersabda: “*Tidak boleh (ada) bahaya dan membahayakan*” (Al-Qazwini, *Sunan Ibnu Majah*, no. 2340).

Coronavirus yang menjadi etiologi COVID-19 termasuk dalam genus betacoronavirus. Hasil analisis filogenetik menunjukkan bahwa virus ini masuk dalam subgenus yang sama dengan coronavirus yang menyebabkan wabah *Severe Acute Respiratory Illness* (SARS) pada 2002-2004 silam, yaitu Sarbecovirus (Zhu et al, 2020). Terdapat dua mekanisme masuknya sel SARS-CoV, yaitu yang

pertama dengan tidak adanya protease pengaktif SARS-S, virus diinternalisasi melalui pengikatan SARS-S ke *angiotensin-converting enzyme 2* (ACE2) di permukaan sel inang. Di dalam endosom, SARS-S kemudian dibelah dan diaktifkan oleh cathepsin L, suatu protease sistein yang bergantung pada pH. Mekanisme yang kedua SARS-S dapat diaktifkan oleh TMPRSS2 pada permukaan membran sel inang ketika protease ini diekspresikan bersama dengan ACE2 yang memungkinkan fusi dua membran (yaitu, inang dan virus) dan masuknya virus (Oroojalian et al, 2020).



Gambar 2.1 Mekanisme masuknya sel SARS-CoV-2 (Oroojalian et al, 2020)

Proses replikasi virus COVID-19 yaitu SARS-CoV-2 berikatan dengan reseptor-reseptor dan membuat jalan masuk ke dalam sel, kemudian glikoprotein yang terdapat pada *envelope spike* virus akan berikatan dengan reseptor selular berupa ACE2 pada SARS-CoV-2. SARS-CoV-2 akan melakukan duplikasi materi genetik dan mensintesis protein-protein yang dibutuhkan, kemudian membentuk virion baru yang muncul di permukaan sel. Glikoprotein pada selubung virus yang baru terbentuk, masuk dan tumbuh ke dalam membran retikulum endoplasma atau

Golgi sel. Lalu terjadi pembentukan nukleokapsid yang tersusun dari genom RNA dan protein nukleokapsid. Vesikel yang mengandung partikel virus akan bergabung dengan membran plasma untuk melepaskan komponen virus yang baru. Ketika virus masuk ke dalam sel, antigen virus akan dipresentasikan ke *Antigen Presentation Cells* (APC). Selanjutnya menstimulasi respons imunitas humoral dan selular tubuh yang dimediasi oleh sel T dan sel B yang spesifik terhadap virus. Pada respons imun humoral terbentuk IgM dan IgG terhadap SARS-CoV. IgM terhadap SAR-CoV hilang pada akhir minggu ke-12 dan IgG dapat bertahan jangka panjang. Diketahui virus memiliki mekanisme untuk menghindari respons imun pejamu. SARS-CoV dapat menginduksi produksi vesikel membran ganda yang tidak memiliki *Pattern Recognition Receptors* (PRRs) dan bereplikasi dalam vesikel tersebut sehingga tidak dapat dikenali oleh pejamu. Respons imun yang tidak adekuat menyebabkan replikasi virus dan kerusakan jaringan. Di sisi lain, respons imun yang berlebihan dapat menyebabkan kerusakan jaringan (Susilo, 2020).

Infeksi SARS-CoV-2 dilaporkan ditularkan dari droplet yang keluar saat batuk atau bersin dari orang yang terinfeksi. Selain itu dari aerosol (dihasilkan melalui nebulizer) selama setidaknya 3 jam dan dari virus yang menempel pada benda mati (Susilo, 2020). Stabilitas SARS-CoV-2 pada benda mati tidak berbeda jauh dibandingkan SARS-CoV. Eksperimen yang dilakukan Doremalen (2020) menunjukkan SARS-CoV-2 lebih stabil pada bahan plastik dan *stainless steel* (>72 jam) dibandingkan tembaga (4 jam) dan kardus (24 jam). Virus dapat dideteksi di gagang pintu,udukan toilet, tombol lampu, jendela, lemari, hingga kipas ventilasi, namun tidak pada sampel udara (Ong dan Fadilah, 2020).

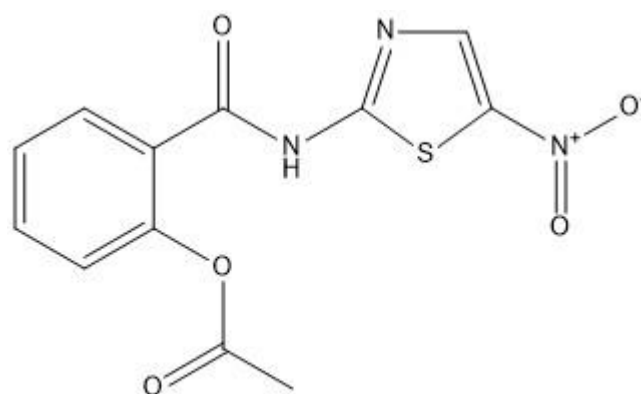
2.2 Nitazoxanide

2.2.1 Tinjauan Bahan

Nitazoxanide atau 2-(acetyloxy)-N-(5-nitro-2-thiazolyl) benzamide pertama kali disintesis pada awal tahun 1970-an pada rangka niclosamide dalam mengganti satu cincin benzena, sebuah cincin heterocycle 6 anggota, dengan sebuah nitrothiazole, sebuah cincin heterocycle 5 anggota (Rossignol, 2014). Nitazoxanide termasuk dalam golongan *thiazolides*. Nitazoxanide (NTZ) adalah obat anti-infeksi berspektrum luas yang memodulasi kelangsungan hidup, pertumbuhan, dan perkembangbiakan berbagai protozoa ekstraseluler dan intraseluler, cacing, bakteri anaerobik dan mikroaerofilik, selain virus. Obat ini efektif dalam pengobatan infeksi gastrointestinal termasuk *Cryptosporidium parvum* atau *Giardia lamblia* pada populasi sehat. Nitazoxanide adalah pengobatan lini pertama untuk penyakit karena infeksi *C. parvum* atau *G. lamblia* pada orang dewasa dan anak-anak yang sehat (tidak immunosupresi) dan juga dapat dipertimbangkan dalam pengobatan penyakit yang disebabkan oleh protozoa atau cacing lain (Shakya et al, 2017).

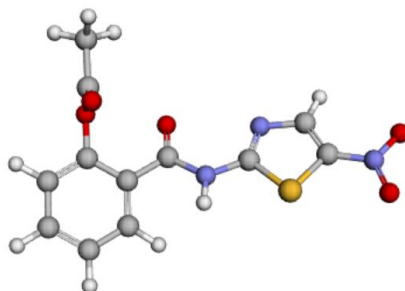
2.2.2 Identitas Obat

1. Struktur molekul :



2-((5-nitrothiazol-2-yl)carbamoyl)phenyl acetate

Gambar 2.2 Struktur 2D Nitazoxanide (ChemDraw 19.0)



Gambar 2.3 Struktur 3D Nitazoxanide ([3D structure for Nitazoxanide \(DB00507\) | DrugBank Online](#))

2. Rumus molekul : $C_{12}H_9N_3O_5S$ (pubchem.ncbi)
3. Golongan : antiamoeba/antiparasit (mims.com)
4. Bobot molekul : 307,28 g/mol (pubchem.ncbi)
5. Titik Lebur : 202 °C (pubchem.ncbi)
6. pKa : Asam kuat (8,3), Basa Kuat (-4,2) (drugbank.com)
7. Efek samping : Umum: sakit perut, sakit kepala, kromaturia, mual (drugs.com)
8. Kontraindikasi : Hipersensitivitas terhadap nitazoxanide atau bahan apapun dalam formulasi (drugs.com)

Awalnya, nitazoxanide dikembangkan sebagai agen anti-parasit oral dan dipelajari untuk aktivitas melawan infeksi protozoa dan cacing in vitro dan/atau in vivo pada tikus, kucing, anjing dan domba. Ini pertama kali dipelajari pada manusia untuk perawatan cestodes usus. Kemudian, nitazoxanide ditemukan efektif dalam uji kultur sel terhadap protozoa intraseluler yang muncul, *Cryptosporidium parvum*, dan dilisensikan di Amerika Serikat (Alinia, Laboratorium Romark) sebagai Obat Orphan untuk diare yang disebabkan oleh *C. parvum* dan *Giardia intestinalis* pada orang dewasa dan anak-anak setidaknya

usia 12 bulan. Di Amerika Latin dan India nitazoxanide diindikasikan untuk mengobati spektrum yang luas infeksi parasit usus (Rossignol, 2014).

Selain aktivitas antiparasitnya, nitazoxanide aktif secara *in vitro* terhadap berbagai gram anaerob obligat dan fakultatif positif dan gram negatif bakteri, serta strain *Mycobacterium tuberculosis* yang mereplikasi dan tidak mereplikasi. Penelitian pada hewan dan uji klinis secara acak telah mengkonfirmasi aktivitas obat dalam mengobati penyakit *Clostridium difficile* (Rossignol, 2014).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Rossignol (2014) dilakukan uji *in vitro* tizoxanide pada *canine coronavirus* (*coronavirus* pada anjing) menunjukkan hasil IC_{50} sebesar $1\mu\text{g/ml}$. Menurut Badarinath et al (2010), suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50, kuat (50-100), sedang (100-150), dan lemah (151-200). Semakin kecil nilai IC_{50} semakin tinggi aktivitas antioksidan. Dari hasil pada penelitian tersebut maka menunjukkan tizoxanide merupakan antivirus (*canine coronavirus*) yang sangat kuat.

Nitazoxanide memiliki aktivitas antivirus yang luas dan profil keamanan yang relatif baik, menunjukkan aktivitas antivirus *in vitro* terhadap MERS-CoV. Senyawa induk, nitazoxanide, dan metabolitnya, tizoxanide (metabolit primer dari nitazoxanide (Pankuch dan Peter, 2006)) secara umum menunjukkan aktivitas penghambatan yang serupa terhadap virus *in vitro*. Kedua senyawa tersebut telah terbukti menghambat MERS-CoV yang dikultur dalam sel LLC-MK2 dengan IC_{50} 0,92 dan 0,83 $\mu\text{g/ml}$ untuk nitazoxanide dan tizoxanide, masing-masing (Rossignol, 2016).

Mekanisme NTZ yang paling diterima secara luas yakni mengganggu metabolisme energi pada mikroba anaerobik oleh penghambatan piruvat: siklus ferredoxin/flavodoxin oxidoreductase (PFOR) (Broekhuysen, 2000). NTZ juga menekan replikasi virus dengan menghambat pematangan hemagglutinin virus dan faktor transkripsi virus *Immediate Early 2* (IE2) serta dengan mengaktifkan faktor inisiasi terjemahan eukariotik 2 α (suatu protein intraseluler antivirus). Selain itu, NTZ menunjukkan efek penghambatan pada perkembangan sel tumor dengan mengubah detoksifikasi obat (glutathione-S-transferase P1), respon protein yang tidak terlipat, autophagy, aktivitas anti-sitokin, dan penghambatan c-Myc (Shakya et al, 2017).

Hasil penelitian *in vivo* terhadap hewan pengerat dan anjing yaitu *Lethal Dose 50* (LD50) oral lebih tinggi dari 10.000 mg/kg. Dosis oral satu kali-4000 mg telah diberikan kepada sukarelawan dewasa yang sehat dan terlihat tidak adanya efek samping yang parah. *Gastric lavage* mungkin akan terjadi apabila overdosis (go.drugbank.com). Hasil tersebut menandakan bahwa obat Nitazoxanide termasuk dalam kelas VI (tidak beracun): LD₅₀ > 5000 mg/kg (El-din et al, 2016).

Menurut penelitian sebelumnya, kurang dari 1% dari pasien berusia 12 tahun dan lebih yang berpartisipasi dalam uji klinis dengan NTZ menderita efek samping berikut: Sistemik: *asthenia*, demam, nyeri, reaksi alergi, nyeri panggul, nyeri punggung, menggigil, demam, sindrom mirip flu. Sistem Saraf Pusat: pusing, mengantuk, insomnia, tremor, hipestesia. Sistem gastrointestinal: muntah, dispepsia, anoreksia, perut kembung, konstipasi, mulut kering, haus. Sistem urogenital: urin berubah warna, disuria, amenore, metrorrhagia, nyeri ginjal, edema labia. Metabolik & Nutrisi: meningkatkan SGPT. Sistem Hemik &

Limfatik: anemia, leukositosis. Kulit: ruam, pruritus. Indra Khusus: perubahan warna mata, sakit telinga. Sistem Pernafasan: epistaksis, penyakit paru-paru, faringitis. Sistem Kardiovaskular: takikardia, sinkop, hipertensi. Sistem Otot: mialgia, kram kaki, patah tulang spontan (go.drugbank.com).

2.2.3 Aktivitas Obat Nitazoxanide Sebagai Antivirus

Nitazoxanide memiliki aktivitas antivirus yang luas dan profil keamanan yang relatif baik, menunjukkan aktivitas antivirus *in vitro* terhadap *Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus* (MERS-CoV) (Rossignol, 2016). MERS-CoV adalah endemik pada kelelawar dan unta dromedaris, dan dapat ditularkan secara zoonotik dari unta ke manusia. Virus ini ditemukan pada manusia pada tahun 2012, dan sejak itu terdapat lebih dari 2.000 kasus yang dikonfirmasi oleh laboratorium di seluruh dunia, dengan 35% dari manusia yang terinfeksi (Vijay, 2020). Adapun mekanisme obat nitazoxanide sebagai antivirus yaitu menghambat ekspresi nukleoprotein virus dan menekan produksi sitokin proinflamasi (Costa et al, 2020).

Kedekatan virus COVID-19 dengan MERS-CoV adalah 50% (Lu et al, 2020). Perbedaan antara MERS dengan 2019-nCoV dari segi Transmisi (penularan) yaitu, MERS ditularkan dari menyentuh unta yang terinfeksi atau mengonsumsi susu atau dagingnya, adapun penularannya terbatas antar manusia melalui kontak dekat sedangkan 2019-nCoV penularannya dikarenakan kemungkinan menyentuh atau memakan hewan yang terinfeksi yang belum teridentifikasi, untuk penularan antar manusia terjadi melalui kontak dekat (Huang, 2020). Konsentrasi Nitazoxanide secara khusus diprediksi melebihi EC_{50} untuk SARS-CoV-2 sebesar 3,1 kali lipat di paru-paru. Nitazoxanide

meningkatkan jalur interferon host, memperkuat respons antivirus bawaan. Oleh karena itu, Nitazoxanide dapat menjadi pengobatan tambahan yang berguna dibandingkan dengan pengobatan yang lebih tepat sasaran virus (hydroxychloroquine $EC_{50} = 1.13\mu M$, remdesivir $EC_{50} = 0.77Mm$) (Pepperrell et al, 2020).

Pada penelitian Naik (2020) dilakukan docking pada 11 ligan, yang salah satunya yaitu Nitazoxanide dengan menggunakan reseptor N3 *peptide-binding site* (6LU7). Interaksi molekuler, energi antara ligan dan reseptor, ditentukan untuk *binding site* nya, yang dinyatakan sebagai afinitas (kcal/mol) dan konformasi *favourable*. Hasil *molecular docking* tersebut didapatkan nilai afinitas $-6,7$ kcal/mmol, dan diketahui ikatan-H nya adalah Gly143:NH \rightarrow CO dan His164:NH \rightarrow NO, selain itu didapatkan interaksi ikatan-H (Å) nya 2,44 dan 2,71. Adapun interaksi *binding site* nya yaitu Val20, Thr25, Thr26, Leu27, Asn28, Pro39, Arg40, His41, Val42, Met49, Tyr54, Leu141, Asn142, Gly143, Ser144, Cys145, His164, Met165, Asp187. Dari hasil bukti skor *molecular docking* tersebut menunjukkan bahwa inhibitor ini berinteraksi dengan 2019-nCoV M^{pro} dan dapat dipertimbangkan untuk intervensi terapeutik 2019-nCoV.

Pada penelitian Oliveira dan Kelson (2020) dilakukan *molecular docking* yang bertujuan untuk menemukan *antagonis repurposing* yang dapat menghambat *main protease* (M^{pro}) dari virus SARS-CoV-2, memodulasi sebagian reseptor ACE2 dan mengurangi replikasi virus dengan menghambat NSP12 RNA polymerase. Digunakan 60 ligan salah satunya yaitu Nitazoxanide, dan digunakan 4 reseptor, yaitu: M^{pro} SARS-CoV-2 (6LU7); 3CL pro dari virus SARS-CoV (1UK4); Reseptor ACE2 dalam kompleks dengan glikoprotein SARS-CoV-2 S

(*spike*) (6M0J); dan RdRp NSP12 dengan (6NUR). Didapatkan nilai afinitas terhadap masing-masing reseptor, -6,9 kcal/mmol untuk M^{pro} SARS-CoV-2; -7,6 kcal/mmol untuk 3CL^{pro} dari virus SARS-CoV; -7,5 kcal/mmol untuk reseptor ACE2 dan -7,6 kcal/mmol untuk NSP12 RNA polymerase. Menurut Adelina (2014), skor merupakan parameter kekuatan afinitas pengikatan ligan uji terhadap reseptor. Semakin stabil interaksi ligan-protein dicerminkan dengan semakin rendahnya skor (minus). Semakin stabil ikatan ligan dengan reseptor maka dapat diprediksikan bahwa aktivitasnya juga semakin besar (Hardjono, 2012).

Pada 9 Maret 2020, nitazoxanide sebelumnya disarankan, di antara obat-obatan lain, oleh kolega Prancis untuk dievaluasi potensinya terhadap SARS CoV-2; sayangnya, rekomendasi mereka tidak populer dan praktis diabaikan (SRLF S, 2020). Hingga 30 April 2020, hanya delapan uji coba klinis nitazoxanide yang sedang dilakukan di seluruh dunia dengan kesulitan luar biasa dalam perekrutan pasien, mungkin mereka meragukan potensi nitazoxanide untuk COVID-19, dan hanya dua di antaranya yang sedang merekrut; satu yang ingin mengumpulkan 50 peserta dengan perkiraan tanggal mulai pada 12 April 2020 untuk membandingkan nitazoxanide 600 mg, tanpa obat tambahan, terhadap plasebo untuk pasien yang dirawat di rumah sakit dengan kondisi COVID-19 (<https://clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=COVID-19&term=Nitazoxanide&cntry=&state=&city=&dist=>)

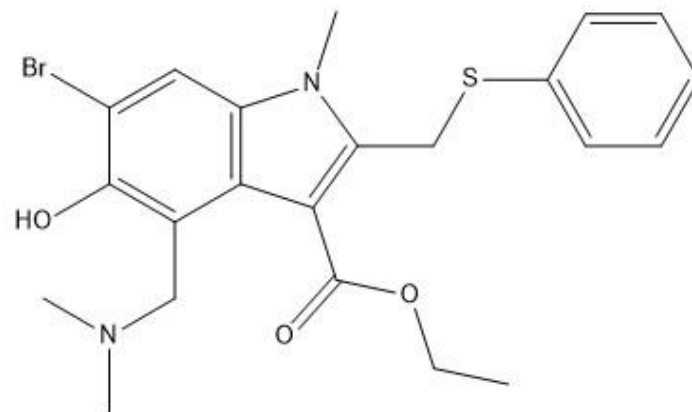
2.3 Arbidol

2.3.1 Tinjauan Bahan

Arbidol atau ethyl-6-bromo-4-[(dimetilamino) metil]-5-hidroksi-1-metil-2 [(fenilthio) metil]-indole-3-carboxylate hydrochloride monohydrate, merupakan obat turunan indol yang berspektrum luas melawan berbagai macam virus *enveloped* dan *non-enveloped*. Arbidol berinteraksi dengan asam amino aromatik dan memengaruhi beberapa tahap siklus hidup virus, baik dengan menargetkan langsung protein virus atau faktor inang sistem virus (Blaising et al, 2014).

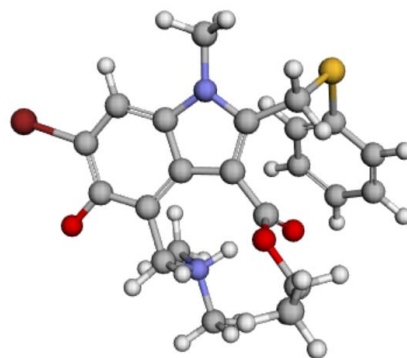
2.3.2 Identitas Obat

1. Struktur molekul :



ethyl 6-bromo-4-((dimethylamino)methyl)-5-hydroxy-1-methyl-2-((phenylthio)methyl)-1*H*-indole-3-carboxylate

Gambar 2.4 Struktur 2D Arbidol (ChemDraw 19.0)



Gambar 2.5 Struktur 3D Arbidol (go.drugbank.com)

2. Rumus molekul : $C_{22}H_{25}BrN_2O_3S$ (go.drugbank.com)
3. Golongan : antivirus (BPOM, 2020)

4. Bobot molekul : 477,42 g/mol (go.drugbank.com)
5. Titik Lebur : 133-137 °C (indonesian.alibaba.com)
6. pKa : Asam kuat (6,01), Basa Kuat (9,87)
(go.drugbank.com)

Arbidol adalah antivirus berspektrum luas yang ampuh dengan aktivitasnya melawan beberapa *enveloped* dan *non-enveloped* virus, termasuk influenza, parainfluenza, coronavirus, polio, demam Lassa, virus pernafasan syncytial, adenovirus, Coxsackie B5, dan hepatitis B dan C (Blaising et al, 2014; Boriskin et al, 2008; Herod et al, 2019; Pecheur et al, 2016). Selain itu telah dilakukan penelitian sebagai aktivitas antivirusnya pada *Flavivirus* (Haviernik et al, 2018), Zika virus (Fink et al, 2018); Ebola virus (Hulseberg et al, 2019) dan herpes simplex (Li et al, 2018). Arbidol (40) telah digunakan selama 25 tahun di Rusia dan selama 14 tahun di China sebagai profilaksis dan pengobatan influenza A dan B. Arbidol telah menjadi objek penelitian terkini untuk membandingkan efek monoterapi atau terapi kombinasi dengan obat untuk infeksi HIV (Deng et al, 2020; Wang et al, 2020).

Pada virus influenza, struktur kristal menunjukkan bahwa arbidol disisipkan ke daerah hidrofobik subunit fusi hemagglutinin (HA), molekul major pada permukaan sel glikoprotein, sehingga menghambat perubahan konformasi low-pH dari HA dan menghalangi proses fusi (Kadam dan Wilson, 2017). Kesamaan rangkaian atau struktur antara SARS-CoV-2 *spike glycoprotein* dan virus influenza (H3N2) HA dapat memiliki efek obat yang positif. Analisis sekuens dan protein komparatif menunjukkan wilayah sempit domain trimerisasi (S2) (aa947-aa1027) dari SARS-CoV-2 *spike glycoprotein* memiliki kemiripan

dengan H3N2 HA. Membran luar dari SARS-CoV-2 *spike glycoprotein* penting untuk adhesi sel inang melalui reseptor ACE2 dan CD26/DPPIV manusia (Wrapp et al, 2020; Vankadari, 2020) dan trimerisasinya sangat penting untuk fusi membran inang (Vankadari, 2020).

Pada virus hepatitis C, arbidol mengganggu perlekatan virus dan *intracellular vesicle trafficking* (Blaising et al, 2013). Arbidol juga dapat berikatan dengan membran lipid dan dapat mengubah konfigurasi membran sitoplasma atau endosom, yang sangat penting untuk perlekatan dan fusi virus (Blaising et al, 2014). Pada virus COVID-19, arbidol memblokir masuknya virus dengan menghalangi pelekatan dan pelepasan virus dari ELs. Secara efisien arbidol memblokir tahap virus *entry* dan *post-entry*. Efek pada virus *entry* yang ditimbulkan besar (~ 75% penghambatan) dengan efek yang lebih rendah pada *post-entry* (~ 55% tingkat penghambatan). (Wang et al, 2020).

Hasil penelitian *in vivo* terhadap mencit dan tikus masing-masing yaitu 340-400 mg/kg dan >3000 mg/kg (Blaising et al, 2014). Hasil tersebut menandakan bahwa obat arbidol masuk dalam kelas III (beracun jika tertelan): $50 < LD_{50} \leq 300$ mg/kg; kelas IV (berbahaya jika tertelan): $300 < LD_{50} \leq 2000$ mg/kg) dan kelas V (bisa berbahaya jika tertelan): $2000 < LD_{50} \leq 5000$ mg/kg (El-din, 2016).

2.3.3 Aktivitas Obat Arbidol Sebagai Antivirus

Pada penelitian Padhi et al (2021) dilakukan *molecular docking* pada reseptor ACE2 (6LZG). *Envelope-anchored spike glycoprotein* (S-protein) mengikat reseptor *human angiotensin-converting enzyme 2* (ACE2), memfasilitasi fusi membran. *Receptor-binding domain* (RBD) dari S-protein adalah wilayah

pusat yang terlibat dalam interaksi langsung dengan reseptor ACE2 (Lan et al, 2020; Wrapp et al, 2020). Saat arbidol dimasukkan ke dalam struktur kompleks RBD/ACE2, obat ini dengan cepat masuk ke salah satu *cavities* terbesar di *interface* RBD/ACE2 dengan skor yang tinggi [ukuran *cavity*: 940 Å, tengah: 176*114*247 (x*y*z) dan ukuran: 22*22*22 (x*y*z)]. Arbidol ditemukan mengikat dan menstabilkan *interface* RBD/ACE2 dengan nilai *binding affinity* yang tinggi (-5,7 kcal/mmol), sehingga menyebabkan ketidakfleksibelan struktur. Hal ini menunjukkan bahwa arbidol menghambat fusi membran SARS-CoV-2 ke sel inang, menunjukkan bahwa arbidol menargetkan interaksi S-protein/ACE2. Selain itu penelitian tersebut dilakukan proses validasi menggunakan PPCheck dan diketahui interaksi van der Waals dan ikatan hydrogen berkontribusi sebagian besar dari nilai Et dan afinitas ACE2-arbidol (Padhi et al, 2021).

Selain itu, *molecular docking* juga dilakukan oleh Vankadari (2020) pada reseptor ACE2 (6VSB), untuk membuktikan arbidol mampu mengikat *glycoprotein* seperti pada *spike* H3N2 HA (5T6N), reseptor yang telah terbukti terhambat oleh arbidol sebagai antivirus influenza. Hasil penelitian menunjukkan bahwa posisi residu pengikat H3N2 HA serupa dengan residu SARS-CoV-2 *spike glycoprotein*, dengan nilai deviasi *root-mean-square* untuk atom Ca adalah 0,82 Å°. Ini diduga terdapatnya kemungkinan kesamaan struktur di daerah pengikatan obat dari SARS-CoV-2 *spike glycoprotein* dan H3N2 HA, dan menunjukkan bagaimana obat influenza (Arbidol) dapat menjadi obat potensial untuk mengobati COVID-19. Selain itu penelitian tersebut dilakukan proses validasi dan ditemukan interaksi antara Arbidol dengan K776, E780, K947, E1017, R1019, S1021,

N1023, L1024 dan T1027 dari domain trimerisasi S2 melalui gaya van der Waals atau ikatan hydrogen.

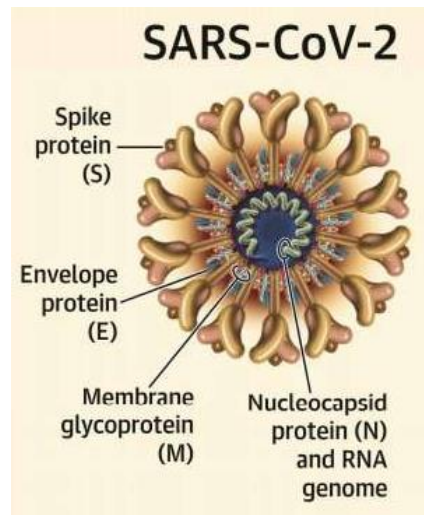
Arbidol efektif secara *in vitro* menghambat SARS-CoV-2 pada Vero E6 (ATCC-1586) dengan $EC_{50} = 4,11 \mu\text{M}$. Hasilnya menghambat sebagian virus pada konsentrasi tinggi ($50 \mu\text{M}$) yang terbukti lebih unggul daripada baloxavir, atau obat lainnya seperti laninamivir, oseltamivir, peramivir dan zanamivir, obat-obat ini tidak efektif untuk aktivitas anti-SARS-CoV-2. Data juga menunjukkan bahwa Arbidol tidak hanya meredakan infeksi virus tetapi juga mengganggu pelepasan vesikula intraseluler yang mengandung virus (Zhu et al, 2020).

Selain itu, uji klinis pertama menyimpulkan bahwa Arbidol yang dikombinasikan dengan Lopinavir/Ritonavir menunda perkembangan kerusakan pada paru-paru dan menurunkan kemungkinan penularan melalui sistem pernapasan dan feses dengan mencapai konsentrasi feses yang tinggi yang mengganggu replikasi virus dalam sistem gastrointestinal-sehingga terdapat ekspresi ACE2 yang tinggi, yang diidentifikasi sebagai reseptor masuknya virus pada manusia (Deng et al, 2020). Meskipun demikian, uji klinis lainnya menunjukkan bahwa monoterapi Arbidol lebih baik daripada Lopinavir/Ritonavir (Wang et al, 2020).

Penelitian lain yaitu studi retrospektif telah dilakukan oleh Lian et al (2020) pada 108 pasien COVID-19 sedang atau berat, beliau membandingkan hasil CT scan setelah pemberian dan menunjukkan bahwa perubahan skor CT dalam 1 minggu tidak ada perbedaan, ini menunjukkan bahwa pemberian umifenovir (nama lain Arbidol) tidak memberikan hasil yang lebih baik atau tidak

dapat mempersingkat lamanya pengobatan pada pasien COVID-19. Namun, tidak ada efek samping yang parah selama pengobatan dengan umifenovir.

2.4 Macam Reseptor



Gambar 2.6 Struktur virus SARS-CoV-2 (Ky, 2020)

Coronavirus adalah virus RNA dengan ukuran partikel 120-160 nm (Riedel, 2019). Sejauh ini, 27 protein telah diidentifikasi dalam genom virus, beberapa di antaranya adalah RNA polimerase yang bergantung pada RNA (RdRp) (Zhou, 2020). Protein S berbentuk seperti cengkeh, merupakan protein transmembran tipe-I dan memiliki 3 segmen, ektodomain besar, transmembran jalur tunggal, dan ekor intraseluler. Ektodomain dari protein S terdiri dari dua subunit fungsional dengan fungsi untuk mengikat reseptor sel inang (subunit S1) dan fusi membran virus dan sel (subunit S2) (Walls, 2020). SARS-CoV-2 memasuki sel inang dengan menggunakan protein S homotrimerik terglykosilasi tinggi untuk mencapai fusi membran sel melalui perubahan struktur. Proses ini meliputi: subunit S1 berikatan dengan reseptor sel inang, yang memicu

ketidakstabilan trimerik yang diikuti dengan pemisahan subunit S1 dari subunit S2 untuk membentuk struktur fusi yang sangat stabil (Zhang et al, 2020; Yan et al, 2020 dan Andersen dan Rambaut, 2020). Karena fungsi protein S yang sangat diperlukan, maka protein ini menjadi target untuk netralisasi yang dimediasi oleh antibodi (Wrapp et al, 2020).

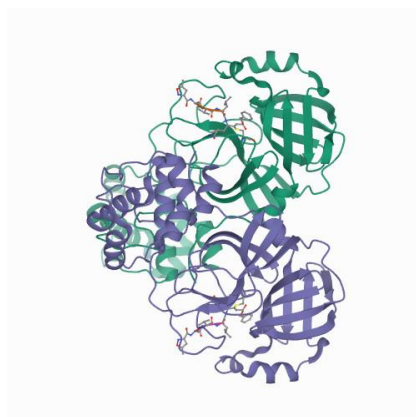
SAR-CoV-2 memiliki 2 kelompok protein; protein struktural dan protein non struktural (*non structural protein* (NSP)). Target protease menurut peneliti di seluruh dunia yaitu ACE2, *hemagglutinin esterase* (HE), protein E, dan *RNA-dependent polymerases* (Kandimalla et al, 2020). HE hanya terdapat pada beberapa jenis Coronavirus (Hilgenfeld, 2014). Empat protein struktural terbukti dikodekan dalam genom virus korona yaitu protein nukleokapsid (N), protein envelop (E), protein membran (M), dan permukaan spike glikoprotein (S) (Wu et al, 2020). Genom CoV terdiri dari 7 gen yaitu: ORF1a, ORF1b, S, ORF3, E protein, M protein dan N protein (Prajapat et al, 2020). Genom SARS-CoV-2 memiliki poliprotein pp1ab, pp1a, dan kode untuk protein fosfatase. ORF1ab RNA adalah gen terbesar dalam genom dan mengkodekan protein pp1ab. Ini berisi NSP1- NSP10 dan NSP12- NSP16 (15 NSP). Orf1ab juga mengkodekan protein pp1a yang mengandung NSP1- NSP10 (10 NSP) (Wu et al, 2020). Protein M dan E berperan dalam pembentukan struktur virus. Sedangkan protein S berperan dalam mediator untuk berinteraksi dengan sel inang dan menentukan jenis-jenis inang tersebut (Belouzard et al, 2012).

Permukaan spike glikoprotein berperan dalam mengikat reseptor pada sel inang dan menentukan tropisme inang. Antara spike protein SARS-CoV dan MERS-CoV, masing-masing mengikat reseptor host yang berbeda dengan

receptor binding domain (RBD) yang berbeda juga. SARS-CoV menggunakan *angiotensin-converting enzyme 2* (ACE2) sebagai salah satu reseptor utama dan CD209L sebagai *alternative receptor*, sedangkan MERS-CoV menggunakan *dipeptidyl peptidase 4* (DPP4, dikenal sebagai CD26) sebagai reseptor utama. Analisis awal menunjukkan bahwa 2019-nCoV memiliki hubungan evolusi yang erat dengan virus korona dari kelelawar yang mirip SARS (Wu et al, 2020).

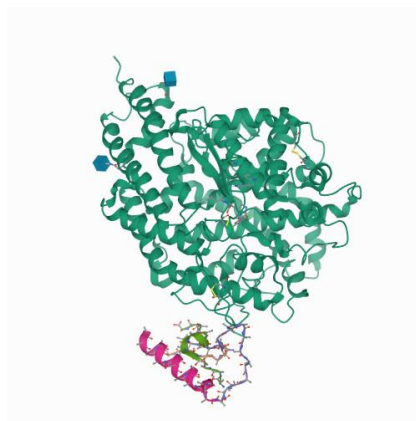
2.4.1 Reseptor *Main Protease*

Virus COVID-19 M^{pro} memiliki dyad katalitik Cys-His, substrat atau pengikat inhibitor terletak di celah antara domain I dan II. Peta kerapatan elektron menunjukkan bahwa N3 mengikat dalam substrate-binding pocket dalam konformasi diperpanjang dengan penghambat atom backbone membentuk lembaran antiparalel dengan residu untai panjang di satu sisi, dan dengan residu dari domain penghubung loop II dan III. Koordinat dan faktor struktur dari M^{pro} virus COVID-19 dalam kompleks dengan inhibitor N3 telah disimpan di situs Protein Data Bank (PDB) dengan nomor akses 6LU7. Koordinat yang relevan yaitu 7BQY (Jin et al, 2020).



Gambar 2.7 Struktur 3D Protein 7BQY (rscb.org)

Enzim 3-Chymotrypsin like protease (3CLpro), juga disebut *main protease* (M^{pro}), berperan dalam replikasi virus dan proses infeksi, sehingga dapat dijadikan terapi yang ideal sebagai antivirus. SARS-CoV 3CLpro terbentuk sebagai dimer dengan dua promotor (dilambangkan sebagai "A" dan "B") berorientasi hampir pada sudut kanan satu sama lain. SARS-CoV 3CLpro memiliki dyad katalitik Cys-His dan substrat atau pengikat inhibitor terletak di celah antara domain I dan II. Spesifisitas S1 substrate-binding subsite dalam protomer A dari protease CoV memberikan spesifisitas absolut untuk residu substrat P1-Gln pada enzim. Setiap residu N-terminus (N-finger) yang terjepit di antara domain II, III dari monomer induk dan domain II dari monomer lainnya, berfungsi dalam dimerisasi dan pembentukan active site 3CLpro. Dimer SARS-CoV 3CLpro sangat aktif, sedangkan monomer pada prinsipnya tidak aktif (Pillaiyar, 2016).



Gambar 2.8 Struktur 3D Protein 2GZ7 (rscb.org)

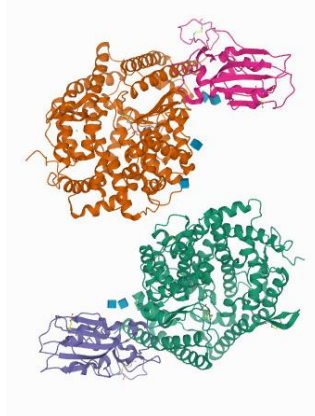
2.4.2 Reseptor *Angiotensin-Converting Enzyme 2* (ACE2)

ACE2 memiliki tiga fungsi fisiologis, yaitu sebagai negative regulator pada sistem renin-angiotensin, fasilitator transport asam amino dan reseptor tempat terikatnya SARSCoV maupun SARS-CoV-2 (Gheblawi et al., 2020).

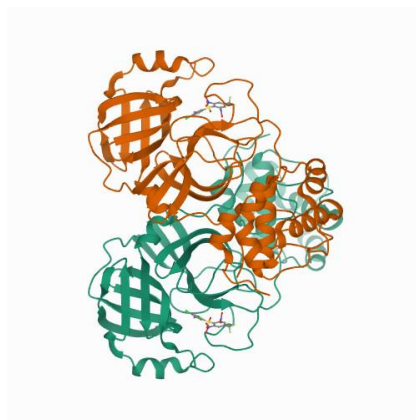
ACE2 adalah protein membran integral tipe I, yang terdiri dari 805 residu asam amino dengan satu Zn^{2+} penting untuk aktivitas enzim. ACE2 terlibat dalam pengaturan fungsi jantung dan sebagai reseptor fungsional untuk virus korona, yang terkait dengan sindrom pernafasan akut yang parah (SARS). ACE2 adalah reseptor seluler untuk coronavirus baru (SARSCoV-2) yang menyebabkan pandemi serius COVID-19 (Khelifaoui et al, 2020).

ACE2 hanya memiliki satu domain katalitik. Domain C-terminal ACE2, adalah homolog protein ginjal, collectrin, yang mengatur trafiking transporter asam amino ke permukaan sel, memberi ACE2 fungsi fisiologis ganda dan berbeda. Struktur SARS-CoV-2 kompleks dengan ACE2. Dalam kasus SARS-CoV-2, major spike glikoprotein (S1) mengikat ke wilayah N-terminal ACE2 (Viveiros, 2020).

Struktur kristal enzim pengubah angiotensin manusia (1R42) ini pada resolusi 2,20 Å. Resolusi antara 1,5 dan 2,5 Å dianggap sebagai kualitas yang baik untuk studi dok. Diketahui bahwa skor terbaik dari nilai RMSD harus mendekati 2 Å dengan skor energi kurang atau sama dengan 7 Kkal/mol. Kedua nilai ini sering digunakan sebagai kriteria untuk memvalidasi hasil penambatan molekul. Koordinat dan faktor struktur kristal dari enzim pengubah angiotensin terkait reseptor ACE2 karboksipeptidase telah disimpan di situs Protein Data Bank (PDB) dengan nomor akses 1R42 (Khelifaoui et al, 2020). Selain itu koordinat dan faktor dari struktur SARS-CoV terikat ACE2 telah disimpan di situs Protein Data Bank (PDB) dengan nomor akses 3D0G (Hati, 2020).



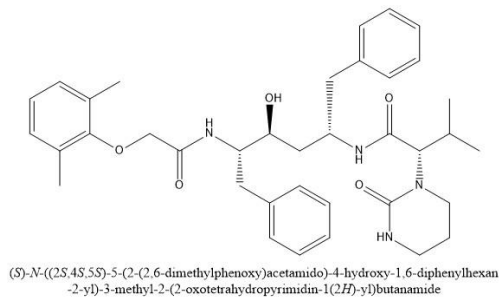
Gambar 2.9 Struktur 3D Protein 3D0G (rscb.org)



Gambar 2.10 Struktur 3D Protein 1R4L (rscb.org)

2.5 Tinjauan Senyawa Pemandang

Standar pertama yang digunakan adalah Lopinavir, obat ini merupakan penghambat protease HIV yang dapat menjadi agen antivirus pada pasien dengan pneumonia akibat infeksi SARS-CoV-2 (Kim, 2020). Lopinavir menunjukkan aktivitas *in vitro* menghambat 3CLpro, sebuah protein yang berperan dalam perbanyakan virus. Lopinavir sebelumnya terbukti memblokir *main protease* (M^{pro}) SARS-CoV (de Wilde, 2014). Lopinavir menekan pembentukan peptida yang diperlukan untuk perakitan mesin replikasi virus (RNA-dependent RNA polymerase (RdRp)) dengan menonaktifkan protease virus (3CLpro dan PLpro) (Oroojalian et al, 2020).

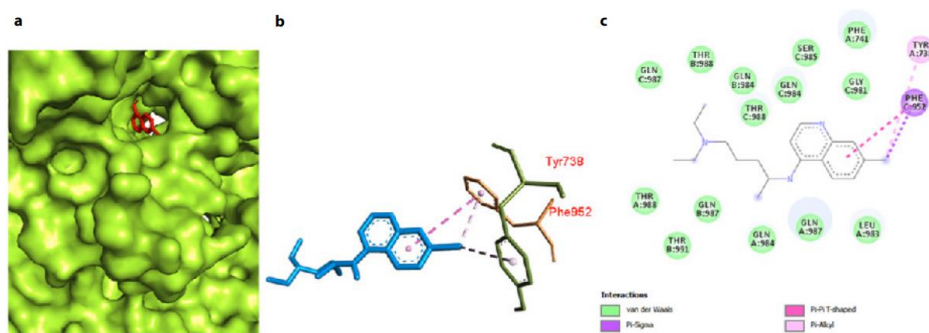


Gambar 2.11 Struktur 2D Lopinavir (ChemDraw 19.0)

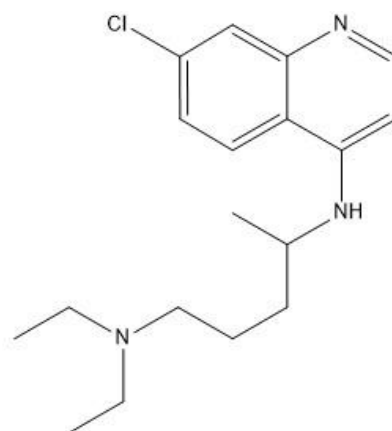
Standar kedua yaitu Chloroquine dikarenakan senyawa ini terbukti memiliki mekanisme terhadap reseptor spike glikoprotein. Chloroquine merupakan obat antimalarial berasal dari alkaloid kuinolon (Nqoro, 2017). Chloroquine menghambat perlekatan virus ke reseptor ACE2 dan menginduksi degenerasi endosom yang mengandung virus (Oroojalian et al, 2020). Sebelumnya telah dilakukan penelitian *molecular docking* antara Chloroquine dengan reseptor M^{pro} (6LU7) dan ACE2 (6CS2) untuk membandingkan mana reseptor yang lebih baik. Didapatkan nilai *binding affinity* -5,1 kcal/mol pada M^{pro} dan -7,0 kcal/mol pada ACE2. Ini membuktikan Chloroquine lebih menyukai ACE2. Interaksi Chloroquine dengan struktur kompleks SARS spike glikoprotein-*human* ACE2 terlihat pada interaksi pi-pi dan pi-alkil antara cincin benzena dan klorin (terikat pada cincin benzena) dengan TYR 738 dan PHE 952, masing-masing (Narkhede et al, 2020).

Chloroquine memiliki turunan (*derivative*) yaitu Hydroxychloroquine (HCQ). HCQ pertama kali disintesis pada tahun 1946 dengan memasukkan gugus hidroksil ke dalam Chloroquine dan terbukti sifat toksisitasnya jauh lebih sedikit (~40%) daripada Chloroquine pada hewan (McChesney, 1983). Pada penelitian Liu et al. (2020), dilakukan perbandingan aktivitas antivirus SARS-CoV-2 antara

Chloroquine dan Hydroxychloroquine, didapatkan hasil EC_{50} untuk Chloroquine (2.71, 3.81, 7.14 dan 7.36 μM) lebih rendah daripada Hydroxychloroquine (4.51, 4.06, 17.31 dan 12.96 μM). Akibatnya indeks selektivitas ($SI = CC_{50}/ EC_{50}$) Chloroquine (100.81, 71.71, 38.26 dan 37.12) lebih tinggi daripada Hydroxychloroquine (55.32, 61.45, 14.41, 19.25) pada masing-masing Multiplicities of Infection (MOIs) 0.01, 0.02, 0.2 dan 0.8. Sehingga, data menunjukkan bahwa aktivitas anti-SARS-CoV-2 dari Hydroxychloroquine kurang kuat dibandingkan dengan Chloroquine.

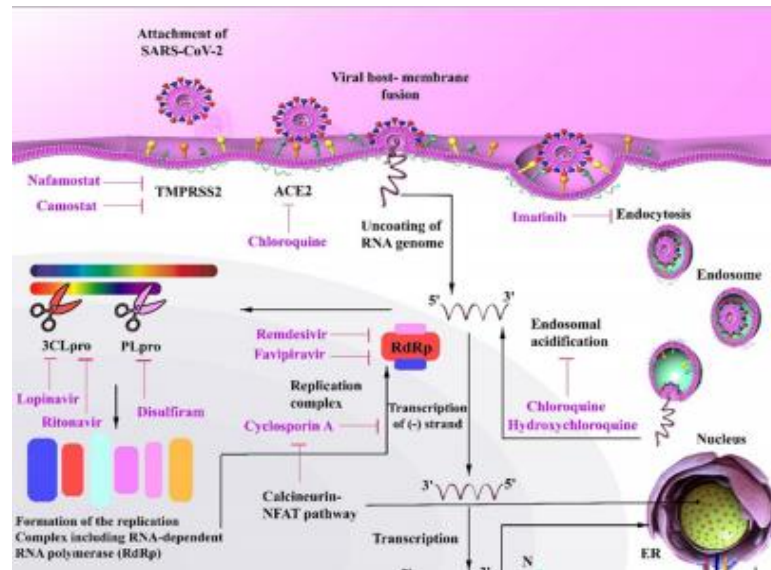


Gambar 2.12 Hasil docking Chloroquine dengan ACE2 (6CS2) (Oroojalian et al, 2020).



N^4 -(7-chloroquinolin-4-yl)- N^1,N^1 -diethylpentane-1,4-diamine

Gambar 2.13 Struktur 2D Chloroquine (ChemDraw 19.0)



Gambar 2.14 Mekanisme berbagai obat memerangi infeksi SARS-CoV-2 (Oroojalian et al, 2020)

2.6 Interaksi Obat-Reseptor

2.6.1 Ikatan Hidrogen

Ikatan hidrogen adalah ikatan yang terjadi antara atom hydrogen (H) pada molekul yang satu dengan salah satu unsur atom (F, O, N) pada molekul lainnya yang merupakan gaya dipol-dipol paling kuat (Effendy, 2006). Ikatan hydrogen yang kekurangan electron pada umumnya akan terikat pada atom-atom yang bersifat elektronegatif (Siswandono, 2016). Ketika atom hydrogen dan dua atom lain berikatan dalam satu garis (atom akseptor ini berada segaris dengan ikatan kovalen antara atom donor dan atom H), maka akan terjadi ikatan hydrogen paling kuat yaitu ketika molekul berada dalam orientasi interaksi elektrostatik yang maksimum (Nelson dan Cox, 2001). Dalam sistem biologis, atom nitrogen atau oksigen merupakan donor maupun akseptor, khususnya atom dalam gugus amina (-NH₂) dan hidroksil (-OH). Karena bersifat polar antara ikatan N-H dan

O-H, atom H-nya dapat berikatan hydrogen dengan atom akseptor (Lodish et al, 2000). Ikatan hydrogen akan stabil dan memiliki ikatan yang kuat apabila memiliki panjang ikatan $< 2.7 \text{ \AA}$ (Chairunnisa dan Runadi, 2016).

2.6.2 Ikatan Hidrofobik

Ikatan hidrofobik merupakan molekul nonpolar tidak mengandung ion yang terhidrasi atau memiliki momen dipol. Karena dalam air molekul tersebut tidak larut atau hampir tidak larut (Lodish et al, 2000). Ikatan ini penting pada proses penggabungan daerah non polar ligan dengan daerah non polar reseptor. Daerah non polar molekul yang tidak larut air dan molekul air yang berada disekelilingnya akan bergabung melalui ikatan hydrogen membentuk struktur *quasi-crystalline (icebergs)* (Siswandono, 2016). Ikatan hidrofobik merupakan parameter dari kuatnya interaksi asam amino antara ligan dengan reseptor yang berguna dalam membantu mempertahankan konformasi pengikatan (Chairunnisa dan Runadi, 2016).

2.7 Hukum Lima Lipinski

Sebelum dilakukan docking perlu dilakukan pengecekan sifat-sifat dari ligan yang akan digunakan menggunakan SwissADME (Lipinski). Lipinski berupa aturan yang harus dipenuhi ligan agar dapat dilanjutkan ke tahap simulasi docking. Lipinski Rule of Five yaitu kalkulasi untuk pembuktian jika dipublikasikan ke dalam bentuk obat apakah sudah benar. Aturan ini berjumlah lima, biasanya dinamakan Lipinski's rule of five/hukum lima Lipinski. Adapun aturannya yaitu (1) berat molekul kurang dari 500 Da (2) nilai logP kurang dari 5,

(3) jumlah donor ikatan hidrogen kurang dari 5, dan (4) jumlah akseptor ikatan hidrogen kurang dari 10 (Lipinski et al, 1997).

Secara umum aturan Lipinski menggambarkan kelarutan atau solubilitas senyawa tertentu, hidrofobik atau hidrofilik, nantinya untuk menembus membran sel oleh pergerakan obat dari konsentrasi tinggi ke rendah (difusi pasif). Kriteria Hukum Lima Lipinski yang pertama yaitu log P, nilai log P menyatakan koefisien kelarutan dalam lemak atau air dengan rentang -0,4 – 5. Semakin besar atau positif nilai log P, maka semakin hidrofobik molekul tersebut. Jika sifatnya terlalu hidrofobik maka tingkat toksisitasnya juga akan tinggi karena akan tertahan lebih lama pada lipid bilayer atau dasar struktur membrane sel dan terdistribusi lebih luas di dalam tubuh sehingga selektifitas ikatan terhadap enzim target menjadi berkurang. Nilai log P yang terlalu negatif juga tidak baik karena jika molekul tersebut tidak dapat melewati membran lipid bilayer. Kedua Berat Molekul (BM), BM yang lebih dari 500 Da tidak dapat berdifusi menembus membrane sel. Ketiga jumlah donor dan akseptor ikatan hydrogen, jumlah ini mendeskripsikan kapasitas ikatan hydrogen untuk menentukan kebutuhan energi yang dibutuhkan agar proses absorpsi dapat terjadi (Lipinski et al, 2017).

2.8 Toksisitas

Toksisitas merupakan kemampuan suatu zat kimia untuk menimbulkan kerusakan pada organisme baik pada saat digunakan atau pada saat berada dalam lingkungan (Priyanto, 2009). Uji toksisitas dilakukan apabila telah diketahui senyawa memiliki aktivitas prediksi yang lebih baik dibandingkan senyawa pembanding berdasarkan persamaan Hubungan Kuantitatif Struktur dan Aktivitas

(HKSA) (Pires et al, 2015). Toksisitas dibedakan menjadi tiga, yaitu: toksisitas akut, toksisitas kronik, dan toksisitas subkronik. Toksisitas akut merupakan dampak negatif yang timbul segera setelah pemaparan dengan dosis tunggal suatu bahan kimia atau pemberian dosis ganda dalam waktu kurang lebih 24 jam. Toksisitas akut merupakan dosis yang dapat mematikan (*Lethal Dose*) 50% dari binatang uji (umumnya tikus, kecuali dinyatakan lain) yang dihitung dalam mg/kg berat badan. Toksisitas akut dinyatakan dalam angka LD50. Di samping indikator lain, LD50 merupakan indikator dengan daya racun yang utama. Indikator ini dibedakan menjadi LD50 oral (lewat mulut) dan LD50 dermal (lewat kulit). LD50 oral adalah potensi kematian apabila senyawa kimia tersebut termakan, sedangkan LD50 dermal adalah potensi kematian apabila kontak antara kulit hewan uji dengan racun tersebut (Djojsumarto, 2008).

Toksisitas kronik merupakan dampak negatif yang timbul akibat pemberian dosis harian berulang dari pestisida atau pemaparan pestisida yang berlangsung cukup lama (biasanya lebih dari 50% rentang hidup). Pada hewan percobaan, periode pemaparan berarti selama 2 tahun. Toksisitas subkronik mirip dengan toksisitas kronik, tetapi pemberiannya berlangsung cepat atau lebih pendek, sekitar 10% dari rentang hidupnya, atau untuk hewan percobaan periode pemaparan selama 3 bulan (Djojsumarto, 2008).

Macam penilaian toksisitas yang dilakukan pada uji ini yaitu LD₅₀, *skin sensitization*, *Ames toxicity* dan *Hepatotoxicity*. LD₅₀ merupakan tolak ukur kuantitatif yang sering digunakan sehingga didapatkan suatu kisaran dosis letal pada uji toksisitas akut (Syamsul et al, 2015). *Lethal Dose 50* merupakan data statistik suatu besaran untuk menyatakan dosis tunggal suatu senyawa yang

diperkirakan menyebabkan kematian atau menimbulkan efek toksik pada 50% hewan coba setelah perlakuan. Makin kecil nilai toksik maka semakin toksik suatu senyawa, demikian juga dengan sebaliknya (Hodgson dan Levi, 2000; Priyanto, 2009).

Globally Harmonized System mengklasifikasikan LD₅₀ menjadi 6 kelas, yaitu kelas I (fatal jika tertelan): $LD_{50} \leq 5 \text{ mg/kg}$; kelas II (fatal jika tertelan): $5 < LD_{50} \leq 50 \text{ mg/kg}$; kelas III (beracun jika tertelan): $50 < LD_{50} \leq 300 \text{ mg/kg}$; kelas IV (berbahaya jika tertelan): $300 < LD_{50} \leq 2000 \text{ mg/kg}$; kelas V (bisa berbahaya jika tertelan): $2000 < LD_{50} \leq 5000 \text{ mg/kg}$; dan kelas VI (tidak beracun): $LD_{50} > 5000 \text{ mg/kg}$ (El-din, 2016).

2.9 Metode In silico

Uji in silico dilakukan dengan melakukan doking molekul yang akan diprediksi aktivitasnya dengan sel target yang dipilih. Doking adalah suatu upaya untuk menselaraskan antara ligan yang merupakan molekul kecil ke dalam sel target yang merupakan molekul protein yang besar (Jensen, 2007). Tujuan metode molecular docking atau penambatan molekuler yaitu memprediksi model ikatan dari ligan yang diketahui aktif, pencarian ligan baru menggunakan *in silico screening* atau *virtual screening* dan memprediksi afinitas ikatan dari beberapa seri senyawa aktif (Leach et al., 2006). Keunggulan dari in silico sendiri yaitu biaya dan waktu yang dikeluarkan untuk proses desain senyawa dengan menggunakan komputer relatif sedikit dan dapat diperoleh lebih banyak model senyawa baru dengan biaya relatif murah dan mudah dilakukan (Beny et al, 2020).

2.9.1 *Molecular Docking*

Docking adalah metode yang memprediksi orientasi yang dipilih dari satu molekul ke molekul lainnya ketika terikat satu sama lain untuk membentuk suatu senyawa kompleks yang stabil. Pengetahuan tentang orientasi yang dipilih digunakan untuk memprediksi kekuatan asosiasi atau *binding affinity* antara dua molekul dengan proses penilaian. *Molecular docking* adalah proses yang melibatkan penempatan molekul dalam konfigurasi yang sesuai untuk berinteraksi dengan reseptor (Supriya et al, 2016).

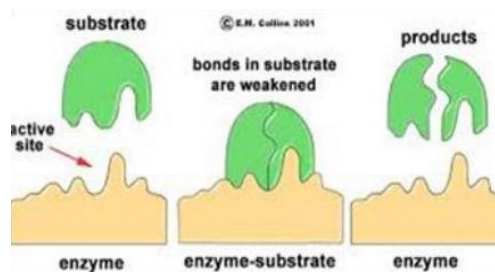
Docking biasa digunakan untuk memprediksi *binding orientation* dari kandidat obat *small molecule* ke target proteinnya untuk memprediksi afinitas dan aktivitas *small molecule*. Oleh karena itu, docking memainkan peran penting dalam desain obat yang rasional. Tujuan *molecular docking* adalah untuk mencapai konformasi yang dioptimalkan untuk protein dan ligan serta orientasi yang relatif antara protein dan ligan sehingga energi bebas dari keseluruhan sistem diminimalkan (Supriya et al, 2016).

2.9.1.1 Model *molecular docking*

2.9.1.1.1 Teori *The Lock and Key*

Pada tahun 1890 Emil Fischer mengusulkan model yang disebut "model *lock-and-key* " yang menjelaskan bagaimana sistem biologis berfungsi. Substrat cocok dengan situs aktif makromolekul, seperti kunci yang masuk ke dalam gembok. Kunci biologis memiliki ciri stereokimia unik (Supriya et al, 2016), Enzim diumpamakan sebagai gembok yang dapat mengikat substrat. Bagian dari enzim yang dapat mengikat substrat dinamakan sisi aktif. Substrat diumpamakan

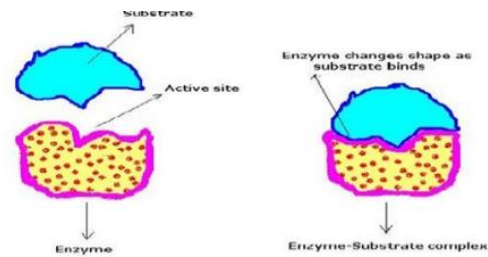
sebagai kunci yang akan berikatan dengan enzim. Terjadi polimorfisme sehingga struktur enzim berubah dan menyebabkan enzim tidak dapat mengikat estrogen sebagai substrat, sehingga estrogen tidak dapat dimetabolisme (Tursia et al, 2018). Enzim tadi menjadi kaku karena bentuk ruang substrat terjadi kesesuaian dengan sisi aktif enzim, sehingga substrat bereaksi dengan energi aktivasi yang rendah. Lalu kompleks lepas dan melepaskan produk dan membebaskan enzim (Page, 1997).



Gambar 2.15 Teori *The Lock and Key* (Supriya et al, 2016)

2.9.1.1.2 Teori *The Induced-Fit*

Pada tahun 1958 Daniel Koshland memperkenalkan "teori *induced-fit*". Ide dasarnya adalah dalam proses pengenalan, baik ligan maupun target saling beradaptasi satu sama lain melalui perubahan konformasi yang kecil, hingga tercapai kesesuaian yang optimal (Supriya et al, 2016). Artinya sisi aktif enzim memiliki sifat yang fleksibel. Enzim dapat memodifikasi bentuknya melingkupi substrat dan dapat bereaksi kembali dengan substrat yang baru setelah terlepas menjadi bentuk bebas (Page, 1997). Teori ini memiliki kesamaan dengan Teori *Lock and Key* yaitu sifat ikatan substrat dan enzim adalah ikatan sementara yang akan segera terlepas setelah terjadi reaksi (Murray, 2014).



Gambar 2.16 Teori *The Induced-Fit* (Supriya et al, 2016)

2.9.1.1.3 Model *The Conformation Ensemble*

Selain *small induced-fit adaptation*, telah diamati bahwa protein dapat mengalami perubahan konformasi yang jauh lebih besar. Model terbaru menggambarkan protein sebagai ensembel keadaan konformasi yang sudah ada sebelumnya. Plastisitas protein memungkinkannya untuk beralih dari satu keadaan ke keadaan lain (Avinash dan Veerabhadra, 2013).

2.9.1.2 Penerapan *molecular docking*

2.9.1.2.1 Pengembangan obat (Supriya et al, 2016)

2.9.1.2.1.1 Identifikasi Hit

Menyaring dengan cepat database yang besar dari *in silico* obat potensial untuk mengidentifikasi molekul yang mungkin terikat pada target protein yang diinginkan.

2.9.1.2.1.2 Optimalisasi prospek

Memprediksi di mana dan yang mana orientasi relatif sebuah ligan berikatan dengan protein (juga disebut sebagai mode atau pose pengikatan). Informasi ini dapat digunakan untuk merancang analog yang lebih kuat dan selektif

2.9.1.2.1.3 Bioremediasi

- 2.9.1.2.1.3.1 Memprediksi polutan yang dapat didegradasi oleh enzim.
 - 2.9.1.2.1.3.2 Identifikasi *target site*.
 - 2.9.1.2.1.3.3 Pemilihan obat terbaik (berdasarkan proses penilaian).
 - 2.9.1.2.1.3.4 Enzim dan mekanismenya
 - 2.9.1.2.1.3.5 Interaksi protein
 - 2.9.1.2.1.3.6 Skrining Virtual dari senyawa
-
- 2.9.1.2.2 Pengembangan obat modern (Supriya et al, 2016)
 - 2.9.1.2.2.1 Menyaring efek samping akibat interaksi dengan protein lain, seperti protease, Sitokrom P450 dan lain-lain.
 - 2.9.1.2.2.2 Memeriksa spesifisitas obat potensial terhadap protein homolog melalui docking.
 - 2.9.1.2.2.3 Merupakan alat yang banyak digunakan dalam memprediksi interaksi protein-protein.
 - 2.9.1.2.2.4 Pengetahuan tentang bantuan asosiasi molekuler dalam pemahaman berbagai jalan yang terjadi dalam kehidupan dan dalam mengungkapkan kemungkinan target farmakologis

2.10 Tinjauan Aplikasi

2.10.1 PyRx

PyRx adalah *Virtual Screening Software* untuk *Computational Drug Discovery* yang dapat digunakan untuk menyaring senyawa terhadap target obat potensial. PyRx memungkinkan Ahli Kimia Medis menjalankan Skrining Virtual dari platform apa pun dan membantu pengguna dalam setiap langkah proses ini -

dari persiapan data hingga pengajuan penelitian dan analisis hasil. Wizard docking disertakan dalam PyRx yang mudah digunakan oleh pengguna yang menjadikannya alat yang berharga untuk *Computer-Aided Drug Design*. PyRx juga mencakup fungsionalitas seperti spreadsheet kimia dan mesin visualisasi kuat yang penting untuk Desain Obat Rasional (Trott dan Olson, 2010). Program PyRx-Vina dipilih karena tidak berbayar (gratis), mudah dioperasikan, akurat, memiliki tingkat error yang rendah dan hasilnya dapat dipercaya (Trott dan Olson, 2010). Metode Vina sendiri merupakan salah satu metode yang terdapat di program PyRx-Vina. Jika dibandingkan dengan program gratis lainnya, Vina memiliki keunggulan dalam melakukan docking yang cepat dan akurat (Saputri et al, 2016).

2.10.2 PyMOL

PyMOL, yang dikembangkan oleh DeLano Scientific, memiliki kemampuan untuk menghasilkan gambar yang detail dan informatif yang dapat digunakan dalam penelitian ilmiah dan sebagai alat pengajaran di perguruan tinggi dan sekolah menengah (Delano, 2006). PyMOL populer dalam pembuatan film molekuler karena memiliki lebih dari 600 parameter yang memberikan kontrol yang sangat baik atas tampilan gambarnya (Hodis et al, 2007).

Interface menggunakan parser file PDB yang digunakan untuk mengidentifikasi struktur terpisah pada molekul yang diteliti. Informasi ini digunakan dalam program untuk menciptakan nomer dari objek unik dalam PyMOL, seperti DNA, RNA, dan protein yang dapat diubah. Jika sebuah molekul tidak mengandung jenis struktur tertentu, seperti DNA, sebuah objek tidak akan tercipta untuknya (Delano, 2006).

2.10.3 AutoDockTools-1.5.6

AutoDock, dikembangkan di Scripps Research Institute pada tahun 1990-an dan telah ditemukan sebagai aplikasi yang luas, baik dalam penelitian dan pengaturan instruksional (Morris et al, 2009). Autodock tools digunakan untuk memvalidasi output docking secara kuantitatif, perkiraan jarak ikatan diukur dan dibandingkan dengan jarak yang diamati dalam struktur Kristal (Helgren dan Timothy, 2018).

2.10.4 SwissADME

SwissADME merupakan platform gratis yang berfungsi untuk menghitung sifat molekuler ligan berdasarkan aturan lima Lipinski (Lipinski, 2000). Dengan menggunakan alat ini, profil farmakokinetik senyawa seperti absorpsi, distribusi dan metabolisme ligan dapat dievaluasi (Daina et al, 2016). Berat molekul, jumlah donor dan akseptor ikatan hidrogen, *molar refractivity* dan Koefisien partisi antara n-oktanol dan air ($\log P_{o/w}$) dihitung menggunakan alat ini. Pengguna dapat mengakses web tanpa harus mengeluarkan biaya dengan alamat situsnya yaitu <http://www.swissadme.ch>. SwissADME telah dirancang untuk mendukung seluruh spesialis dan non-spesialis sebagai upaya dalam penemuan obat baru (Daina et al, 2017).

2.10.5 SPSS 25.0 for windows

SPSS adalah paket statistik yang dirancang oleh IBM Corporation dan digunakan secara luas oleh peneliti atau akademisi di seluruh dunia. Paket statistik ini sangat ramah pengguna dan dapat dilakukan pada berbagai uji statistik. Perangkat lunak statistik ini melakukan uji statistik perbandingan dan korelasional dalam analisis univariat, bivariat, dan multivariat untuk teknik statistik parametrik

dan non-parametrik (Ong, 2017). SPSS/PC+ (versi DOS) merupakan SPSS versi PC yang pertama kali muncul. Dengan mulai populernya system operasi windows, SPSS mulai mengeluarkan versi windows (mulai dari versi 6.0 sampai versi terbaru sekarang) (Kuswadi dan Mutiara, 2004).

Apabila tujuan penelitiannya berupa analisis perbandingan, maka lebih baik digunakan software statistic SPSS karena software ini dapat dengan mudah melakukan analisis perbandingan parametrik dan non-parametrik. Hal ini juga memungkinkan peneliti untuk memeriksa asumsi-asumsi dari pengujian, seperti uji normalitas dan uji outlier. Selain itu, paket statistik ini memungkinkan dilakukannya analisis frekuensi dengan sempurna. Selain itu dapat digunakan dalam menyempurnakan analisis EFA, karena memberikan output yang komprehensif dibanding software lainnya (Ong, 2017).

Sehubungan dengan tujuan analisis korelasi, SPSS dapat dengan mudah melakukan uji *Pearson's Correlation* atau *Spearman's Rank Correlation* untuk memeriksa hubungan bivariat antara dua variabel yang ditargetkan. Ini dapat digunakan untuk melakukan analisis *Multiple Linear Regression* (MLR) dengan hasil analisis regresi yang terorganisir. Dalam kategori variabel dependen, peneliti biasanya memiliki pilihan untuk melakukan Analisis Regresi Logistik, atau Analisis Regresi Multinomial atau Analisis Diskriminan. Dan SPSS ini dianggap sebagai alat statistik yang optimal untuk melakukan ketiga jenis analisis statistik tersebut (Ong, 2017).

SPSS dapat membaca berbagai jenis data atau memasukkan data langsung ke SPSS Data Editor. Struktur dari file Data Editor SPSS berupa mentahan, maka data harus dibentuk dalam bentuk baris (cases) dan kolom (variables). Case

merupakan data informasi untuk satu unit analisis, sedangkan variable merupakan data informasi yang dikumpulkan dari masing-masing kasus (Riana, 2012)

2.10.6 *pkCSM* Online Tool

pkCSM Online Tool merupakan aplikasi pendekatan secara *in silico* yang digunakan untuk analisis sifat farmakokinetik dan toksisitas. Aplikasi ini dapat diakses melalui web (<http://structure.bioc.cam.ac.uk/pkcsml>). Dengan adanya aplikasi ini, peneliti telah terbantu dalam menangani kumpulan data yang besar dan menyusun data toksisitas tikus lebih dari 10.000 molekul dan mengklasifikasi metabolisme hingga 18.000 senyawa. Peneliti dapat menemukan keseimbangan antara potensi, keamanan dan farmakokinetik (Pires *et al.*, 2015).

2.10.7 Protein Data Bank (PDB)

Protein data bank (PDB) adalah tempat penyimpanan struktur data tunggal yang dapat diakses di seluruh dunia. PDB berfungsi untuk pemrosesan dan distribusi data struktur makromolekul biologis dalam bentuk 3D. PDB dapat diakses lewat alamat situs <http://www.pdb.org>. PDB memiliki program-program sederhana yang dapat digunakan untuk melihat dan memanipulasi struktur maupun informasi tentang prakarsa genomic struktural yang sedang berlangsung, selain itu dapat digunakan para peneliti untuk penelitian sebagai upaya dalam penemuan obat baru (Petsko dan Dagmar, 2004).

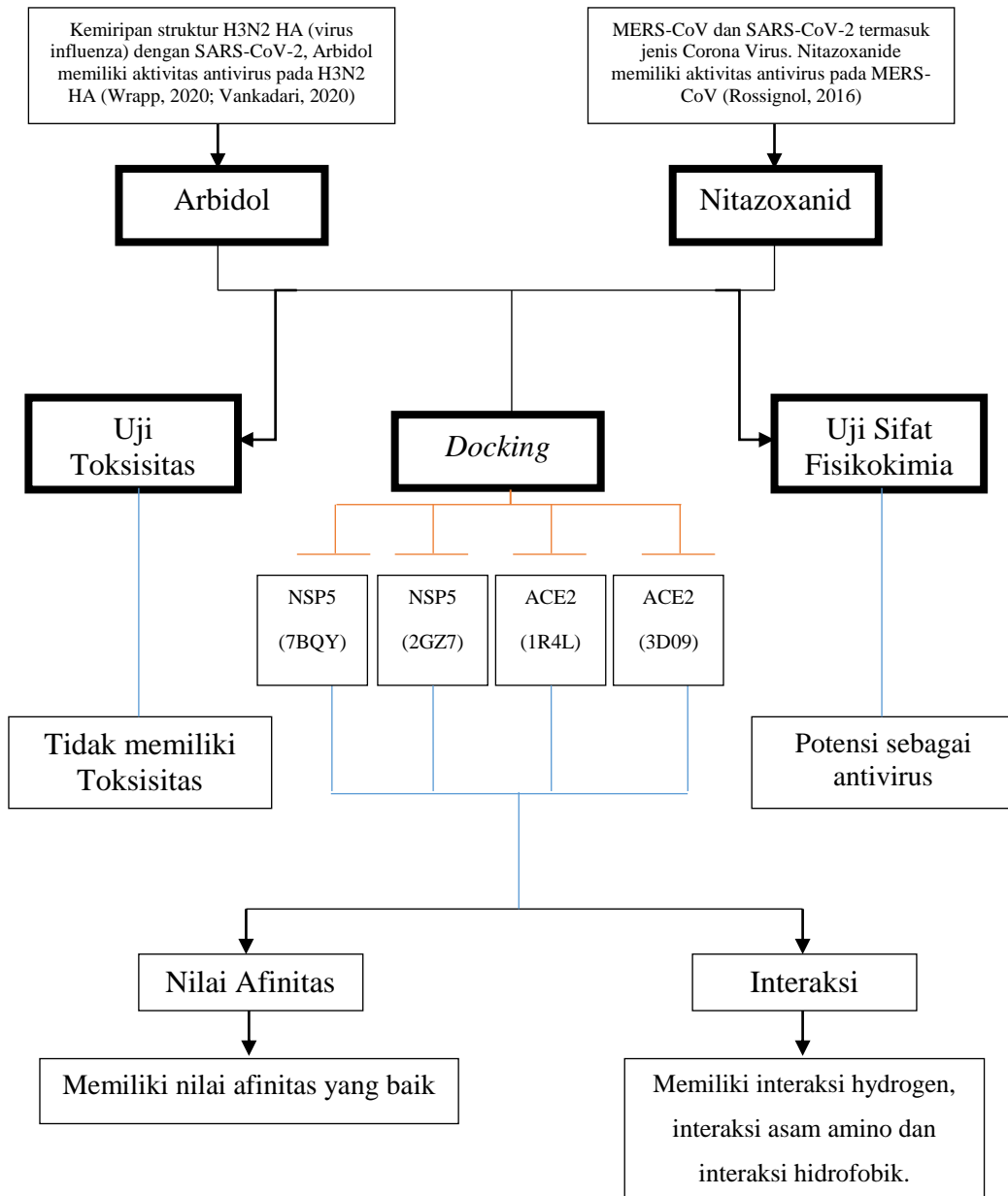
BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL

3.1 Kerangka Konsep

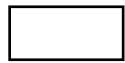
3.4.1 Bagan Kerangka Konseptual

Kerangka konseptual dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:



Gambar 3.1 Bagan Kerangka Konsep

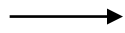
Keterangan :



: Tidak diteliti



: Diteliti



: Memicu



: Menghambat

3.1.2 Uraian Kerangka Konseptual

Nitazoxanide menunjukkan aktivitas antivirus *in vitro* terhadap MERS-CoV. Senyawa tersebut telah terbukti menghambat MERS-CoV yang dikultur dalam sel LLC-MK2 dengan nilai IC_{50} 0,92 $\mu\text{g/ml}$ (Rossignol, 2016). Selain itu, dari hasil penelitian Naik (2020) yang menguji *docking* Nitazoxanide terhadap reseptor NSP5 (6LU7), didapatkan skor *molecular docking* $-6,7$ kcal/mmol menunjukkan bahwa inhibitor ini berinteraksi dengan 2019-nCoV M^{Pro}. Arbidol diketahui terbukti menghambat perubahan konformasi low-pH dari hemagglutinin (HA) dan menghalangi proses fusi (Kadam dan Wilson, 2017). Virus influenza (H3N2) HA memiliki kesamaan rangkaian atau struktur dengan SARS-CoV-2 *spike glycoprotein*. Analisis sekuens dan protein komparatif menunjukkan wilayah sempit domain trimerisasi (S2) (aa947-aa1027) dari SARS-CoV-2 *spike glycoprotein* memiliki kemiripan dengan H3N2 HA (Wrapp et al, 2020; Vankadari, 2020). Oleh karenanya, kedua senyawa tersebut dapat dipertimbangkan untuk intervensi terapeutik 2019-nCoV

Senyawa Nitazoxanide pada uji nilai afinitas digunakan sebagai ligan dari reseptor NSP5 yang memiliki kode protein 7BQY dan 2GZ7, sedangkan Arbidol digunakan sebagai ligan dari reseptor ACE2 yang memiliki kode protein 3D0G

dan 1R4L. Dilakukan uji fisikokimia pada senyawa Nitazoxanide dan Arbidol dengan mengetahui Berat Molekul (BM), logaritma koefisien partisi (Log P), *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA), *Hydrogen Bond Donors* (HBD) dan *molar refractivity*, tujuannya agar terpenuhi hukum lima Lipinski sehingga dapat dilanjutkan ke tahap simulasi *docking*. Untuk mengetahui toksisitas senyawa maka perlu terdapatnya nilai nilai LD₅₀, *skin sensitization*, *Ames toxicity* dan *Hepatotoxicity*, yang nantinya hasil tersebut akan dikategorikan berdasarkan kelas toksisitas (kelas I-VI). Penyiapan ligan dilakukan dengan aplikasi AutoDockTools-1.5.6 sedangkan reseptor menggunakan PyMOL. Selanjutnya dilakukan docking dari ligan terhadap reseptor tersebut dengan menggunakan aplikasi PyRx 0.8. Analisa visual yaitu konformasi struktur molekul hasil docking menggunakan aplikasi PyMOL dan Discovery Studio Visualizer. Analisis statistic dengan Uji-T Independen menggunakan aplikasi SPSS 25.0 *for windows*.

3.2 Hipotesis penelitian

Berdasarkan kerangka konsep diatas dapat dirumuskan hipotesis yaitu senyawa Nitazoxanide memiliki perbedaan nilai binding afinitas yang signifikan terhadap Lopinavir begitupun juga antara Arbidol dengan Chloroquine maka H₀ diterima.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

4.1.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan yaitu penelitian eksperimental laboratoris secara *in silico* dari senyawa Nitazoxanide dan Arbidol terhadap reseptor NSP5 (7BQY dan 2GZ7) dan ACE2 (3D0G dan 1R4L) menggunakan aplikasi PyRx 0.8, PyMOL, Discovery Studio Visualizer, SwissADME, AutoDockTools-1.5.6 dan SPSS 25.0 *for windows*.

4.1.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang akan digunakan terdiri atas persiapan ligan dan reseptor (mengunduh terlebih dahulu strukturnya kemudian pembuangan molekul yang tidak dibutuhkan lalu uji *Lipinski Rule of Five*), Penambatan Molekul (*Molecular Docking*), Visualisasi Hasil Docking dan terakhir Analisis

4.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dimulai pada bulan Maret hingga Juli 2021 dengan dilaksanakan di Gedung Al-Biruni Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri (UIN) Maulan Malik Ibrahim Malang

4.3 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

a. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah senyawa Nitazoxanide dan Arbidol

b. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah nilai afinitas, interaksi hydrogen, interaksi asam amino, interaksi hidrofobik dan interaksi elektrostatik. Berat Molekul (BM), logaritma koefisien partisi (Log P), *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA), *Hydrogen Bond Donors* (HBD) dan *molar refractivity*.

c. Variabel Kontrol

Variabel control dalam penelitian ini adalah NSP5 (7BQY dan 2GZ7), ACE2 (3D0G dan 1R4L) dan senyawa pembanding Lopinavir dan Chloroquine.

d. Definisi Operasional

Nitazoxanide : (2-((5-nitrothiazol-2-yl)carbamoyl)phenyl acetate)

Arbidol : (ethyl 6-bromo-4-((dimethylamino)methyl)-5-hydroxy-1-methyl-2-((phenylthio)methyl)-1H-indole-3-carboxylate)

Lopinavir : ((S)-N-((2S,4S,5S)-5-(2-(2,6-dimethylphenoxy)acetamido)-4-hydroxy-1,6-diphenylhexan-2-yl)-3-methyl-2-(2-oxotetrahydropyrimidin-1(2H)-yl)butanamide)

Chloroquine : (N4-(7-chloroquinolin-4-yl)-N1,N1-diethylpentane-1,4-diamine)

Afinitas pengikatan : kekuatan interaksi antara dua atau lebih molekul yang terikat secara reversibel

Ikatan hidrogen : ikatan yang terjadi antara atom hydrogen (H) pada molekul yang satu dengan salah satu unsur atom (F, O, N) pada molekul lainnya yang merupakan gaya dipol-dipol paling kuat

Ikatan hidrofobik : molekul nonpolar tidak mengandung ion yang terhidrasi atau memiliki momen dipol

Ikatan elektrostatik : gaya antara atom polar dan biasanya diwakili oleh potensial Coulomb

LogP : Perbandingan cacahan fase oktanol dan fase air

Donor dan akseptor : Kapasitas ikatan hydrogen dalam proses absorpsi ikatan hydrogen

Molar Refractivity : adalah nilai total polarisabilitas suatu molekul obat

4.4 Alat dan Bahan Penelitian

4.4.1 Alat

Alat perangkat keras yang digunakan berupa satu set laptop dengan spesifikasi *processor* Intel® Celeron® CPU N3350 @ 1,10GHz dan RAM sebesar 2 GB, perangkat lunak system operasi Windows 10 Pro 64-bit (10,0, Build 19041), Harddisk 1000GB, PyRx 0.8, Discovery Studio Visualizer, PyMOL, AutoDockTools-1.5.6, dan SPSS 25.0 *for windows*.

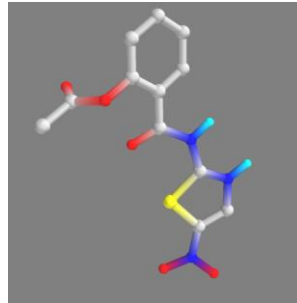
4.4.2 Bahan

4.4.2.1 Struktur Ligan

4.4.2.1.1 Nitazoxanide

Ligan pertama yang digunakan dalam penelitian ini yaitu struktur dari Nitazoxanide. Ligan ini didapat dari seleksi struktur kompleks aldose reductase dengan komponen nitro (3V35), ligan ini merupakan struktur kompleks yang terdiri dari protein, residu dan beberapa molekul kecil, salah satunya merupakan ligan Nitazoxanide. Struktur 3v35 dapat diunduh dari situs *protein data bank*

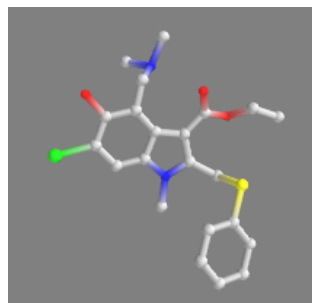
(PDB) <https://www.rcsb.org/structure/3V35>. Untuk seleksi dan preparasi ligannya menggunakan aplikasi AutoDockTools-1.5.6.



Gambar 4.1 Struktur 3D Nitazoxanide (PyRx 0.8)

4.4.2.1.2 Arbidol

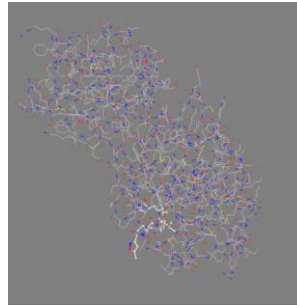
Ligan kedua yang digunakan dalam penelitian ini yaitu struktur dari Arbidol. Ligan ini didapat dari seleksi struktur kristal hemagglutinin virus influenza A/Shanghai/2/2013 (H7N9) dalam kompleks dengan obat antivirus arbidol (5T6S), ligan ini merupakan struktur kompleks yang terdiri dari protein, residu dan beberapa molekul kecil, salah satunya merupakan ligan Arbidol. Struktur 5uxc dapat diunduh dari situs *protein data bank* (PDB) <https://www.rcsb.org/structure/5uxc>. Untuk seleksi dan preparasi ligannya menggunakan aplikasi AutoDockTools-1.5.6.



Gambar 4.2 Struktur 3D Arbidol (PyRx 0.8)

4.4.2.2 Struktur Tiga Dimensi Reseptor 7BQY

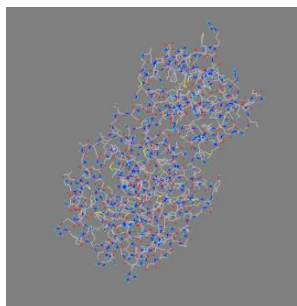
Struktur tiga dimensi (7BQY) NSP5 sebagai protein reseptor antivirus COVID-19 yang dapat diunduh dari situs *protein data bank* (PDB) <https://www.rcsb.org/structure/7BQY>.



Gambar 4.3 Struktur 3D NSP5 (7BQY) (PyRx 0.8)

4.4.2.3 Struktur Tiga Dimensi Reseptor 2GZ7

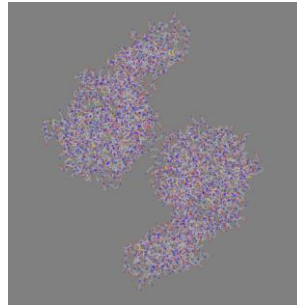
Struktur tiga dimensi (2GZ7) NSP5 sebagai protein reseptor antivirus COVID-19 yang dapat diunduh dari situs *protein data bank* (PDB) <https://www.rcsb.org/structure/2GZ7>.



Gambar 4.4 Struktur 3D NSP5 (2GZ7) (PyRx 0.8)

4.4.2.4 Struktur Tiga Dimensi Reseptor 3D0G

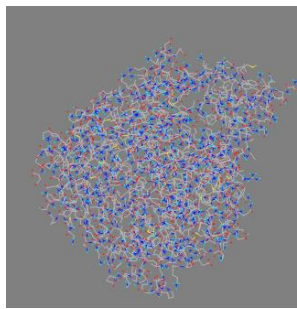
Struktur tiga dimensi ACE2 (3D0G) sebagai protein reseptor antivirus COVID-19 yang dapat diunduh dari situs *protein data bank* (PDB) <https://www.rcsb.org/structure/3D09>.



Gambar 4.5 Struktur 3D ACE2 (3D09) (PyRx 0.8)

4.4.2.5 Struktur Tiga Dimensi Reseptor 1R4L

Struktur tiga dimensi ACE2 (1R4L) sebagai protein reseptor antivirus COVID-19 yang dapat diunduh dari situs *protein data bank* (PDB) <https://www.rcsb.org/structure/1R4L>.

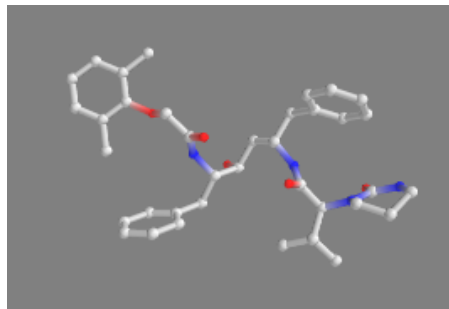


Gambar 4.6 Struktur 3D ACE2 (1R4L) (PyRx 0.8)

4.4.2.6 Struktur Senyawa Pembanding

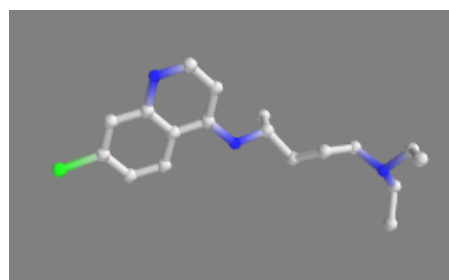
Senyawa pembanding pertama yang digunakan dalam penelitian ini yaitu struktur dari Lopinavir. Ligan ini didapat dari seleksi struktur kristal lopinavir

terikat pada protease HIV-1 *wild type* (2Q5K), ligan ini merupakan struktur kompleks yang terdiri dari protein, residu dan beberapa molekul kecil, salah satunya merupakan ligan Lopinavir. Struktur 2Q5K dapat diunduh dari situs *protein data bank* (PDB) www.rcsb.org/structure/2Q5K. Untuk seleksi dan preparasi ligannya menggunakan aplikasi AutoDockTools-1.5.6.



Gambar 4.7 Struktur 3D Lopinavir (PyRx 0.8)

Senyawa pembanding kedua yang digunakan dalam penelitian ini yaitu struktur dari Chloroquine. Ligan ini didapat dari seleksi struktur kompleks saposin B dengan chloroquine (4V2O), ligan ini merupakan struktur kompleks yang terdiri dari protein, residu dan beberapa molekul kecil, salah satunya merupakan ligan Chloroquine. Struktur 4V2O dapat diunduh dari situs *protein data bank* (PDB) www.rcsb.org/structure/4V2O. Untuk seleksi dan preparasi ligannya menggunakan aplikasi AutoDockTools-1.5.6.

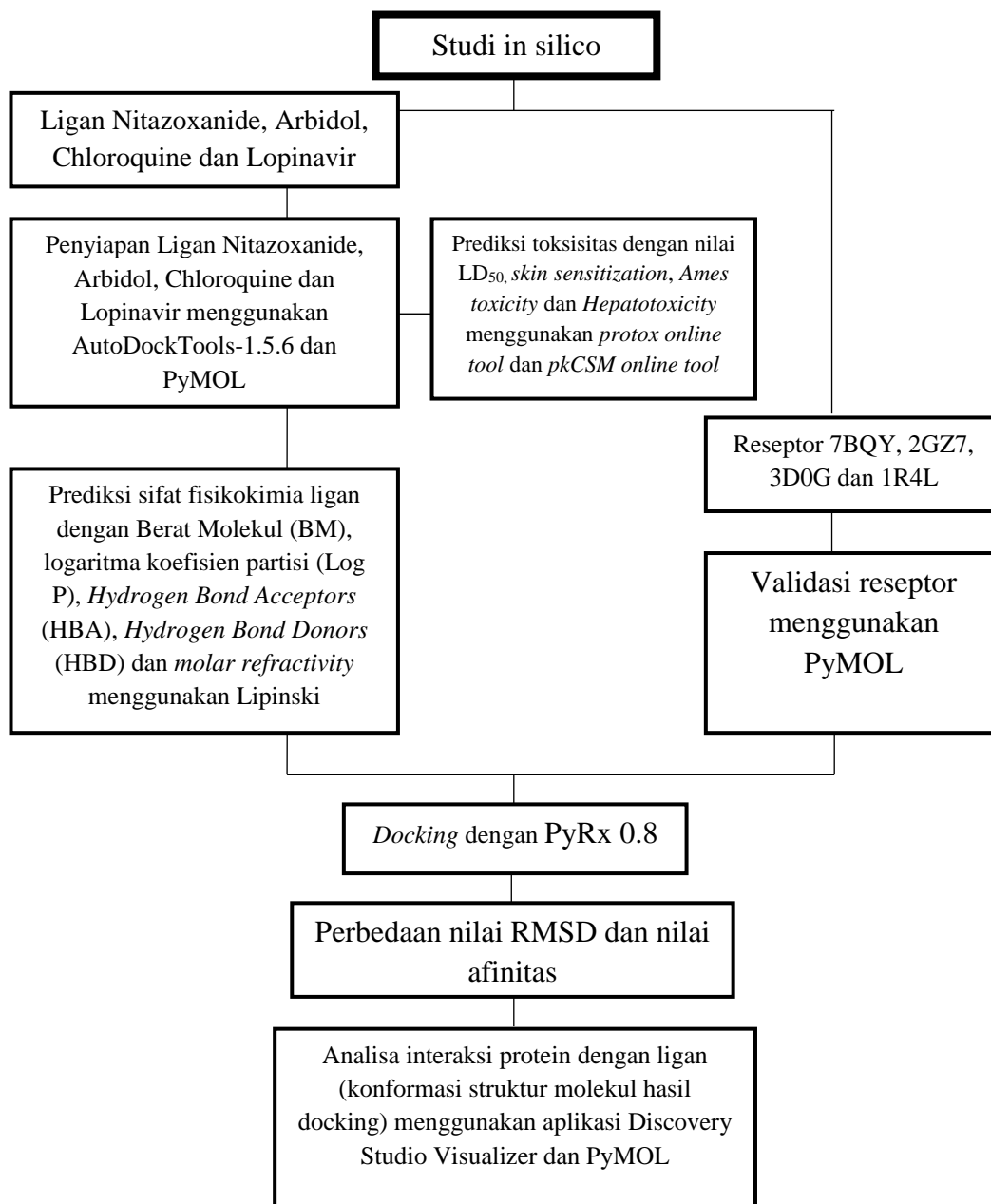


Gambar 4.8 Struktur 3D Chloroquine (PyRx 0.8)

4.5 Prosedur Penelitian

4.5.1 Skema Kerja Penelitian

Penyiapan reseptor juga merupakan validasi



Gambar 4.9 Skema kerja penelitian

4.5.2 Preparasi Ligan

Protein dari ligan dipersiapkan untuk menjadi berkas siap pakai dengan format struktur kimia 3D dengan menggunakan fasilitas konversi AutoDockTools-1.5.6. Pada aplikasi AutoDockTools-1.5.6, langkah pertama yang dilakukan yaitu diatur lokasi penyimpanan (C:\Users\X441N\Documents\virtual screening) untuk menyimpan hasil preparasi ligan Nitazoxanide dan Arbidol nanti. Kemudian file kompleks ligan yang telah diunduh, dibuka dalam format .pdb yang telah diunduh pada situs *protein data bank* (PDB), maka akan tampil struktur kompleks. Langkah selanjutnya dilakukan preparasi ligan Nitazoxanide dan Arbidol dengan eliminasi pelarut (air), semua residu dan *small molecule* (*small molecule* dapat dilihat pada rincian data di situs PDB) selain Nitazoxanide ataupun Arbidol. Setelah itu file disimpan dalam bentuk .pdbqt (*Protein Data Bank, Partial Charge (Q), & Atom Type (T)*). Selain itu untuk data visualisasi berupa struktur dua dimensi, senyawa digambar menggunakan program ChemDraw 19.0.

4.5.3 Prediksi Sifat Fisikokimia dan Toksisitas Ligan

Prediksi sifat fisikokimia ligan yaitu dengan mengecek Kode SMILE ligan yang telah dipersiapkan dengan bantuan situs SwissADME. Kode SMILE diupload ke dalam situs SwissADME. Hasil dianalisis dengan berlandaskan Hukum Lima Lipinski. Lipinski ini berupa lima aturan yang harus dipenuhi ligan agar dapat dilanjutkan ke tahap simulasi docking. Lipinski menggambarkan kelarutan/solubilitas suatu senyawa, larut atau tidaknya dalam air (hidrofobik)/lemak (hidrofilik), kelak sifat kelarutan ini untuk menembus

membran sel oleh pergerakan obat dari konsentrasi tinggi ke rendah (difusi pasif) (Lipinski et al, 1997). Untuk memprediksi toksisitas ligan berdasarkan nilai LD₅₀, *skin sensitization*, *Ames toxicity* dan *Hepatotoxicity* didapatkan melalui *protox online tool* dan *pkCSM online tool*.

4.5.4 Preparasi Protein Reseptor

Sebelum dilakukan preparasi, dilakukan pengunduhan struktur reseptor NSP5 (7BQY dan 2GZ7) dan ACE2 (3D0G dan 1R4L) pada situs *protein data bank* (PDB) dalam format .pdb. Preparasi protein reseptor dilakukan menggunakan aplikasi PyMOL. Pada tahap ini dilakukan eliminasi pelarut (air) dan *small molecule*. Setelah itu file disimpan dalam bentuk .pdbqt (*Protein Data Bank, Partial Charge (Q), & Atom Type (T)*).

4.5.5 Penambatan Molecular Docking

Penambatan *Molecular Docking* dilakukan dengan menggunakan aplikasi PyRx

0.8. Terdapat beberapa langkah dalam proses *docking*, yaitu:

1. Dimasukkan reseptor maupun senyawa yang telah dipreparasi ke dalam aplikasi PyRx 0.8 dalam bentuk pdbqt.
2. Kemudian di set reseptor menjadi *macromolecule* sedangkan senyawanya menjadi ligan. Ligan dan reseptor akan tersimpan di komputer secara otomatis dan akan tertera di *navigator* bagian “AutoDockTools-1.5.6”.
3. Reseptor dan ligan yang telah tersimpan tadi, dimasukkan pada *control* bagian *Vina Wizard* pilihan *select molecule*. Kemudian dipilih tombol *Forward*.

4. Diatur *grid box* pada bagian *active site* reseptor dan diatur *dimension* yang diinginkan dengan ukuran standar 50:50:50. Dicatat informasi *vina search space* (*center* dan *dimension*) data ini kelak dipergunakan dalam kebutuhan *administrative*, validasi dan saat analisis posisi relatif nanti.
5. Dipilih *Run Vina* dan didapatkan hasil berupa nilai RMSD dan nilai afinitas energy, disesuaikan apakah RMSD sudah memenuhi syarat atau belum.

4.5.6 Visualisasi Hasil *Docking*

Visualisasi hasil *docking* dalam bentuk 3D dilakukan dengan menggunakan aplikasi PyMOL sedangkan visualisasi interaksi dalam bentuk 2D dilakukan dengan menggunakan aplikasi Discovery Studio Visualizer.

4.6 Analisa Data

Analisa data dilakukan berdasarkan hasil dari uji sifat fisikokimia, *molecular docking* dan interaksi reseptor dengan ligan. Sifat fisikokimia diukur menurut hukum lima Lipinski dengan aturan-aturan yang ditetapkan yaitu Berat Molekul (BM) kurang dari 500 Da; nilai logP kurang dari 5; jumlah donor ikatan hidrogen tidak lebih dari 5; jumlah akseptor ikatan hidrogen tidak lebih dari 10 dan nilai *molar refractivity* diantara 40-130 (Lipinski et al, 1997). Analisa data toksisitas ligan Nitazoxanide dan Arbidol dikategorikan berdasarkan nilai LD₅₀. Hasil akan dipaparkan dalam bentuk tabel. Analisa data dari hasil docking dengan diketahui nilai afinitas dan nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD). Nilai afinitas kelak akan digunakan untuk melihat senyawa apakah lebih baik dibandingkan dengan senyawa pembanding, didapatkan dari analisis statistic

menggunakan aplikasi SPSS 25.0 *for windows* dengan Uji-T Independen. Analisa hasil interaksi protein dengan ligan berdasarkan hasil interaksi hydrogen, interaksi asam amino dan interaksi hidrofobik yang telah didapatkan dari perbandingan dengan literature. Hasil akan dipaparkan dalam bentuk tabel.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji *in silico* dilakukan dalam penelitian ini. Senyawa sintesis seperti Nitazoxanide dan Arbidol digunakan sebagai ligan. Senyawa Nitazoxanide termasuk dalam golongan *thiazolides* (Shakya et al, 2017). Senyawa ini dilaporkan memiliki aktivitas antivirus secara *in vitro* terhadap MERS-CoV (Rossignol, 2016) dan secara *in silico* terhadap SARS-CoV-2 (Naik, 2020; Oliveira dan Kelson, 2020). Sedangkan senyawa Arbidol merupakan obat dari turunan indol (Blaising et al, 2014). Senyawa tersebut dilaporkan memiliki aktivitas antivirus SARS-CoV-2 secara *in silico* (Padhi et al, 2021; Vankadari, 2020) dan *in vitro* (Zhu et al, 2020). Hal-hal selain uji *in silico* yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu prediksi sifat fisikokimia, prediksi toksisitas dan visualisasi hasil docking.

5.1 Preparasi Sampel dalam Metode *In Silico*

Proses preparasi sampel yang dilakukan dalam uji *in silico* yaitu dengan memisahkan *native ligand* dari struktur ligan. Tujuan dari pemisahan ini untuk menyediakan pocket yang nantinya digunakan sebagai ruang tempat pengikatan senyawa uji pada reseptor (Putri dkk, 2019). Proses preparasi *in silico* mencakup senyawa uji (Darusman dan Fakhri, 2020). Sampel uji dalam penelitian ini adalah Nitazoxanide dan Arbidol. Selain itu, digunakan Lopinavir dan Chloroquine sebagai senyawa pembanding.

5.1.1 Pengunduhan ligan dan senyawa pembanding

Langkah awal dalam melakukan preparasi sampel yaitu dilakukan dengan pengunduhan ligan serta senyawa pembanding dari situs *Protein Data Bank* <https://www.rcsb.org> dengan format *.pdb. *Protein data bank* (PDB) adalah tempat penyimpanan struktur data tunggal yang dapat diakses di seluruh dunia. PDB berfungsi untuk pemrosesan dan distribusi data struktur makromolekul biologis dalam bentuk 3D. PDB memiliki program-program sederhana yang dapat digunakan untuk melihat dan memanipulasi struktur maupun informasi tentang prakarsa genomic struktural yang sedang berlangsung, selain itu dapat digunakan para peneliti untuk penelitian sebagai upaya dalam penemuan obat baru (Petsko dan Dagmar, 2004).

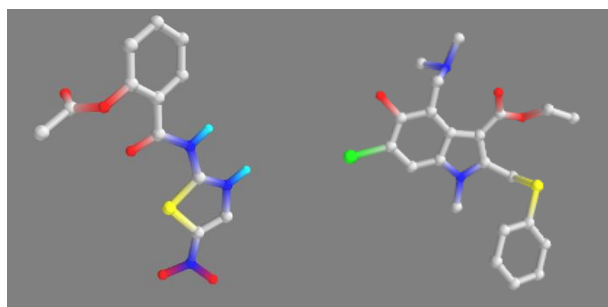
Struktur protein dari ligan biasanya memenuhi kriteria berikut: resolusi yang baik (2.5 Å atau lebih baik (dibawah)), kerapatan elektron sepenuhnya *resolved* untuk seluruh ligan dan residu *binding-site* di sekitarnya, tanpa pengaruh yang signifikan dari pengemasan kristal saat pengamatan proses pengikatan (Cole et al., 2011), merupakan protein manusia, diperoleh dari hasil kristalografi sinar X dan telah membentuk kompleks dengan ligan asli (Herowati dkk, 2020). Namun, dalam karya Sutherland et al. (2007), penulis menilai akurasi *cross-docking* dan ditemukan bahwa tidak ada hubungan antara resolusi dan akurasi *cross-docking* (suatu keadaan ketika ligan mengaitkan ke struktur reseptor yang terikat pada ligan yang berbeda dalam struktur kristal). Oleh karena itu, praktik umum dalam pemilihan struktur untuk docking tampaknya tidak berdasarkan resolusinya.

Tabel 5.1 Kriteria struktur reseptor dari Ligan

Senyawa	Resolusi	Makhluk Hidup	Metode
Nitazoxanide (3V35)	1.90 Å	Homo Sapiens	Difraksi X-RAY
Arbidol (H7N9)	2.36 Å	Virus Influenza A	Difraksi X-RAY
Lopinavir (2Q5K)	1.95 Å	HIV 1	Difraksi X-RAY
Chloroquine (4V2O)	2.13 Å	Homo Sapiens	Difraksi X-RAY

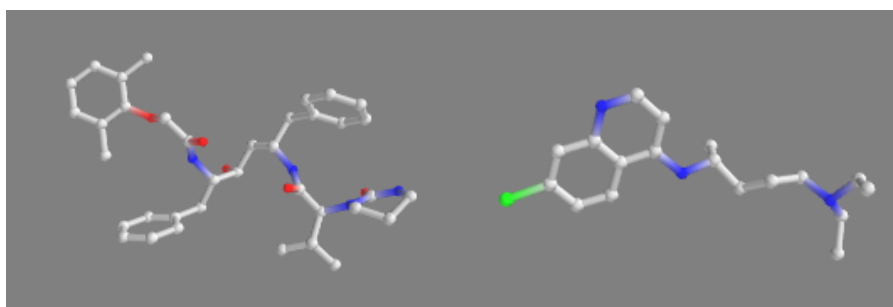
5.1.2 Penyiapan Struktur 2 Dimensi dan 3 Dimensi (ligan, reseptor, senyawa pembanding)

Sebelum dilakukan uji *in silico*, senyawa protein seperti Nitazoxanide dengan nama IUPAC (2-((5-nitrothiazol-2-yl)carbamoyl)phenyl acetate) dan Arbidol dengan nama IUPAC (ethyl 6-bromo-4-((dimethylamino)methyl)-5-hydroxy-1-methyl-2-((phenylthio)methyl)-1H-indole-3-carboxylate), serta senyawa pembanding seperti Lopinavir dengan nama IUPAC ((S)-N-((2S,4S,5S)-5-(2-(2,6-dimethylphenoxy)acetamido)-4-hydroxy-1,6-diphenylhexan-2-yl)-3-methyl-2-(2-oxotetrahydropyrimidin-1(2H)-yl)butanamide)) dan Chloroquine dengan nama IUPAC (N4-(7-chloroquinolin-4-yl)-N1,N1-diethylpentane-1,4-diamine) terlebih dahulu dilakukan seleksi ligan menjadi berkas siap pakai dengan format struktur kimia 3D dengan menggunakan fasilitas konversi AutoDockTools-1.5.6. Hasil struktur tiga dimensi ditunjukkan pada gambar 5.1.



A

B

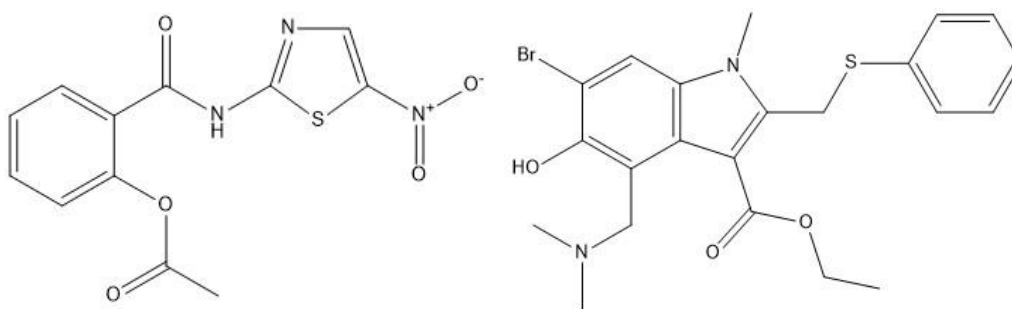


C

D

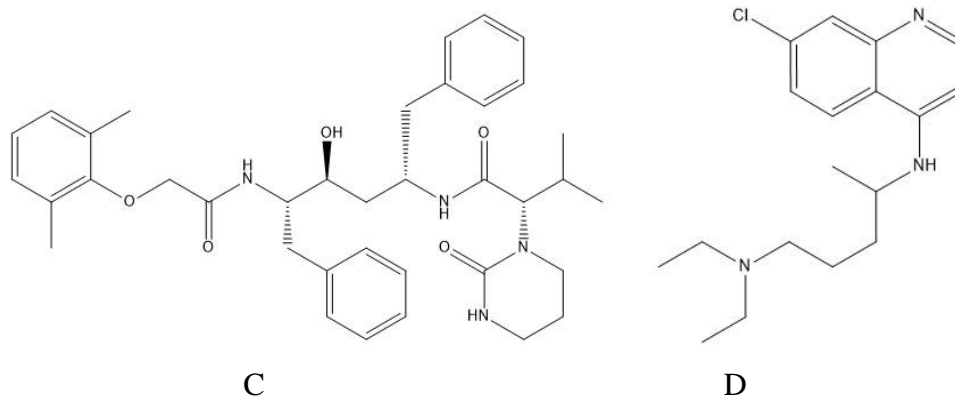
Gambar 5.1 Struktur tiga dimensi senyawa Nitazoxanide (A). Struktur tiga dimensi senyawa Arbidol (B). Struktur tiga dimensi senyawa Lopinavir (C). Struktur tiga dimensi senyawa Chloroquine (D) (ChemDraw 19.0).

Setelah itu untuk data visualisasi berupa struktur dua dimensi, senyawa digambar menggunakan program ChemDraw 19.0. Hasil struktur dua dimensi ditunjukkan pada gambar 5.2. Dari hasil penggambaran dua dimensi ini selanjutnya akan dilakukan pembuatan *code* SMILES.



A

B



Gambar 5.2 Struktur dua dimensi senyawa Nitazoxanide (A). Struktur dua dimensi senyawa Arbidol (B). Struktur dua dimensi senyawa Lopinavir (C). Struktur dua dimensi senyawa Chloroquine (D) (ChemDraw 19.0).

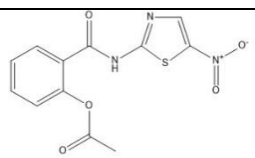
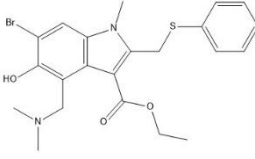
5.1.3 Penentuan *Minimal Energy*

Optimasi geometrik dengan menggunakan proses minimisasi energi bertujuan untuk mendapatkan perhitungan yang lebih akurat tentang molekul dan konformasi akhir yang lebih stabil (Carvalho et al. 2003). Proses ini menjadikan ligan lebih stabil mendekati keadaan awal selama proses docking berlangsung (Hanif dkk, 2020). *Minimization energy* mengoptimalkan struktur ligan untuk mencapai konformasi dengan energi terendah yang menggambarkan stabilitasnya (Roy et al. 2015). Minimisasi energi mempermudah susunan ikatan selama proses docking (Ganesan et al, 2020), sehingga dapat meningkatkan ketepatan dan performa hasil *docking* (Hanif dkk, 2020). Penentuan *minimal energy* menggunakan program Chem3D 19.0 dilakukan replikasi tiga kali dengan metode *Merck Molecular Force Field 94* (MMFF94), namun sebelumnya dilakukan pengunduhan struktur tiga dimensi dari situs <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> dengan format **sdf*. Setelah itu dilakukan kalkulasi *minimal energy* melalui Chem3D 19.0 dengan cara *import file > calculation > MMFF94 > Perform*

MMFF94 *Minimization*. Sehingga didapatkan hasil seperti yang tertera pada Tabel

5.2. Hasil tersebut selanjutnya disimpan dengan format *.mol2.

Tabel 5.2 Hasil penentuan minimal energy (kcal/mol) senyawa *Nitazoxanide* dan *Arbidol* menggunakan metode MMFF94

Senyawa Protein	Minimal Energy (kcal/mol)			Rerata (kcal/mol)
	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III	
 Nitazoxanide	12.1481	12.148	12.1479	12.148
 Arbidol	72.0412	72.0404	72.0401	72.0405667

Keterangan: Nama IUPAC

Nitazoxanide : (2-((5-nitrothiazol-2-yl)carbonyl)phenyl acetate)

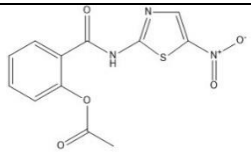
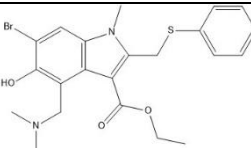
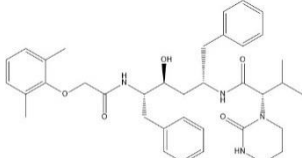
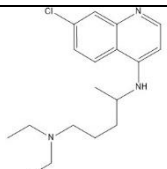
Arbidol : (ethyl 6-bromo-4-((dimethylamino)methyl)-5-hydroxy-1-methyl-2-((phenylthio)methyl)-1H-indole-3-carboxylate)

Dari tabel 5.2, Rerata minimal yang didapatkan pada senyawa Nitazoxanide dan Arbidol masing-masing adalah sebesar 12.148 kkal/mol dan 72.0405667 kkal/mol. Energi tersebut merupakan energy seminimal mungkin pada bentuk stereokimia dan bentuk paling stabil untuk dilakukan docking.

5.1.4 Pembuatan Kode SMILES

Sebelum dilakukan pembacaan parameter kritis dan prediksi toksisitas dilakukan pembuatan *code* SMILES. Pembuatan *code* SMILES melalui aplikasi ChemDraw 19.0. Struktur dua dimensi senyawa protein serta senyawa pembanding yang telah dibuat pada aplikasi tersebut dilanjutkan proses dengan mengklik edit > copy as > SMILES. Setelah itu *code* SMILES disimpan untuk penentuan *grid box center* dan *sizes*, sifat fisikokimia dan sifat toksisitas. Hasil *code* SMILES ditunjukkan pada tabel 5.3.

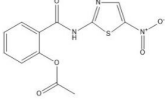
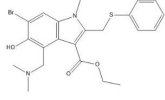
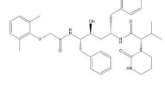
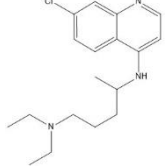
Tabel 5.3 Hasil *code* SMILES Nitazoxanide, Arbidol, Lopinavir dan Chloroquine

Senyawa	Code SMILES
 <p>Nitazoxanide</p>	<chem>O=C(NC1=NC=C([N+])([O-])=O)S1)C2=CC=CC=C2OC(C)=O</chem>
 <p>Arbidol</p>	<chem>O=C(C1=C(CSC2=CC=CC=C2)N(C)C3=C1C(CN(C)C)=C(O)C(Br)=C3)OCC</chem>
 <p>Lopinavir</p>	<chem>CC([C@@H](C(N[C@@H](CC1=CC=CC=C1)C[C@@H]([C@@H](C[C@@H](NC(COC2=C(C=CC=C2)C)=O)CC3=CC=CC=C3)O)=O)N4CCCNC4=O)C</chem>
 <p>Chloroquine</p>	<chem>CC(CCCN(CC)CC)NC1=CC=NC2=CC(Cl)=CC=C12</chem>

5.1.5 Pembacaan Parameter Kritis Menggunakan SwissADME (ligan dan senyawa pembanding)

Prediksi sifat fisikokimia yaitu dengan mengecek ligan Nitazoxanide dan Arbidol, serta senyawa pembanding Lopinavir dan Chloroquine dengan menggunakan bantuan situs SwissADME <http://www.swissadme.ch/>. Lipinski ini berupa lima aturan yang harus dipenuhi ligan agar dapat dilanjutkan ke tahap simulasi docking. Senyawa dikatakan tidak memenuhi apabila terdapat kesalahan lebih dari satu kriteria (Lipinski et al, 1997), dengan cara analisa Berat Molekul (BM), logaritma koefisien partisi (Log P (XLogP3)), *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA), *Hydrogen Bond Donors* (HBD) dan *molar refractivity*. SwissADME dipilih karena platform ini tidak mengeluarkan biaya dan berfungsi dalam menghitung sifat molekuler ligan berdasarkan aturan lima Lipinski (Lipinski, 2000). Dengan menggunakan alat ini, profil farmakokinetik senyawa seperti absorpsi, distribusi dan metabolisme ligan dapat dievaluasi (Daina et al, 2016). Hasil pembacaan sifat fisikokimia ditunjukkan pada tabel 5.4.

Tabel 5.4 Hasil pembacaan sifat fisikokimia dengan menerapkan hukum lima Lipinski terhadap senyawa protein Nitazoxanide dan Arbidol, serta pada senyawa pembanding Lopinavir dan Chloroquine.

Senyawa	Ketentuan Lima Lipinski					Hasil
	BM (Dalton)	LogP	HBD	HBA	MR	
 Nitazoxanide	307.28	2.04	1	6	76.65	Ya
 Arbidol	477.41	4.43	1	4	122.69	Ya
 Lopinavir	628.80	5.92	4	5	187.92	Tidak
 Chloroquine	319.87	4.63	1	2	97.41	Ya

Keterangan dan Syarat:

- BM : Berat Molekul < 500 Dalton
 LogP : Koefisien Partisi < 5
 HBD : *Hydrogen Bond Donor* < 5
 HBA : *Hydrogen Bond Acceptor* < 10
 MR : *Molar Refractivity* (40 < MR < 130)

Secara umum aturan Lipinski menggambarkan kelarutan atau solubilitas senyawa tertentu, hidrofobik atau hidrofilik, nantinya untuk menembus membran sel oleh pergerakan obat dari konsentrasi tinggi ke rendah (difusi pasif). Kriteria

Hukum Lima Lipinski yang pertama yaitu LogP (XLogP3) dengan rentang -0.4-5. Semakin besar atau positif nilai log P, maka semakin hidrofobik molekul tersebut. Jika sifatnya terlalu hidrofobik maka tingkat toksisitasnya juga akan tinggi karena akan tertahan lebih lama pada lipid bilayer atau dasar struktur membrane sel dan terdistribusi lebih luas di dalam tubuh sehingga selektivitas ikatan terhadap enzim target menjadi berkurang. Nilai log P yang terlalu negatif juga tidak baik karena molekul tersebut tidak dapat melewati membran lipid bilayer (Lipinski et al, 1997).

Kedua Berat Molekul (BM), BM yang lebih dari 500 Da tidak dapat berdifusi menembus membrane sel. Ketiga donor ikatan hydrogen yang dinyatakan dalam jumlah gugus O-H dan N-H dan keempat akseptor ikatan hydrogen yang dinyatakan dalam jumlah atom O dan N, jumlah ini mendeskripsikan kapasitas ikatan hydrogen untuk menentukan kebutuhan energi yang dibutuhkan agar proses absorpsi dapat terjadi (Lipinski et al, 2017). Kelima *Molar Refractivity*, MR adalah nilai total polarisabilitas suatu molekul obat (Ruswanto, 2015), dimana senyawa non polar dapat membentuk momentum fungsinya agar dapat berikatan dengan reseptor, sedangkan sifat polar berfungsi agar sisa dari metabolisme senyawa dapat diekskresikan dari tubuh (Bachtiar dkk, 2021).

Dari tabel 5.4, senyawa Arbidol dan Chloroquine sama-sama memiliki berat molekul yang kurang dari 500 Dalton, nilai LogP kurang dari 5, nilai *Hydrogen Bond Donor* kurang dari 5, nilai *Hydrogen Bond Acceptor* kurang dari 10, nilai *Molar Refractivity* diantara 40 dan 130, nilai *Topological Polar Surface*

Area kurang dari sama dengan 140 (Å) dan nilai *Rotating Hydrogen Bond* kurang dari sama dengan 10. Sehingga senyawa Arbidol dan Chloroquine memenuhi hukum lima Lipinski dan dapat dikatakan senyawa tersebut mudah untuk diabsorpsi dan memiliki permeabilitas yang tinggi. Oleh karenanya senyawa di atas dapat diadministrasikan secara oral (Adriani, 2018).

Sementara itu, Lopinavir tidak memenuhi hukum lima Lipinski dikarenakan terdapat tiga kriteria yang tidak terpenuhi yaitu nilai berat molekulnya sebesar 628.80 Da ($BM < 500$ Da), nilai LogP sebesar 5.92 dan nilai *Molar Refractivity*nya sebesar 187.92 ($40 < MR < 130$). Senyawa dapat dikatakan tidak memenuhi apabila terdapat lebih dari satu kriteria yang menyimpang (Lipinski et al, 1997). Berat molekul yang lebih dari 500 Da tidak dapat berdifusi menembus membrane sel (Lipinski et al, 2017). Semakin besar atau positif nilai log P, maka semakin hidrofobik molekul tersebut. Jika sifatnya terlalu hidrofobik maka tingkat toksisitasnya juga akan tinggi karena akan tertahan lebih lama pada lipid bilayer atau dasar struktur membrane sel dan terdistribusi lebih luas di dalam tubuh sehingga selektivitas ikatan terhadap enzim target menjadi berkurang (Lipinski et al, 1997). *Molar Refractivity* yang tidak sesuai dengan persyaratan akan menyebabkan senyawa non polar tidak dapat membentuk momentum sehingga tidak dapat berikatan dengan reseptor, dan sifat polarnya tidak dapat mengekskresikan sisa dari metabolisme senyawa (Bachtiar dkk, 2021). Oleh karenanya, senyawa Lopinavir akan sulit diabsorpsi dan permeabilitasnya rendah.

Namun, senyawa Nitazoxanide memiliki berat molekul yang paling rendah yaitu 205 Da sehingga senyawa ini akan dapat berdifusi menembus membrane sel

dengan mudah. Selain itu, senyawa Arbidol memiliki nilai LogP yang paling baik yaitu 0.986580 (mendekati 1) sehingga senyawa ini lebih bersifat hidrofobik. Senyawa Arbidol dan Chloroquine memiliki kapasitas ikatan hydrogen yang sedikit sehingga senyawa ini tidak membutuhkan energy yang tinggi untuk proses absorpsi.

5.1.6 Prediksi Sifat Toksisitas

Toksisitas merupakan kemampuan suatu zat kimia untuk menimbulkan kerusakan pada organisme baik pada saat digunakan atau pada saat berada dalam lingkungan (Priyanto, 2009). Uji toksisitas dilakukan apabila telah diketahui senyawa memiliki aktivitas prediksi yang lebih baik dibandingkan senyawa pembanding berdasarkan persamaan Hubungan Kuantitatif Struktur dan Aktivitas (HKSA) (Pires et al, 2015). Prediksi sifat toksisitas dilakukan dengan memasukkan *code* SMILES yang telah disiapkan tadi melalui situs *pkCSM Online Tools* <https://biosig.unimelb.edu.au/pkcsm/prediction> dan situs *Protox II Online Tools* https://tox-new.charite.de/protox_II/ untuk memprediksi untuk nilai LD₅₀. Hasil prediksi sifat toksisitas senyawa protein Nitazoxanide dan Arbidol, serta pada senyawa pembanding Lopinavir dan Chloroquine ditunjukkan pada tabel 5.5

Tabel 5.5 Hasil prediksi sifat toksisitas senyawa protein Nitazoxanide dan Arbidol, serta pada senyawa pembanding Lopinavir dan Chloroquine menggunakan *pkCSM Online Tools* dan *Protox II Online Tools*

Senyawa	Kategori Toksisitas				Hasil (GHS)
	LD ₅₀ (mg/kg)*	<i>skin sensitization</i> **	<i>Ames toxicity</i> **	<i>Hepatotoxicity</i> **	
Nitazoxanide	1350	Tidak	Ya	Ya	4
Arbidol	340	Tidak	Tidak	Tidak	4
Lopinavir	5000	Tidak	Tidak	Ya	5
Chloroquine	750	Tidak	Ya	Ya	4

Keterangan Tabel:

* Dengan *Protox II Online Tools*

** Dengan *pkCSM Online Tools*

Macam penilaian toksisitas yang dilakukan pada uji ini yaitu LD₅₀, *skin sensitization*, *Ames toxicity* dan *Hepatotoxicity*. *Globally Harmonized System* mengklasifikasikan LD₅₀ menjadi 6 kelas, yaitu kelas I (fatal jika tertelan): LD₅₀ ≤ 5mg/kg; kelas II (fatal jika tertelan): 5 < LD₅₀ ≤ 50 mg/kg; kelas III (beracun jika tertelan): 50 < LD₅₀ ≤ 300 mg/kg; kelas IV (berbahaya jika tertelan): 300 < LD₅₀ ≤ 2000 mg/kg; kelas V (bisa berbahaya jika tertelan): 2000 < LD₅₀ ≤ 5000 mg/kg; dan kelas VI (tidak beracun): LD₅₀ > 5000 mg/kg (El-din, 2016).

Berdasarkan tabel 5.5 Hasil yang didapatkan untuk semua senyawa yaitu terbukti tidak memiliki toksisitas pada analisa *skin sensitization*. Sehingga semua senyawa tidak menimbulkan sensitisasi pada kulit. Untuk hasil uji *Ames toxicity* terdapat dua senyawa yang positif yaitu Nitazoxanide dan Chloroquine, artinya kedua senyawa tersebut bersifat mutagenik dan oleh karenanya dapat bertindak

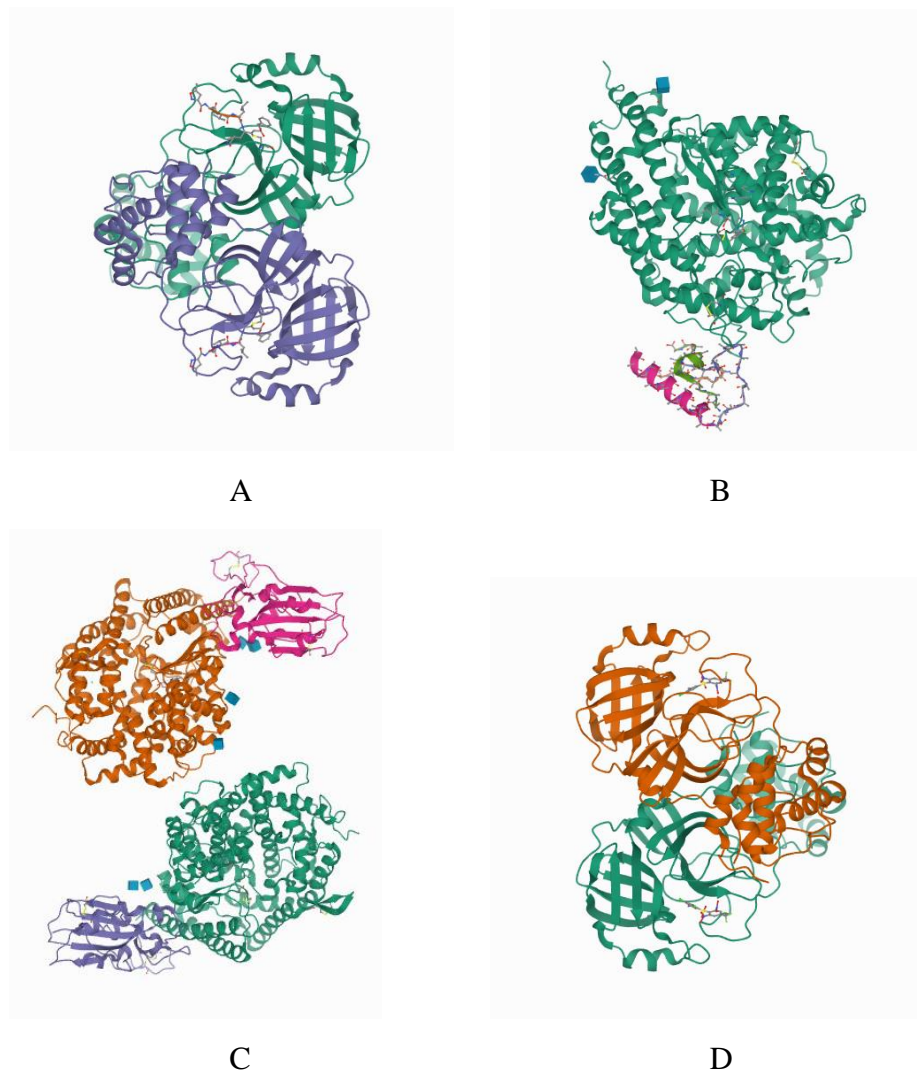
sebagai karsinogen (Kesuma dkk, 2018). Kemudian hasil uji *Hepatotoxicity* menunjukkan positif pada senyawa protein Nitazoxanide dan senyawa pembanding Lopinavir dan *Chloroquine*, sehingga dapat diprediksi ketiga senyawa tersebut toksik terhadap hepar. Selain itu untuk toksisitas per oral pada hewan coba (LD_{50}) dilakukan pengujian dan pengklasifikasian toksisitas melalui situs *Protox II Online Tools*. *Lethal Dose 50* merupakan data statistik suatu besaran untuk menyatakan dosis tunggal suatu senyawa yang diperkirakan menyebabkan kematian atau menimbulkan efek toksik pada 50% hewan coba setelah perlakuan. Makin kecil nilai toksik maka semakin toksik suatu senyawa, demikian juga dengan sebaliknya (Hodgson dan Levi, 2000; Priyanto, 2009). Dari pengujian tersebut dapat diprediksi senyawa Nitazoxanide memiliki nilai LD_{50} pada hewan coba sebesar 1350 mg/kg, sedangkan senyawa Arbidol sebesar 340 mg/kg dan senyawa pembanding Chloroquine sebesar 750 mg/kg sehingga ketiga senyawa tersebut diklasifikasikan pada kelas 4 GHS ($300 < LD_{50} \leq 2000$ mg/kg), yang berarti senyawa tersebut memiliki efek toksisitas yang relatif rendah (Hodge dan Sterner, 1949). Untuk senyawa pembanding Lopinavir diprediksi memiliki nilai sebesar 5000 mg/kg sehingga senyawa tersebut diklasifikasikan pada kelas 5 GHS ($2000 < LD_{50} \leq 5000$ mg/kg) yang artinya mempunyai efek toksisitas akut yang rendah. Makin besar nilai toksik maka semakin tidak toksik suatu senyawa, demikian juga dengan sebaliknya (Hodgson dan Levi, 2000; Priyanto, 2009).

5.2 Penambatan Molekul Ligand-Reseptor

Teknik *in silico* menjadi peranan penting dalam rangka merancang, menemukan dan optimasi senyawa bioaktif pada proses pengembangan obat (Hinchliffe, 2008; Siswandono, 2016). Tujuan pengujian ini yaitu memprediksi model ikatan dari ligan yang diketahui aktif, pencarian ligan baru menggunakan *in silico screening* atau *virtual screening* dan memprediksi afinitas ikatan dari beberapa seri senyawa aktif (Leach et al., 2006). Titik kritis dalam proses penambatan yaitu berupa program docking yang digunakan serta pada sistem yang dipelajari (Sutherland et al, 2007). Selain itu adanya molekul air pada senyawa, molekul air bertanggung jawab untuk diskrit jaringan ikatan air hidrogen, efek hidrofobik dan terlibat dalam stabilisasi kompleks protein-ligan (Spyrakis dan Cavasotto, 2015). Pemodelan efek *water-mediated* itu tidak mudah dan ada sejumlah pendekatan yang beragam, mulai dari model pelarut kontinum hingga metode yang mempertimbangkan air sebagai komponen eksplisit atau pada level kuantum yang telah dikembangkan (Spyrakis dan Cavasotto, 2015; De Beer et al, 2010). Reseptor yang digunakan dalam penelitian ini yaitu NSP5 (7BQY dan 2GZ7) dan ACE2 (3D0G dan 1R4L).

5.2.1 Pengunduhan reseptor

Sebelum melakukan penyiapan sampel dilakukan pengunduhan reseptor terlebih dahulu melalui situs *Protein Data Bank* <https://www.rcsb.org> dengan format *.pdb. Reseptor yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *Non Structural Protease-5* (7BQY dan 2GZ7) dan *Angiotensin-converting enzyme 2* (3D0G dan 1R4L). Hasil pengunduhan reseptor ditunjukkan pada gambar 5.3

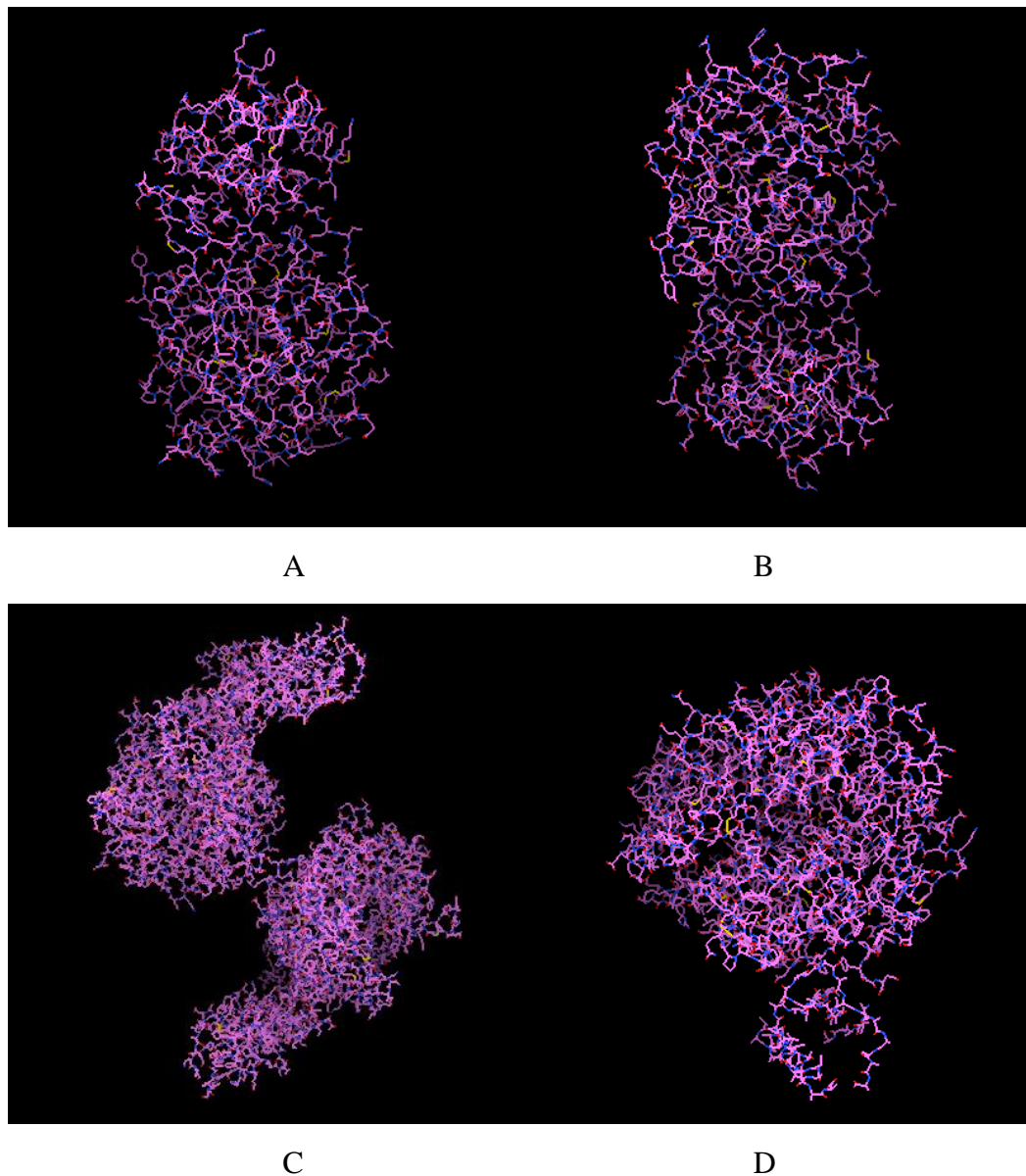


Gambar 5.3 Hasil pengunduhan reseptor (A) *Non Structural Protease-5* (7BQY) (B) *Non Structural Protease-5* (2GZ7) (C) *Angiotensin-converting enzyme 2* (3D0G) (D) *Angiotensin-converting enzyme 2* (1R4L) (<https://www.rcsb.org/structure>)

5.2.2 Penyiapan struktur tiga dimensi Reseptor

Preparasi reseptor dilakukan menggunakan aplikasi PyMOL, yang dikembangkan oleh DeLano Scientific, memiliki kemampuan untuk menghasilkan gambar yang detail dan informatif yang dapat digunakan dalam penelitian ilmiah (Delano, 2006). Pada tahap ini dilakukan eliminasi pelarut (air) dan *small*

molecule (native ligand). Setelah itu file disimpan dalam bentuk .pdbqt (*Protein Data Bank, Partial Charge (Q), & Atom Type (T)*). Reseptor NSP5 dengan ID 7BQY memiliki satu *small molecule* dengan nama n-[(5-methylisoxazol-3-yl)carbonyl]alanyl-l-valyl-n~1~((1r,2z)-4-(benzyloxy)-4-oxo-1-[(3r)-2-oxopyrrolidin-3-yl]methyl}but-2-enyl)-l-leucinamide dan memiliki dua rantai (A, B) sedangkan ID 2GZ7 memiliki satu *small molecule* dengan nama 2-[(2,4-dichloro-5-methylphenyl)sulfonyl]-1,3-dinitro-5-(trifluoromethyl)Benzene dan memiliki satu rantai (A). Reseptor ACE2 dengan ID 3D0G memiliki empat *small molecule* yaitu 2-acetamido-2-deoxy-beta-D-glucopyranose; 2-acetamido-2-deoxy-alpha-D-glucopyranose; ZINC ION dan CHLORIDE ION dan jumlah rantai pada reseptor ini yaitu tiga (A,B,C). Sedangkan pada reseptor ACE2 dengan ID 1R4L memiliki empat *small molecule* yaitu (s,s)-2-{1-carboxy-2-[3-(3,5-dichloro-benzyl)-3h-imidazol-4-yl]-ethylamino}-4-methyl-pentanoic acid; 2-acetamido-2-deoxy-beta-d-glucopyranose; ZINC ION dan CHLORIDE ION, dan jumlah rantai pada reseptor ini yaitu lima (A,B,C,D,E). Hasil preparasi reseptor dapat dilihat pada gambar 5.4



Gambar 5.4 Hasil penyiapan struktur tiga dimensi reseptor (A) *Non Structural Protease-5* (7BQY) (B) *Non Structural Protease-5* (2GZ7) (C) *Angiotensin-converting enzyme 2* (3D0G) (D) *Angiotensin-converting enzyme 2* (1R4L) (PyMOL)

5.2.3 Penentuan *Grid Box Center* dan *Sizes*

Sebagian besar *docking tools* memerlukan wilayah pengikatan ligan (rotasi dan translasi ligan) terlebih dahulu untuk mencari energi yang paling

menguntungkan mode pengikatan. Wilayah pengikatan biasanya direpresentasikan sebagai kotak kubik, sehingga *sizes* dan *centernya* sangat penting untuk hasil *docking* yang akurat karena mendefinisikan batas-batas dari ruang sampel konformasi. Mayoritas aplikasi tidak diketahui wilayah pengikatannya. Untuk mengidentifikasi interaksi potensial antara reseptor dan ligan, *docking* harus dilakukan pada seluruh permukaan reseptor untuk menemukan mode pengikatan yang paling memungkinkan. Proses ini disebut *blind docking* (Hetényi dan Spoel, 2006; Hassan et al, 2017; Sánchez-Linares et al, 2012). Dibandingkan dengan *docking* biasa, *blind docking* kurang dapat diandalkan dan kurang stabil karena ruang *docking* yang terlalu besar. Namun, *blind docking* sangat penting untuk menemukan interaksi yang tak terduga yang mungkin akan terjadi (Iorga et al, 2006).

Dalam penelitian kali ini digunakan *blind docking tools* seperti CB-Dock, yang berfokus pada peningkatan akurasi *docking*. CB-Dock memprediksi daerah pengikatan reseptor, menghitung *center* dan *sizes* dengan pendekatan deteksi *cavity* berbasis *curvature* (Trott, 2009). Tes benchmark yang telah dilakukan menunjukkan *tools* ini memiliki tingkat keberhasilan ~70% untuk pose peringkat teratas *root mean squared deviation* (RMSD) dimana nilai yang dihasilkan $< 2 \text{ \AA}$ dalam struktur kristal sinar-X. Hasil ini lebih tinggi daripada metode *blind docking* tradisional (~40%) dan mengungguli alat *blind docking* populer lainnya. Server CB-Dock tersedia gratis di situs <http://cao.labshare.cn/cb-dock/> (Liu et al., 2019). Hasil penentuan *Center* dan *Sizes Grid Box* ditunjukkan pada Lampiran 1.

Berdasarkan Lampiran 1. didapatkan lima konformasi untuk setiap senyawa yang diuji. Hasil akhir berupa *binding scores*, *cavity sizes* dan parameter *docking* dari mode ikatan prediksi dalam bentuk tabel. Seleksi data pada tabel 5.6 dilakukan untuk kebutuhan *docking* manual dengan mengutamakan nilai *Vina* Score terbesar yang dihasilkan.

5.2.4 Validasi Reseptor

Proses validasi yang dilakukan dalam uji *in silico* ini yaitu dengan melakukan *re-docking native ligand* yang telah diunduh melalui situs *Protein Data Bank* <https://www.rcsb.org> dan ada beberapa *native ligand* yang dipreparasi menggunakan aplikasi Discovery Studio Visualizer. Validasi reseptor dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan menggunakan aplikasi PyRx-Vina. Tujuan dari proses validasi ini untuk memastikan metode yang digunakan tervalidasi dan didapatkan metode yang baik sehingga dapat dilanjutkan pada tahap penelitian berikutnya. Parameter yang diamati pada tahap ini yaitu nilai RMSD yang dihasilkan dari *re-docking native ligand* dengan proteinnya (Putri dkk, 2019).

RMSD adalah proses pengukuran dua pose dengan membandingkan posisi atom antara struktur eksperimental dengan struktur protein yang di docking (Lestari, 2015). Metode dikatakan valid dan baik apabila nilai RMSD yang dihasilkan $< 2 \text{ \AA}$ (Khelfaoui et al, 2020). Semakin kecil nilai RMSD maka semakin baik pose *ligand* yang diprediksi karena semakin mendekati konformasi *native ligand*. Namun, apabila semakin besar nilai RMSD atau berada diatas nilai syarat maka semakin besar kesalahan prediksi interaksi antara *ligand* dengan protein karena semakin besar perbedaan konformasi antara pose *ligand* yang

diprediksi dengan *native ligand* (Agistia dkk., 2013; Laksyani dkk., 2018). Hasil validasi docking dapat dilihat pada tabel 5.6.

PyRx-Vina menghasilkan dua jenis RMSD yaitu RMSD *lower* dan RMSD *Upper*. Namun yang dianalisis hanyalah nilai dari RMSD *lower*, dikarenakan RMSD *lower* didapatkan dari pencarian semua kemungkinan atom dalam molekul simetris (Bell dan Zhang, 2019). Artinya RMSD *lower* dihitung dari pendekatan konformasi *native ligand* dalam semua simetri, sedangkan RMSD *Upper* diketahui tidak memperhitungkan adanya simetri ligan tersebut. Menurut Meli dan Biggin (2020), atom yang tidak dapat dibedakan akan memberikan hasil yang benar dengan mengoreksi simetri. Sehingga nilai RMSD *lower* lebih tepat.

Tabel 5.6 Hasil validasi docking dari nilai RMSD

Reseptor	Native Ligand		RMSD Lower (Å)	RMSD Upper (Å)
7BQY	n-[(5-methylisoxazol-3-yl)carbonyl]alanyl-l-valyl-n~1~((1r,2z)-4-(benzyloxy)-4-oxo-1-[(3r)-2-oxopyrrolidin-3-yl]methyl}but-2-enyl)-l-leucinamide	Replikasi 1	1.768	3.625
		Replikasi 2	1.684	4.115
		Replikasi 3	1.801	2.668
		Rerata	1.751	3.469
2GZ7	2-[(2,4-dichloro-5-methylphenyl) sulfonyl]-1,3-dinitro-5-(trifluoromethyl) Benzene	Replikasi 1	0.175	3.005
		Replikasi 2	0.191	3.003
		Replikasi 3	0.189	2.843
		Rerata	0.185	2.95
3D0G	2-acetamido-2-deoxy-beta-D-glucopyranose	Replikasi 1	1.792	2.115
		Replikasi 2	1.868	2.269
		Replikasi 3	1.877	2.222
		Rerata	1.846	2.202
	2-acetamido-2-deoxy-alpha-D-glucopyranose	Replikasi 1	1.826	5.28
		Replikasi 2	1.883	5.219
		Replikasi 3	1.846	5.273
		Rerata	1.852	5.257
1R4L	(s,s)-2-{ 1-carboxy-2-[3-(3,5-dichloro-benzyl)-3h-imidazol-4-yl]-ethylamino}-4-methyl-pentanoic acid	Replikasi 1	1.954	2.807
		Replikasi 2	1.478	2.041
		Replikasi 3	0.635	1.989
		Rerata	1.356	2.279
	2-acetamido-2-deoxy-beta-d-glucopyranose	Replikasi 1	1.894	2.408
		Replikasi 2	1.624	2.03
		Replikasi 3	1.898	2.391
		Rerata	1.805	2.276

Tabel 5.6 didapatkan tiga data replikasi untuk setiap *native ligand* dengan reseptor yang berbeda, tiga data replikasi tersebut direrata. Nilai RMSD yang berbeda dimungkinkan molekul yang dianalisis simetris jadi potensi substrukturnya sesuai dengan posisi dalam molekul (tidak semua dengan posisi yang sama) (Bell dan Zhang, 2019). Reseptor 7BQY dengan nama *native ligand* n-[(5-methylisoxazol-3-yl)carbonyl]alanyl-l-valyl-n~1~--((1r,2z)-4-(benzyloxy)-4-oxo-1-[[3r)-2-oxopyrrolidin-3-yl]methyl}but-2-enyl)-l-leucinamide_ memperoleh nilai RMSD 1.751 Å. Reseptor 2GZ7 dengan *native ligand* 2-[(2,4-dichloro-5-methylphenyl)sulfonyl]-1,3-dinitro-5-(trifluoromethyl) Benzene memperoleh nilai RMSD 0.185 Å. Reseptor 3D0G dengan *native ligand* 2-acetamido-2-deoxy-beta-D-glucopyranose dan 2-acetamido-2-deoxy-alpha-D-glucopyranose, masing-masing memperoleh nilai RMSD 1.846 Å dan 1.852 Å. Reseptor 1R4L dengan *native ligand* (s,s)-2-{1-carboxy-2-[3-(3,5-dichloro-benzyl)-3h-imidazol-4-yl]-ethylamino}-4-methyl-pentanoic acid dan 2-acetamido-2-deoxy-beta-D-glucopyranose, masing-masing memperoleh nilai RMSD 1.356 Å dan 1.805 Å. Keenam *native ligand* tersebut memenuhi standar validasi dengan nilai RMSD < 2 Å, sehingga docking senyawa uji pada reseptor masing-masing dapat dilakukan.

5.2.5 Hasil Penambatan Ligand-Reseptor

Senyawa kemudian dilakukan penambatan terhadap reseptor menggunakan PyRx-Vina. PyRx-Vina dipilih karena tidak berbayar (gratis), mudah dioperasikan, akurat, memiliki tingkat error yang rendah dan hasilnya dapat dipercaya (Trott dan Olson, 2010). Metode Vina sendiri merupakan salah satu metode yang terdapat di program PyRx-Vina. Jika dibandingkan dengan program

gratis lainnya, Vina memiliki keunggulan dalam melakukan docking yang cepat dan akurat (Saputri et al, 2016). Tujuan metode molecular docking atau penambatan molekuler yaitu memprediksi model ikatan dari ligan yang diketahui aktif, pencarian ligan baru menggunakan *in silico screening* atau *virtual screening* dan memprediksi afinitas ikatan dari beberapa seri senyawa aktif (Leach et al., 2006).

Senyawa maupun reseptor yang telah dipreparasi kemudian diupload melalui aplikasi PyRx-Vina. Kemudian dilakukan seleksi senyawa maupun reseptor lalu diklik “Forward”. Selanjutnya dilakukan pengaturan *grid box* (*size* dan *center*) sesuai hasil dari aplikasi CB-Dock lalu diklik “Run Vina”, sehingga didapatkan nilai *binding affinity* beserta RMSDnya. Afinitas pengikatan adalah kekuatan interaksi antara dua atau lebih molekul yang terikat secara reversibel (Kastritis dan Bonvin, 2012). Menurut Adelina (2014), skor merupakan parameter kekuatan afinitas pengikatan ligan uji terhadap reseptor. Semakin stabil interaksi ligan-protein dicerminkan dengan semakin rendahnya skor (minus). Semakin stabil ikatan ligan dengan reseptor maka dapat diprediksik bahwa aktivitasnya juga semakin besar (Hardjono, 2012).

5.2.5.1 Hasil Docking Senyawa Terhadap Reseptor 7BQY

Hasil *docking* senyawa Nitazoxanide dan senyawa pembanding Lopinavir terhadap reseptor 7BQY dengan menggunakan aplikasi PyRx-Vina ditunjukkan pada tabel 5.7

Tabel 5.7 Hasil *docking* senyawa Nitazoxanide, Lopinavir dan *native ligand* terhadap reseptor 7BQY

Senyawa		Afinita (kcal/mol)	Center			Size (x*y*z)
			X	y	z	
Nitazoxanide	Replikasi 1	-5.7	-6	2	9.3	21*21*21
	Replikasi 2	-5.7	-6	2	10.8	
	Replikasi 3	-5.7	-6	2	9.1	
	Rerata (kcal/mol)	-5.7	-6	2	9.7	
Lopinavir (Senyawa Pembanding)	Replikasi 1	-5.7	9	3	8.5	26*26*26
	Replikasi 2	-5.6	9	3	11.1	
	Replikasi 3	-5.6	9	3	7.9	
	Rerata (kcal/mol)	-5.633	9	3	9.2	
n-[(5-methylisoxazol-3-yl)carbonyl]alanyl-l-valyl-n-1-((1r,2z)-4-(benzyloxy)-4-oxo-1-[(3r)-2-oxopyrrolidin-3-yl]methyl}but-2-enyl)-l-leucinamide (native ligand)	Replikasi 1	-5.7	9	3	1.4	29*29*29
	Replikasi 2	-5.4	9	3	7.4	
	Replikasi 3	-5.3	9	3	8	
	Rerata (kcal/mol)	-5.467	9	3	5.6	

Dari tabel 5.7 didapatkan tiga data replikasi, ketiga data replikasi tersebut kemudian direrata. Lopinavir dan *native ligand* memiliki data replikasi *binding affinity* yang berbeda, perbedaan ini diprediksi karena adanya perbedaan pengikatan ligan dengan asam amino pada reseptor (Frimayanti, 2021). Nitazoxanide memperoleh nilai *binding affinity* sebesar -5.7 kcal/mol, Lopinavir sebesar -5.633 kcal/mol dan *native ligand* sebesar -5.467 kcal/mol. Dari nilai tersebut diketahui Nitazoxanide memiliki nilai *binding affinity* paling baik,

sehingga senyawa tersebut lebih efektif (sebagai obat) dan mampu menghambat proses replikasi virus SARS-CoV-2 lebih baik.

5.2.5.2 Hasil Docking Senyawa Terhadap Reseptor 2GZ7

Hasil *docking* senyawa Nitazoxanide, senyawa pembanding Lopinavir dan *native ligand* terhadap reseptor 2GZ7 dengan menggunakan aplikasi PyRx-Vina ditunjukkan pada tabel 5.8

Tabel 5.8 Hasil *docking* senyawa Nitazoxanide, Lopinavir dan *native ligand* terhadap reseptor 2GZ7

Senyawa		Afinitas (kcal/mol)	Center			Size (x*y*z)
			X	y	z	
Nitazoxanide	Replikasi 1	-6.7	-1	-37	13.2	21*21* 21
	Replikasi 2	-6.8	-1	-37	17	
	Replikasi 3	-6.5	-1	-37.1	13.1	
	Rerata (kcal/mol)	-6.667	-1	37	14.4	
Lopinavir (Senyawa Pembanding)	Replikasi 1	-7.9	-1	-37	15.8	26*26* 26
	Replikasi 2	-7.7	-1	-37	10.5	
	Replikasi 3	-7.8	-1	-37	18.6	
	Rerata (kcal/mol)	-7.8	-1	-37	15	
2-[(2,4- dichloro-5- methylphenyl) sulfonyl]-1,3- dinitro-5- (trifluoromethy l) Benzene (native ligand)	Replikasi 1	-5.6	-23	-40	13.8	21*21* 21
	Replikasi 2	-5.6	-23	-40	14.2	
	Replikasi 3	-5.6	-23.1	-40.1	14.4	
	Rerata (kcal/mol)	-5.6	-23	-40	14.1	

Dari tabel 5.8 didapatkan tiga data replikasi untuk setiap senyawa, ketiga data replikasi tersebut kemudian direrata. Nitazoxanide dan Lopinavir memiliki data replikasi *binding affinity* yang berbeda, perbedaan ini diprediksi karena adanya perbedaan pengikatan ligan dengan asam amino pada reseptor (Frimayanti, 2021). Nitazoxanide memperoleh nilai *binding affinity* sebesar -6.667 kcal/mol, Lopinavir sebesar -7.8 kcal/mol dan *native ligand* sebesar -5.6 kcal/mol. Dari nilai tersebut diketahui Lopinavir memiliki nilai *binding affinity* paling baik, sehingga senyawa pembanding tersebut lebih efektif (sebagai obat) dan mampu menghambat proses replikasi virus SARS-CoV-2 lebih baik. Namun, Nitazoxanide memiliki nilai *binding affinity* lebih baik daripada *native ligand*.

5.2.5.3 Hasil Docking Senyawa Terhadap Reseptor 3D0G

Hasil *docking* senyawa Arbidol, senyawa pembanding Chloroquine dan *native ligand* terhadap reseptor 3D0G dengan menggunakan aplikasi PyRx-Vina ditunjukkan pada tabel 5.9

Tabel 5.9 Hasil *docking* senyawa Arbidol, Chloroquine dan *native ligand* terhadap reseptor 3D0G

Senyawa		Afinitas (kcal/mol)	Center			Size (x*y*z)
			X	y	z	
Arbidol	Replikasi 1	-6.8	19	39	69.1	22*22*2 2
	Replikasi 2	-6.5	19	39.1	67.4	
	Replikasi 3	-6.4	19.1	39	68.7	
	Rerata (kcal/mol)	-6.567	19	39	68.4	
Chloroquine (Senyawa Pembanding)	Replikasi 1	-4.0	47	-11	79.4	24*24*2 4
	Replikasi 2	-4.2	47	-11	73	
	Replikasi 3	-4.1	47.1	-11.1	80.3	
	Rerata (kcal/mol)	-4.1	47	-11	77.6	
2-acetamido-2- deoxy-beta-D- glucopyranose (native ligand)	Replikasi 1	-3.3	61	17	68	18*32*1 8
	Replikasi 2	-3.4	61	17	68	
	Replikasi 3	-3.4	61	17	68.6	
	Rerata (kcal/mol)	-3.367	61	17	68.2	
2-acetamido-2- deoxy-alpha- D- glucopyranose (native ligand)	Replikasi 1	-5.4	19	39	76.5	18*18*1 8
	Replikasi 2	-5.2	19	39	76.1	
	Replikasi 3	-5.3	19	39	76.6	
	Rerata	-5.3	19	39	76.4	

Dari tabel 5.9 didapatkan tiga data replikasi untuk setiap senyawa, ketiga data replikasi tersebut kemudian direrata. Setiap senyawa memiliki data replikasi *binding affinity* yang berbeda, hal itu diprediksi karena adanya perbedaan pengikatan ligan dengan asam amino pada reseptor (Frimayanti, 2021). Arbidol memperoleh nilai *binding affinity* sebesar -6.567 kcal/mol, Chloroquine sebesar -4.1 kcal/mol, *native ligand* pertama sebesar -3.367 kcal/mol dan *native ligand*

kedua sebesar -5.3 kcal/mol. Dari nilai tersebut diketahui Arbidol memiliki nilai *binding affinity* paling baik, sehingga senyawa tersebut lebih efektif (sebagai obat) dan mampu menghambat perlekatan virus ke reseptor ACE2 lebih baik. Sementara itu, *native ligand* kedua diketahui memiliki nilai *binding affinity* yang lebih baik daripada *native ligand* pertama.

5.2.5.4 Hasil Docking Senyawa Terhadap Reseptor 1R4L

Hasil *docking* senyawa Arbidol, senyawa pembanding Chloroquine dan *native ligand* terhadap reseptor 1R4L dengan menggunakan aplikasi PyRx-Vina ditunjukkan pada tabel 5.10

Tabel 5.10 Hasil *docking* senyawa Arbidol, senyawa pembanding Chloroquine dan *native ligand* terhadap reseptor 1R4L

Senyawa		Afinitas (kcal/mol)	Center			Size (x*y*z)
			x	y	z	
Arbidol	Replikasi 1	-8.1	46	5	28.1	35*22*3 5
	Replikasi 2	-8.1	46	5	28.1	
	Replikasi 3	-8.1	46	5	28.1	
	Rerata (kcal/mol)	-8.1	46	5	28.1	
Chloroquine (Senyawa Pembanding)	Replikasi 1	-6.6	46	5	20.2	35*24*3 5
	Replikasi 2	-6.6	46	5	19.9	
	Replikasi 3	-6.8	46	5	16.1	
	Rerata (kcal/mol)	-6.667	46	5	18.7	
(s,s)-2-{1- carboxy-2-[3- (3,5-dichloro- benzyl)-3h- imidazol-4-yl]- ethylamino}-4- methyl-pentanoic acid (native ligand)	Replikasi 1	-9.1	46	2	27.3	35*23*3 5
	Replikasi 2	-9.2	46	2	25.1	
	Replikasi 3	-9.2	46	2	27.7	
	Rerata (kcal/mol)	-9.167	46	2	26.7	
2-acetamido-2- deoxy-beta-d- glucopyranose (native ligand)	Replikasi 1	-6.2	46	5	27.1	35*18*3 5
	Replikasi 2	-6.3	46	5	27.3	
	Replikasi 3	-6.3	46	5	27.4	
	Rerata (kcal/mol)	-6.267	46	5	27.3	

Dari tabel 5.10 didapatkan tiga data replikasi untuk setiap senyawa, ketiga data replikasi tersebut kemudian direrata. Chloroquine dan *native ligand* memiliki data replikasi *binding affinity* yang berbeda, perbedaan ini diprediksi karena adanya

perbedaan pengikatan ligan dengan asam amino pada reseptor (Frimayanti, 2021). Arbidol memperoleh nilai *binding affinity* sebesar -8.1 kcal/mol, Chloroquine sebesar -6.667 kcal/mol, *native ligand* pertama sebesar -9.167 kcal/mol dan *native ligand* kedua sebesar -6.267 kcal/mol. Dari nilai tersebut diketahui *native ligand* pertama dengan nama (s,s)-2-{1-carboxy-2-[3-(3,5-dichloro-benzyl)-3h-imidazol-4-yl]-ethylamino}-4-methyl-pentanoic acid memiliki nilai *binding affinity* paling baik, sehingga senyawa tersebut lebih efektif (sebagai obat) dan mampu menghambat perlekatan virus ke reseptor ACE2 lebih baik. Namun, Arbidol memiliki nilai *binding affinity* lebih baik daripada senyawa pembanding Chloroquine.

5.3 Penentuan Interaksi Ligan dengan Asam Amino

Ikatan hidrogen adalah ikatan yang terjadi antara atom hydrogen (H) pada molekul yang satu dengan salah satu unsur atom (F, O, N) pada molekul lainnya yang merupakan gaya dipol-dipol paling kuat (Effendy, 2006). Dalam sistem biologis, atom nitrogen atau oksigen merupakan donor serta akseptor, khususnya atom dalam gugus amina (-NH₂) dan hidroksil (-OH). Karena bersifat polar antara ikatan N-H dan O-H, atom H-nya dapat berikatan hydrogen dengan atom akseptor (Lodish et al, 2000). Ikatan hydrogen akan stabil dan memiliki ikatan yang kuat apabila memiliki panjang ikatan $< 2.7 \text{ \AA}$ (Chairunnisa dan Runadi, 2016). Semakin kecil jarak ikatan hydrogen antara ligan dengan gugus asam maka nilai afinitasnya semakin besar (Qoonita dan Daryono, 2012). Semakin kecil jarak

ikatan maka ikatan semakin kuat dan tidak mudah terlepas begitupun dengan sebaliknya (Rachmania dkk, 2018).

Ikatan hidrofobik merupakan molekul nonpolar tidak mengandung ion yang terhidrasi atau memiliki momen dipol. Karena dalam air molekul tersebut tidak larut atau hampir tidak larut (Lodish et al, 2000). Ikatan ini penting pada proses penggabungan daerah non polar ligan dengan daerah non polar reseptor. Daerah non polar molekul yang tidak larut air dan molekul air yang berada disekelilingnya akan bergabung melalui ikatan hydrogen membentuk struktur *quasi-crystalline (icebergs)* (Siswandono, 2016). Ikatan hidrofobik merupakan parameter dari kuatnya interaksi asam amino antara ligan dengan reseptor yang berguna dalam membantu mempertahankan konformasi pengikatan (Chairunnisa dan Runadi, 2016).

Ikatan elektrostatik menggambarkan gaya antara atom polar dan biasanya diwakili oleh potensial Coulomb. Umumnya terdapat dua pendekatan fungsi penilaian untuk interaksi ikatan hidrogen: (i) dengan menggunakan parameter berbasis medan gaya spesifik yang terkait dengan van der Waals dan potensi energi elektrostatik; (ii) dengan menggunakan suku arah, di mana kontribusi ikatan hidrogen merupakan fungsi dari deviasi parameter geometri dari ikatan hidrogen ideal (Guedes et al, 2018).

Allah SWT. Telah menciptakan hamparan yang luas di atas bumi. Seperti yang dinyatakan dalam Al-Qur'an surat An-Naba' ayat 6, yaitu:

أَلَمْ نَجْعَلِ الْأَرْضَ مِهْدًا ۖ

Artinya: “*Bukankah Kami telah menjadikan bumi itu sebagai hamparan?*”

Dan dalam Al-Qur’an surat An-Naba’ ayat 8, yaitu:

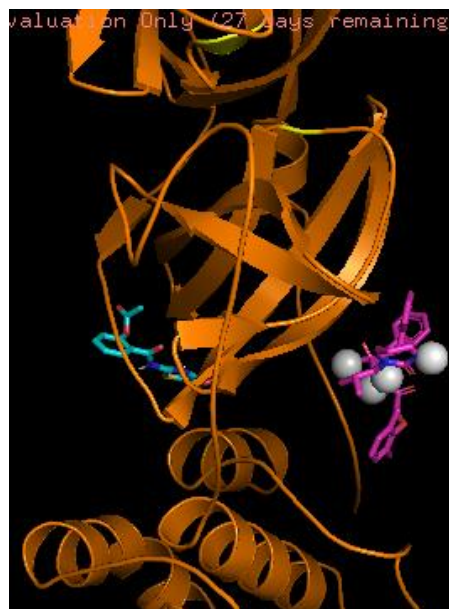
وَحَلَقْنٰكُمْ اَزْوَاجًا ۙ ۸

Artinya: “*dan Kami jadikan kamu berpasang-pasangan*”

Menurut Tafsir Ilmiah Salman, ayat (6) berbicara mengenai penghamparan atau pengayunan bumi. Secara biologis dapat ditafsirkan sebagai kemunculan atau perkembangan kehidupan di muka bumi ini. Penghamparan merupakan proses yang terus-menerus terjadi dan berlangsung sampai sekarang. Kejadian penghamparan bumi dikaitkan dengan ayat (8), dimana Allah SWT. Senantiasa menghadirkan system yang berpasangan. Tidak hanya mengenai jantan dan betina, tetapi juga wujud mikroskopik bahkan subatomic yang tidak tampak oleh mata. Sistem yang bekerja pada tingkat mikroskopik ataupun subatomic merupakan fenomena yang berlawanan. Di sisi lain, kedua system tersebut dapat saling melengkapi. Tanpa adanya dua sistem ini, sistem makroskopik tidak akan mungkin bekerja. Allah rupanya begitu bangga dengan ciptaan-Nya, sehingga manusia didorong untuk memerhatikan ciptaan-Nya dengan cermat dan teliti (Tim Tafsir Ilmiah Salman ITB, 2014). Dengan adanya hasil interaksi asam amino pada penelitian ini, maka dapat diketahui seberapa efektif senyawa tersebut sebagai obat. Dan ketika dikonsumsi, sistem makroskopik seperti ADME oleh tubuh dapat bekerja secara maksimal.

5.3.1 Interaksi Residu Asam Amino 7BQY

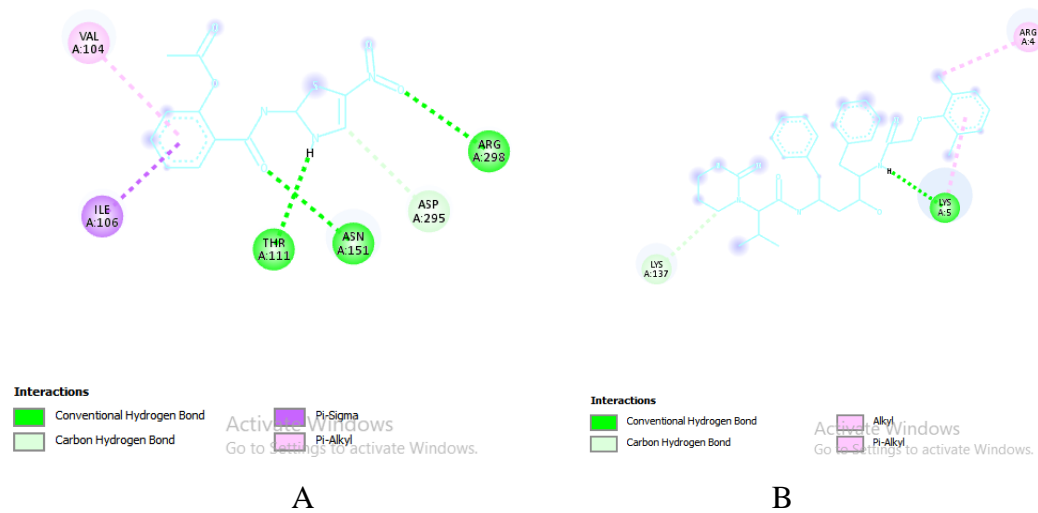
Reseptor 7BQY terdiri dari 306 residu asam amino. Berdasarkan data dari situs <https://www.rcsb.org/sequence/7BQY>, residu yang terlibat dalam pembentukan ikatan kovalen adalah Cys145, sedangkan yang terlibat dalam pembentukan *active site* adalah His41 dan Cys145. Residu yang terlibat dalam pembentukan *binding site* adalah Thr26, Leu27, Phe140, Met142, Gly143, Cys145, His163, His164, Glu166, His172.



Gambar 5.5 Bentuk tiga dimensi antara Nitazoxanide (warna cyan) dan Lopinavir (warna ungu) dengan reseptor 7BQY, tercantumkan juga *active site* His41 dan Cys145 (warna kuning) (PyMOL)

Gambar 5.5 terlihat bahwa pose validasi antara ligan dengan senyawa pembanding menunjukkan bahwa struktur dua molekul tidak memiliki kemiripan posisi dan sudut dari setiap atomnya. Kemiripan pose ligan dengan senyawa pembanding dapat dipengaruhi dari nilai RMSD, dimana nilai RMSD yang mendekati nol akan

menyebabkan kemiripan pose antara keduanya (Rachmania dkk, 2018), sedangkan diketahui nilai RMSD Nitazoxanide 1.709 Å dan Lopinavir 1.735 Å.



Gambar 5.6 Bentuk dua dimensi antara (A) Nitazoxanide (B) Lopinavir dengan reseptor 7BQY (Discovery Studio Visualizer)

Gambar 5.6 menunjukkan garis-garis putus, garis putus-putus tersebut merupakan jarak ikatan (Rachmania dkk, 2018). Ikatan hydrogen ditandai dengan garis putus-putus berwarna hijau lime dan hijau telur asin serta interaksi hidrofobik ditandai dengan garis putus-putus berwarna ungu dan *pink*.

Tabel 5.11 Asam amino dan gugus fungsi yang terlibat dalam ikatan hydrogen dan interaksi sterik pada reseptor 7BQY

Senyawa	Ikatan hydrogen			Interaksi Hidrofobik	
	Asam	Jarak (Å)	Gugus Asam	Asam	Jarak (Å)
Nitazoxanide	Asn 151 (A)	3.21303	ND2-O2	Ile 106 (A)	3.91657
	Arg 298 (A)	3.38122	NH1-O5	Val 104 (A)	5.13723
	Thr 111 (A)	2.47093	H2-O		
	Nti 0 (A)	2.52859	H2-O2		
	Asp 295 (A)	3.26714	C10-OD1		
Lopinavir	Ab 1201 (A)	2.89806	H3-O1	Ab 1201 (A)	5.15928
	Lys 5 (A)	2.11135	H4-O	Arg 4 (A)	4.35798
	Lys 137 (A)	3.41359	C2-O	Lys 5 (A)	4.13671

Dari tabel 5.11 diketahui masing-masing senyawa memiliki ikatan yang kuat ($< 2.7 \text{ \AA}$). Namun, Nitazoxanide memiliki ikatan yang lebih kuat dikarenakan terdapat dua ikatan yang memenuhi syarat yaitu Thr 111 dengan jarak 2.47093 \AA dan Nti 0 dengan jarak 2.52859 \AA , sedangkan senyawa pembanding Lopinavir hanya memiliki satu ikatan yang memenuhi syarat yaitu Lys 5 dengan jarak 2.11135 \AA . Nitazoxanide juga lebih stabil didukung oleh adanya ikatan hydrogen dengan asam amino Asn 151, Arg 298, Thr 111, Nti 0 dan Asp 295; dan interaksi hidrofobik dengan asam amino Ile 106 dan Val 104. Sedangkan senyawa pembanding Lopinavir hanya memiliki tiga ikatan hydrogen dengan asam amino Ab 1201, Lys 5 dan Lys 137; dan interaksi hidrofobik dengan asam amino Ab 1201, Arg 4 dan Lys 5.

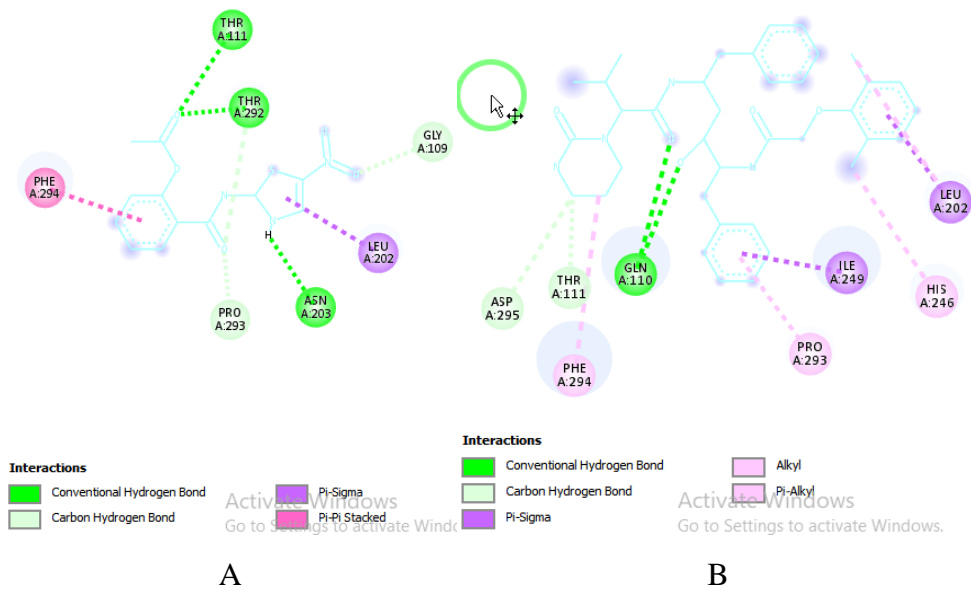
5.3.2 Interaksi Residu Asam Amino 2GZ7

Beberapa residu 2GZ7 membentuk dua ikatan hidrogen dengan His41 dan Gln192 dan empat interaksi hidrofobik dengan Glu166, Asp187, His164, dan Arg188 (Joshi et al., 2020). Berdasarkan data dari situs <https://www.rcsb.org/sequence/2GZ7>, residu dalam pembentukan *active site* adalah His41 dan Cys145. Residu yang terlibat dalam pembentukan *binding site* adalah Leu27, Arg39, His41, Cys145, 165, Glu166, Arg188, Thr190 dan Ala 192



Gambar 5.7 Bentuk tiga dimensi antara Nitazoxanide (warna cyan) dan Lopinavir (warna ungu) dengan reseptor 2GZ7 (warna orange), tercantumkan juga *active site* His41 dan Cys145 (warna kuning) (PyMOL)

Gambar 5.7 menunjukkan Nitazoxanide memiliki posisi penambatan yang sama dengan senyawa pembanding Lopinavir.



Gambar 5.8 Bentuk dua dimensi antara Nitazoxanide dan Lopinavir dengan reseptor 2GZ7 (Discovery Studio Visualizer)

Gambar 5.8 menunjukkan garis-garis putus, garis putus-putus tersebut merupakan jarak ikatan (Rachmania dkk, 2018). Ikatan hydrogen ditandai dengan garis putus-putus berwarna hijau lime dan hijau telur asin serta interaksi hidrofobik ditandai dengan garis putus-putus berwarna ungu, *neon pink* dan *pink*.

Tabel 5.12 Asam amino dan gugus fungsi yang terlibat dalam ikatan hydrogen dan interaksi sterik pada reseptor 2GZ7

Senyawa	Ikatan hydrogen			Interaksi Hidrofobik	
	Asam	Jarak (Å)	Gugus Asam	Asam	Jarak (Å)
Nitazoxanide	Thr 111 (A)*	2.84502	<i>OG1-O3</i>	Leu 202 (A)*	3.82952
	Thr 292 (A)	3.14354	<i>OG1-O3</i>	Phe 294 (A)*	5.0055
	Asn 203 (A)	2.60342	<i>H2-OD1</i>		
	Gly 109 (A)	3.69529	<i>CA-O5</i>		
	Thr 292 (A)	3.38273	<i>CB-O2</i>		
	Pro 293 (A)	3.1118	<i>CD-O2</i>		
Lopinavir	Gln 110 (A)	3.20259	<i>NE2-O2</i>	Leu 202 (A)	3.85024
	Gln 110 (A)	2.98881	<i>NE2-O4</i>	Ile 249 (A)	3.80748
	Thr 111 (A)	3.43257	<i>C1-OG1</i>	Ab 1201 (A)	4.08777
	Asp 295 (A)	3.69638	<i>C1-OD1</i>	Leu 202 (A)	4.97122
				His 246 (A)	4.87958
				Phe 294 (A)	5.45421
				Pro 293 (A)	5.23769

Keterangan:

* : asam amino mirip dengan senyawa pembanding

Dari tabel 5.12 diketahui hanya senyawa Nitazoxanide yang memiliki ikatan yang kuat ($< 2.7 \text{ \AA}$), yaitu asam Asn 203 memiliki jarak 2.60342 \AA . Namun, Lopinavir lebih stabil didukung oleh adanya ikatan hydrogen dengan asam amino Gln 110 (2), Thr 111 dan Asp 295; dan interaksi hidrofobik dengan asam amino Leu 202 (2), Ile 249, Ab 1201, His 246, Phe 294 dan Pro 293. Sedangkan Nitazoxanide memiliki ikatan hydrogen dengan asam amino Thr 111, Thr 292 (2), Asn 203, Gly 109 dan Pro 293; dan hanya memiliki dua interaksi hidrofobik dengan asam

amino Leu 202 dan Phe 294. Dari tabel 5.12 diketahui juga senyawa Nitazoxanide memiliki interaksi yang mirip dengan senyawa pembanding Lopinavir pada protein SARS-CoV-2, walaupun hanya beberapa asam amino yang sama. Interaksi yang sama yaitu Thr 111 pada ikatan hydrogen serta Leu 202 dan Phe 294 pada interaksi hidrofobik. Interaksi yang sama menunjukkan senyawa-senyawa tersebut berada di situs yang sama pada protein SARS-CoV-2 sehingga dapat diprediksi senyawa Nitazoxanide memiliki aktivitas penghambatan replikasi virus SARS-CoV-2.

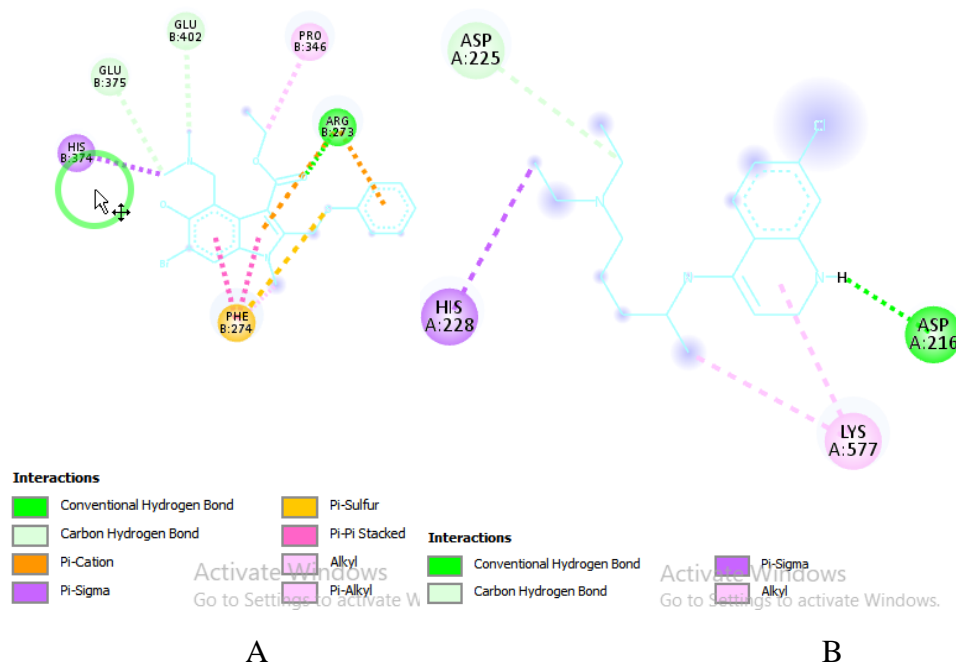
5.3.3 Interaksi Residu Asam Amino 3D0G

Berdasarkan data dari situs <https://www.rcsb.org/sequence/3D0G>, residu yang terlibat dalam pembentukan *active site* adalah Arg357 dan Val487. Residu yang terlibat dalam pembentukan *binding site* adalah Ile151, Tyr255, Trp459, Val463 dan Tyr497.



Gambar 5.9 Bentuk tiga dimensi antara Arbidol (warna cyan) dan Chloroquine (warna ungu) dengan reseptor 3D0G (warna orange), tercantumkan juga *active site* Arg357 dan Val487 (kuning) (PyMOL)

Gambar 5.9 terlihat bahwa pose validasi antara ligan dengan senyawa pembanding menunjukkan bahwa struktur dua molekul tidak memiliki kemiripan posisi dan sudut dari setiap atomnya. Kemiripan pose ligan dengan senyawa pembanding dapat dipengaruhi dari nilai RMSD, dimana nilai RMSD yang mendekati nol akan menyebabkan kemiripan pose antara keduanya (Rachmania dkk, 2018), sedangkan diketahui nilai RMSD Arbidol 1.597 Å dan Chloroquine 1.037 Å.



Gambar 5.10 Bentuk dua dimensi antara (A) Arbidol (B) Chloroquine dengan reseptor 3D0G (Discovery Studio Visualizer)

Gambar 5.10 menunjukkan garis-garis putus, garis putus-putus tersebut merupakan jarak ikatan (Rachmania dkk, 2018). Ikatan hydrogen ditandai dengan garis putus-putus berwarna hijau lime dan hijau telur asin; interaksi elektrostatik ditandai dengan garis putus-putus berwarna orange serta interaksi hidrofobik ditandai dengan garis putus-putus berwarna ungu, *neon pink* dan *pink*.

Tabel 5.13 Asam amino dan gugus fungsi yang terlibat dalam ikatan hydrogen dan interaksi sterik pada reseptor 3D0G

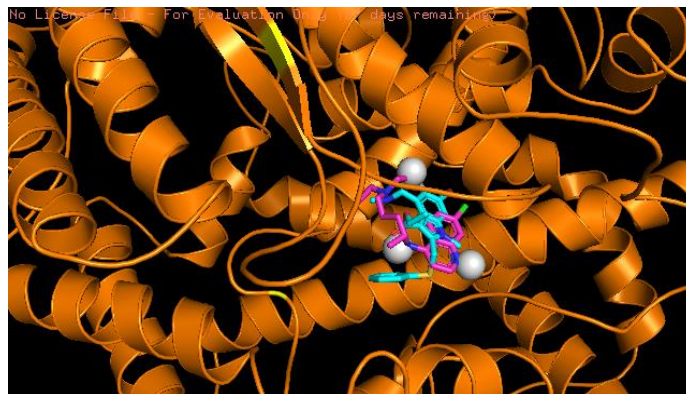
Senyawa	Ikatan hydrogen			Interaksi Sterik		
	Asam	Jarak (Å)	Gugus Asam	Kategori	Asam	Jarak (Å)
Arbidol	Arg 273 (B)	2.8765	NH2-O3	Elektrostatik	Arg 273 (B)	4.63511
	Glu 375 (B)	3.7706	C33-OE2		Arg 273 (B)	4.13873
	Glu 402 (B)	3.55375	C34-OE2	Hidrofobik	His 374 (B)	3.66528
					Phe 274 (B)	4.59223
Phe 274 (B)	4.76937					
				Pro 346 (B)	4.3481	
				Phe 274 (B)	4.3481	
				Lainnya	Phe 274 (B)	5.13586
Chloroquine	Asp 216 (A)	1.89368	HI-O	Hidrofobik	His 228 (A)	3.89033
	Asp 225 (A)	3.5361	C16-OD1		Lys 577 (A)	5.13725
					Lys 577 (A)	4.09821

Dari tabel 5.13 diketahui hanya senyawa Chloroquine yang memiliki ikatan yang kuat ($< 2.7 \text{ \AA}$), yaitu asam Asp 216 memiliki jarak 1.89368 \AA . Namun, Arbidol lebih stabil didukung oleh adanya ikatan hydrogen dengan asam amino Arg 273, Glu 375 dan Glu 402; interaksi hidrofobik dengan asam amino His 374, Phe 274

(3) dan Pro 346; dan interaksi elektrostatik dengan asam amino Arg 273 (2). Sedangkan Chloroquine hanya memiliki dua ikatan hydrogen dengan asam amino Asp 216 dan Asp 225; dan hanya memiliki tiga interaksi hidrofobik dengan asam amino His 228 dan Lys 577 (2).

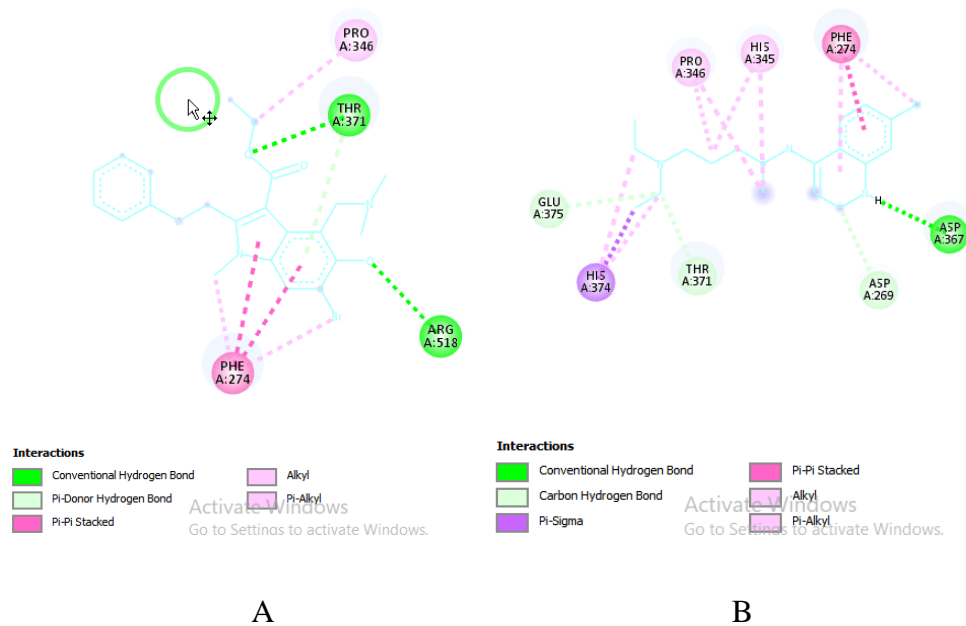
5.3.4 Interaksi Residu Asam Amino 1R4L

Berdasarkan data dari situs <https://www.rcsb.org/sequence/1R4L>, residu yang terlibat dalam pembentukan ikatan kovalen adalah Asn90 dan Asn103, sedangkan yang terlibat dalam pembentukan *active site* adalah Arg357 dan His505. Residu yang terlibat dalam pembentukan *binding site* adalah Arg169, Arg273, Trp477, Lys481 dan Tyr515.



Gambar 5.11 Bentuk tiga dimensi antara Arbidol (warna cyan) dan Chloroquine (warna ungu) dengan reseptor 1R4L (warna orange), tercantumkan juga *active site* Arg357 dan His505 (kuning) (PyMOL)

Gambar 5.11 menunjukkan Arbidol memiliki posisi penambatan yang sama dengan senyawa pembanding Chloroquine.



Gambar 5.12 Bentuk dua dimensi antara (A) Arbidol (B) Chloroquine dengan reseptor 1R4L (Discovery Studio Visualizer)

Gambar 5.12 menunjukkan garis-garis putus, garis putus-putus tersebut merupakan jarak ikatan (Rachmania dkk, 2018). Ikatan hydrogen ditandai dengan garis putus-putus berwarna hijau lime dan hijau telur asin serta interaksi hidrofobik ditandai dengan garis putus-putus berwarna ungu, *neon pink* dan *pink*.

Tabel 5.14 Asam amino dan gugus fungsi yang terlibat dalam ikatan hydrogen dan interaksi sterik pada reseptor 1R4L

Senyawa	Ikatan hydrogen			Interaksi Hidrofobik	
	Asam	Jarak (Å)	Gugus Asam	Asam	Jarak (Å)
Arbidol	Thr 371 (A)*	3.18579	<i>OG1-O27</i>	Phe 274 (A)*	4.24351
	Arg 518 (A)	2.80213	<i>NHI-O35</i>	Phe 274 (A)*	4.39356
	Thr 371 (A)*	3.90914		Pro 346 (A)*	3.94344
				Phe 274 (A)*	4.02903
				Phe 274 (A)*	4.94213
Chloroquine	Asp 367 (A)	2.93796	<i>HI-OD1</i>	His 374 (A)	3.80296
	Asp 269 (A)	3.69768	<i>CI-OD1</i>	Phe 274 (A)	3.71043
	Thr 371 (A)	3.71119	<i>C14-OG1</i>	Pro 346 (A)	3.83623
	Glu 375 (A)	3.76381	<i>C14-OE2</i>	Pro 346 (A)	4.3453
				Phe 274 (A)	4.59954
				Phe 274 (A)	4.54798

Keterangan:

* : asam amino mirip dengan senyawa pembanding

Dari tabel 5.14 diketahui kedua senyawa tidak memiliki ikatan yang kuat (< 2.7 Å). Namun, Chloroquine lebih stabil didukung oleh adanya ikatan hydrogen dengan asam amino Asp 367, Asp 269, Thr 371 dan Glu 375; dan interaksi hidrofobik dengan asam amino His 374, Phe 274 (3) dan Pro 346 (2). Sedangkan Arbidol hanya memiliki tiga ikatan hydrogen dengan asam amino Thr 371 (2) dan Arg 518; dan hanya memiliki lima interaksi hidrofobik dengan asam amino Phe 274 (4) dan Pro 346. Dari tabel 5.14 diketahui juga senyawa Arbidol memiliki interaksi yang mirip dengan senyawa pembanding Chloroquine pada protein

SARS-CoV-2, ini terbukti dari hampir semua asam amino yang dimiliki Arbidol sama dengan asam amino Chloroquine. Interaksi yang sama yaitu Thr 371 pada ikatan hydrogen serta Phe 274 dan Pro 346 pada interaksi hidrofobik. Interaksi yang sama menunjukkan senyawa-senyawa tersebut berada di situs yang sama pada protein SARS-CoV-2 sehingga dapat diprediksi senyawa Arbidol memiliki aktivitas penghambatan *perlekatan virus SARS-CoV-2 ke reseptor ACE2*.

5.4 Perbandingan interaksi ligan dengan senyawa pembanding dengan Uji-T Independen

Senyawa kemudian dilakukan analisis hasil menggunakan SPSS 25.0 *for windows*. Perangkat lunak statistik ini melakukan uji statistik perbandingan dan korelasional dalam analisis univariat, bivariat, dan multivariat untuk teknik statistik parametrik dan non-parametrik (Ong, 2017). Analisa hasil dilakukan dengan membandingkan nilai afinitas senyawa uji (*tested*) dengan senyawa pembanding (*control*). Dengan menggunakan nilai *binding affinity* yang telah dilakukan replikasi sebanyak tiga kali sehingga data dapat dianalisa uji statistika menggunakan Uji-T Independen.

Sebelum analisa hasil dengan uji-t independen, dilakukan uji prasyarat seperti uji normalitas dan homogenitas. Tujuan dilakukannya uji normalitas yaitu untuk mengetahui variabel data terdistribusi normal atau tidak, sedangkan uji homogenitas dilakukan untuk mengetahui kedua kelompok tersebut bersifat sama atau tidak (Latifah dan Priambodo, 2021). Kriteria uji normalitas yaitu jika

signifikansi yang diperoleh >0.05 , maka data berdistribusi normal. Apabila signifikansi yang diperoleh <0.05 , maka data tidak berdistribusi normal (Marliani, 2017). Nilai signifikansi uji normalitas didapat dengan cara mengklik *Analyze>Descriptive Statistic>Explore* lalu pada pilihan *Plots* dipilih *Normally plots with test*. Kriteria pada uji homogenitas jika signifikansi yang diperoleh >0.05 , maka kedua variansi sama (homogen). Sedangkan jika signifikansi yang diperoleh <0.05 , maka kedua variansi berbeda (Marliani, 2017). Nilai signifikan tersebut diperoleh dengan mengklik *Compare Means* lalu *One-Way Anova*, pada pilihan *Options* dipilih *Homogeneity of variance test*. Berdasarkan penelitian Marliana (2017), apabila hasil uji normalitas dan homogenitas menunjukkan data berdistribusi normal dan homogen, maka dapat dilanjutkan ke uji-t independen.

Uji-T Independen merupakan suatu metode uji statistik parametrik yang digunakan untuk menganalisis perbandingan dua sampel yang tidak berpasangan. Analisa uji-t independen dengan melihat nilai Sig. (*2-tailed*) (Apriyono, 2013). Nilai tersebut diperoleh dengan mengklik *Compare Means* lalu *Independent-Samples T Test* dan pada pilihan *Define Group*, *Group 1* diisi 1 (kode senyawa uji) dan *Group 2* diisi 2 (kode senyawa pembanding). Sebelum dilakukan uji-t independen terlebih dahulu menguji asumsi apakah *variance* populasi kedua sampel sama (*equal variance assumed*) atau berbeda (*equal variance assumed*) dengan melihat nilai *levene test* (Ghozali, 2011). Nilai *levene test* lebih tepatnya terdapat pada kolom Sig. Nilai signifikan yang lebih dari 0.05 maka *variance* sama, sehingga uji-t independen menggunakan nilai Sig. (*2-tailed*) pada baris *equal variance assumed*. Nilai signifikan yang kurang dari 0.05 maka *variance*

berbeda, sehingga uji-t independen menggunakan nilai Sig. (*2-tailed*) pada baris *equal variances not assumed* (Apriyono, 2013). Nilai Signifikan (*2-tailed*) yang lebih dari 0.05 mengartikan tidak terdapatnya perbedaan nyata antara senyawa uji (kelas eksperimen) dengan senyawa pembanding (kelas kontrol) maka H_0 ditolak, sedangkan nilai Signifikan (*2-tailed*) yang kurang dari 0.05 mengartikan terdapatnya perbedaan nyata antara senyawa uji (kelas eksperimen) dengan senyawa pembanding (kelas kontrol) maka H_0 diterima (Marliani, 2017). Variabel bebas yang digunakan pada penelitian ini yaitu senyawa Nitazoxanide dan Arbidol serta senyawa pembanding Lopinavir dan Chloroquine. Selain itu, variabel terikat yang digunakan pada penelitian ini yaitu nilai afinitas.

SPSS dapat membaca berbagai jenis data atau memasukkan data langsung ke SPSS Data Editor. Struktur dari file Data Editor SPSS berupa mentahan, maka data harus dibentuk dalam bentuk baris (*cases*) dan kolom (*variables*). Case merupakan data informasi untuk satu unit analisis, sedangkan variable merupakan data informasi yang dikumpulkan dari masing-masing kasus (Riana, 2012). Hasil analisa data statistic ditunjukkan pada tabel 5.15

Tabel 5.15 Analisa hasil *affinity* menggunakan Uji-T

Reseptor	Senyawa	Sig. (<i>p-value</i>) (kkal/mol)			
		Uji Normalitas	Uji Homogenitas	<i>levене test</i>	Uji-T
7BQY	Nitazoxanide (senyawa uji)	-	0.016	-	-
	Lopinavir (senyawa pembanding)	0.000			
2GZ7	Nitazoxanide (senyawa uji)	0.637	0.442	0.442	0.000
	Lopinavir (senyawa pembanding)	1.000			
3D0G	Arbidol (senyawa uji)	0.463	0.205	0.205	0.000
	Chloroquine (senyawa pembanding)	1.000			
1R4L	Arbidol (senyawa uji)	-	0.016	-	-
	Chloroquine (senyawa pembanding)	0.000			

Tabel 5.15 menunjukkan bahwa pada reseptor 7BQY dan 1R4L tidak dapat dilanjutkan ke analisa uji parametrik yaitu uji-t independen, dikarenakan data tidak berdistribusi normal dan homogen dengan hasil Sig. yang didapatkan

<0.05 sehingga keduanya perlu dilanjutkan ke analisa uji non parametrik yaitu uji *mann whitney*. Sedangkan nilai uji normalitas pada senyawa Nitazoxanide dan senyawa pembanding Lopinavir terhadap reseptor 2GZ7 masing-masing yaitu 0.637 kkal/mol dan 1.000 kkal/mol bersamaan dengan itu Arbidol dan senyawa pembanding Chloroquine terhadap reseptor 3D0G memiliki nilai masing-masing 0.463 kkal/mol dan 1.000 kkal/mol. Diketahui juga, nilai homogenitas pada reseptor 2GZ7 dan 3D0G yaitu 0.442 kkal/mol dan 0.205 kkal/mol, masing-masing. Artinya kedua senyawa memiliki nilai signifikansi >0.05 sehingga data berdistribusi normal dan sama (Latifah dan Priambodo, 2021).

Senyawa Nitazoxanide pada reseptor 2GZ7 dan Arbidol pada reseptor 3D0G memiliki nilai *levene test* yang lebih dari 0.05 yaitu masing-masing 0.442 kkal/mol dan 0.205 kkal/mol, maka *variance* sama, sehingga uji-t independen menggunakan nilai Sig. (*2-tailed*) pada baris *equal variance assumed* (Apriyono, 2013). Senyawa Nitazoxanide pada reseptor 2GZ7 dan Arbidol pada reseptor 3D0G menunjukkan nilai Signifikan (*2-tailed*) yang kurang dari 0.05 yaitu 0.000, maka pada kedua reseptor terdapat perbedaan nyata atau signifikan antara senyawa uji (kelas eksperimen) dengan senyawa pembanding (kelas kontrol) maka H_0 diterima (Marliana, 2017).

Sementara itu, reseptor 7BQY dan 1R4L yang terbukti tidak berdistribusi normal dan homogen dilanjutkan ke analisa uji non parametrik menggunakan uji *mann whitney* (Latifah dan Priambodo, 2021). Uji ini digunakan dalam uji perbandingan dua sampel yang tidak berhubungan atau sampel independen (Widjaya, 2011). Nilai signifikansi uji ini didapatkan dengan cara mengklik

Analyze>Nonparametric tests>Legacy dialogs>2 Independent samples dan pada pilihan *Define Group*, *Group 1* diisi 1 (kode senyawa uji) dan *Group 2* diisi 2 (kode senyawa pembanding). Hasil yang dievaluasi yaitu nilai *Asymp. Sig. (2-tailed)*. Nilai *Asymp. Sig.* yang lebih dari sama dengan 0.05 mengartikan tidak terdapatnya perbedaan nyata antara senyawa uji (kelas eksperimen) dengan senyawa pembanding (kelas kontrol) maka H_0 diterima, sedangkan nilai *Asymp. Sig.* yang kurang dari 0.05 mengartikan terdapatnya perbedaan nyata antara senyawa uji (kelas eksperimen) dengan senyawa pembanding (kelas kontrol) maka H_0 ditolak (Mubarak dkk, 2021). Hasil uji *mann whitney* disajikan pada tabel 5.16.

Tabel 5.16 Analisa hasil *affinity* menggunakan Uji *Mann Whitney*

Senyawa Uji	Senyawa Pembanding	Asymp. Sig. (2-tailed) (kcal/mol)
Nitazoxanide (7BQY)	Lopinavir (7BQY)	0.114
Arbidol (1R4L)	Chloroquine (1R4L)	0.034

Tabel 5.16 menunjukkan bahwa senyawa Nitazoxanide pada reseptor 7BQY memiliki nilai *Asymp. Sig.* yang lebih dari sama dengan 0.05 yaitu 0.114 sehingga pada reseptor tersebut tidak terdapat perbedaan nyata atau signifikan antara senyawa uji (kelas eksperimen) dengan senyawa pembanding (kelas kontrol) maka H_0 diterima. Sedangkan senyawa Arbidol pada reseptor 1R4L memiliki nilai *Asymp. Sig.* yang kurang dari 0.05 yaitu 0.034, maka pada kedua

reseptor terdapat perbedaan nyata atau signifikan antara senyawa uji (kelas eksperimen) dengan senyawa pembanding (kelas kontrol) maka H_0 ditolak.

BAB VI

PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diberikan untuk penelitian yang telah dilakukan yaitu:

1. Senyawa Arbidol dan Nitazoxanide telah memenuhi hukum Lima Lipinski.
2. Senyawa Nitazoxanide, Arbidol, serta senyawa pembanding Chloroquine diklasifikasikan pada kelas 4 GHS ($300 < LD_{50} \leq 2000$ mg/kg) yang berarti senyawa tersebut memiliki efek toksisitas yang relatif rendah, sedangkan senyawa pembanding Lopinavir diklasifikasikan pada kelas 5 GHS ($2000 < LD_{50} \leq 5000$ mg/kg) yang artinya mempunyai efek toksisitas akut yang rendah.
3. Senyawa Nitazoxanide memiliki interaksi terhadap reseptor NSP5 (7BQY dan 2GZ7) berupa ikatan hydrogen dan interaksi hidrofobik, sedangkan senyawa Arbidol memiliki interaksi terhadap reseptor ACE2 (3D0G) berupa ikatan hydrogen, interaksi hidrofobik dan interaksi elektrostatik, serta memiliki interaksi terhadap reseptor ACE2 (1R4L) berupa ikatan hydrogen dan interaksi hidrofobik.
4. Senyawa Nitazoxanide pada reseptor 2GZ7 dan Arbidol pada reseptor 3D0G dan 1R4L memiliki perbedaan nilai binding afinitas yang signifikan terhadap senyawa pembanding.

6.2 Saran

Saran yang dapat diberikan untuk penelitian yang telah dilakukan yaitu:

1. Penelitian selanjutnya direkomendasikan untuk menguji Arbidol pada reseptor ACE2 dengan kode yang lain, karena hasil *binding affinity* Arbidol kurang efektif daripada *native ligand* reseptor yang diuji (1R4L).
2. Perlu dilakukan visualisasi dan analisa data Uji-T dengan *native ligand* untuk mengetahui keefektifan senyawa secara spesifik.
3. Untuk mengembangkan potensi antivirus SARS-CoV-2, perlu dilakukan pengamatan melalui analisis dinamika molekuler.

DAFTAR PUSTAKA

- Adelina, Rosa. 2014. Uji Molecular Docking Annomuricin E dan Muricapentocin pada Aktivitas Antiproliferasi. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia* Vol. 12 No. 1 ISSN 1693-1831
- Adriani. 2018. Prediksi Senyawa Bioaktif dari Tanaman Sanrego (Lunasia Amara Blanco) Sebagai Inhibitor Enzim Siklooksigenase-2 (COX-2) Melalui Pendekatan Molecular Docking. *Jurnal Ilmiah Pena* 1 (1), 6-11.
- Agistia, D.D., H. Purnomo, M. Tegar dan A. E. Nugroho. 2013. Interaksi Senyawa Aktif dari *Aegle marmelos* Correa sebagai Anti Inflamasi dengan Reseptor COX-1 dan COX-2. *Traditional Medicine Journal*. 18: 80-87.
- Al-shawiy, Ahmad bin Muhammad. 2004. *Hasyiyatu al-Shawiy 'ala Tafsiiri al-Jalalain*. Bairut: Daru al-Fikr, jil 1, hlm. 101-102
- Al-Hanbali, Imam Ibnu Rajab. 2015. *Jami'ul Ulum wal Hikam*. Solo: Zamzam
- Al-Qazwini, Abu Abdullah Muhammad Ibn Yazid. *Sunan Ibn Majah* Juz II. Semarang: Maktabah wa Mathba'ah Thaha Putra, t.th. hlm. 784, Hadis nomor 2340. dan 2341.
- Alinia-Ahandani, Ebrahim dan Milad Sheydael. 2020. Overview of the Introduction to the New Coronavirus (Covid19): A Review. DOI: 10.36630/jmbsr_20005
- Andersen KG dan Rambaut A. 2020. Lipkin WI et al: The proximal origin of SARSCoV-2. *Nat Med* 26(4); 450-52
- Apriyatno, Ari. 2013. Analisis Overreaction pada Saham Perusahaan Manufaktur di Bursa Efek Indonesia (Bei) Periode. *Jurnal Nomina* Vol 2 No 2

- Ash-Shiddieqy, Teungku Muhammad Hasbi. 2000. *Tafsir Al-Qur'anul Masjid AN-NUUR*. Semarang: PT. Pustaka Rizki Putra
- Avinash R. dan Veerabhadra Rao A. 2013. A review on molecular docking, Novel tool in drug design and analysis. *Journal of Harmonized Research in Pharmacy* Vol. 2 No. 4: 215-218
- Bachtiar, Kamiel Roesman, Susanti Susanti dan Richa Mardianingrum. 2021. Uji Aktivitas Antiinflamasi Senyawa dalam Minyak Atsiri Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum Roxb*) Secara In Silico. *Journal of Pharmacopolium* 4 (1)
- Badarinath A, et al. 2020. Review on In-vitro Antioxidant Methods : Comparisons, Correlations, and Considerations. *International Journal of PharmTech Research* : 1276-1285.
- Bell, Eric W. dan Zhang, Yang. 2019. DockRMSD: an open-source tool for atom mapping and RMSD calculation of symmetric molecules through graph isomorphism. *J Cheminform* 11 (40) <https://doi.org/10.1186/s13321-019-0362-7>
- Belouzard, S., Jean K. Millet, dan Beth N. Licitra. 2012. Mechanisms of coronavirus cell entry mediated by the viral spike protein. *Viruses*. doi: 10.3390/v4061011
- Blaising, J., et al. 2013. Arbidol inhibits viral entry by interfering with clathrindependent trafficking. *Antivir. Res.* 100, 215–219
- Blaising, J., Polyak, S. J. dan Pecheur, E. I. 2014. Arbidol as a broad-spectrum antiviral: an update. *Antivir. Res.* 107, 84–94
- Bogoch, Isaac I, et al. 2020. Pneumonia of unknown aetiology in Wuhan, China: potential for international spread via commercial air travel. *Journal of Travel Medicine*. Vol. 00, 00.

- Boriskin, Y.S., Leneva, I.A., dan Pecheur, E.I. 2008. Arbidol: a broad-spectrum antiviral compound that blocks viral fusion. *Curr. Med. Chem.* 15, 997–1005.
- [BPOM] Badan Pengawas Obat dan Makanan. 2020. Penetapan Pedoman Obat dalam Penanganan Corona Virus Disease 2019 (COVID-19). Jakarta: Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia
- Broekhuysen J, Stockis A, Lins RL, De Graeve J, Rossignol JF. 2000. Nitazoxanide: pharmacokinetics and metabolism in man. *Int J Clin Pharmacol Ther*; 38 (8): 387-94. (PubMed ID 10984012)
- Carvalho, I., M. T. Pupo, Á. D. L. Borges dan L. S. C. Bernardes, Introduction to molecular modeling of drugs in the experimental course of pharmaceutical chemistry. *New Chemistry* 26 (03)
- [CDC] Center of Disease Control. 2020. 2019 Novel Coronavirus (2019-nCoV). *Centers for Disease Control and Prevention*. Diarsipkan dari versi asli pada tanggal 3 November 2020 dan diakses pada tanggal 04 November 2020. (<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/casesupdates/summary.html>)
- Chagas, C.M., Moss, S. dan Alisaraiea, L. 2018. Drug metabolites and their effects on the development of adverse reactions: Revisiting Lipinski's Rule of Five. *International Journal of Pharmaceutics* 549, 133–149.
- Chairunnisa, A., dan Runadi, D. 2016. Aktivitas Kalkon Terhadap Reseptor Esterogen B (Er-B) Sebagai Antikanker Payudara Secara In Vitro Dan In Silico. *Farmaka* Vol. 14 No. 2; 1–8.
- Cole, J. C., Korb, O., Olsson, T. S. G. dan Liebeschuetz, J. 2011. "The basis for target-based virtual screening: protein structures," in *Methods and Principles in Medicinal Chemistry*, ed. C. Sotriffer (Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA). doi: 10.1002/9783527633326.ch4. , hlm. 87–114

- Costa, Fernanda Farias, et al. 2020. "Metabolic syndrome and COVID-19: An update on the associated comorbidities and proposed therapies". *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews* 14
- Czochor J dan Turchick A. 2014. Introduction. *Yale J Biol Med* Vol. 87 No. 4:401–2.
- Daina A., Michielin O. dan Zoete V. 2017. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci. Rep* 7; 42717
- Daina, A. dan Zoete, V. A. 2016. BOILED-Egg To Predict Gastrointestinal Absorption and Brain Penetration of Small Molecules. *ChemMedChem* 11(11): 1117–1121
- Darusman, Fitrianti dan Fakhri, Taufik Muhammad. 2020. Studi Interaksi Senyawa Turunan Saponin dari Daun Bidara Arab (*Ziziphus spina-christi* L.) sebagai Antiseptik Alami secara In Silico. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis* 7 (3). DOI: 10.25077/jsfk.7.2.229-235.2020
- De Beer, S.B.A., Vermeulen, N.P.E. dan Oostenbrink, C. 2010. The role of water molecules in computational drug design. *Curr. Top. Med. Chem* 10, 55–66.
- De Wilde A, et al. 2014. Screening of an FDAApproved Compound Library Identifies Four Small-Molecule Inhibitors of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus Replication in Cell Culture. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 58; hlm. 4875- 4884. doi: 10.1128/AAC.03011-14.
- Delano W. 2006. *Pymol Home Page*. pymol.sourceforge.net
- Deng L, et al. 2020. Arbidol combined with LPV/r versus LPV/r alone against Corona Virus Disease 2019: a retrospective cohort study. *J Infect* 81:e1–e5

- Djojoseumarto, P. 2008. *Pestisida dan Aplikasinya*. Jakarta: PT. Agromedia Pustaka.
- Dong, Liying, Shasha Hu and Jianjun Gao. 2020. Discovering drugs to treat coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Drug Discoveries & Therapeutics*. 14(1):58-60.
- Doremalen, van N, Bushmaker T, Morris DH, Holbrook MG, Gamble A, Williamson BN, et al. 2020. Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1. *N Engl J Med*. DOI: 10.1056/NEJMc2004973
- El-Din, H. M. A., et al. 2016. Molecular *docking* based screening of compounds against VP40 from Ebola virus. *Bioinformation* Vol. 12 No. 3: 192-196
- Effendy. 2006. *Teori VSEPR Kepolaran dan Gaya Antarmolekul*. Malang: Bayumedia Publishing.
- Fink SL, et al. The Antiviral Drug Arbidol Inhibits Zika Virus. *Sci Rep*. Vol. 8 No. 1:8989. doi: 10.1038/s41598-018-27224-4. (PubMed ID 29895962)
- Frimayanti, Neni, Meiriza Djohari dan Alifah Nurul Khusnah. 2021. Molekular Docking Senyawa Analog Kalkon sebagai Inhibitor untuk Sel Kanker Paru-Paru A549. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia* 19 (1) ISSN: 1693-1831, E-ISSN: 2614-6495
- Ganesan, M. S., et al. 2020. Synthesis, Biological Evaluation, Molecular Docking, Molecular Dynamics and DFT Studies of Quinoline-fluoroproline Amide Hybrids. *Journal of Molecular Structure* Vol. 1217 No. 128360
- Geoffrey A S, et al. 2020. A programmatic tool for automatic ease in coronavirus drug discovery through programmatically automated data mining, QSAR and In Silico modelling. ChemRxiv. Preprint. <https://doi.org/10.26434/chemrxiv.12423638.v2>

- Gheblawi, M., et al. 2020. AngiotensinConverting Enzyme 2: SARS-CoV-2 Receptor and Regulator of the Renin- Angiotensin System: Celebrating the 20th Anniversary of the Discovery of ACE2. *Circulation research*. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.120.317015.
- Guedes, Isabella A., Felipe S. S. Pereira dan Laurent E. Dardenne. 2018. Empirical Scoring Functions for Structure-Based Virtual Screening: Applications, Critical Aspects, and Challenges. *Front. Pharmacol* 9:1089. doi: 10.3389/fphar.2018.01089
- Hardjono, S., 2012. Modifikasi Struktur 1-(Benzoiloksi)urea dan Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas Sitotoksiknya. Surabaya: Universitas Airlangga, Disertasi
- Hassan NM, Alhossary AA, Mu Y dan Kwoh CK. 2017. Protein-ligand blind docking using QuickVina-W with inter-process spatio-temporal integration. *Sci Rep* 7:15451.
- Hati, Sanchita dan Sudeep Bhattacharyya. 2020. Impact of Thiol–Disulfide Balance on the Binding of Covid-19 Spike Protein with Angiotensin-Converting Enzyme 2 Receptor. *ACS Omega* 5, 16292–16298. <https://dx.doi.org/10.1021/acsomega.0c02125>
- Hanif, A. U., Lukis, P. A. dan Fadlan A. 2020. Pengaruh Minimisasi Energi MMFF94 dengan MarvinSketch dan Open Babel PyRx pada Penambatan Molekular Turunan Oksindola Tersubstitusi. *Alchemy: Journal of Chemistry* 8:2
- Haviernik J, et al. 2018. Arbidol (Umifenovir): A Broad-Spectrum Antiviral Drug That Inhibits Medically Important Arthropod-Borne Flaviviruses. *Viruses* Vol. 10 No. 4. pii: v10040184. doi: 10.3390/v10040184. (PubMed ID 29642580)
- Helgren, Travis R. dan Timothy J. Hagen. 2018. Demonstration of AutoDock as an Educational Tool for Drug Discovery. *Journal of Chemical Education* XXXX, XXX, XXX–XXX DOI: 10.1021/acs.jchemed.6b00555

- Herod, M.R., et al. 2019. The broad-spectrum antiviral drug arbidol inhibits foot-and-mouth disease virus genome replication. *J. Gen. Virol.* 100, 1293–1302.
- Herowati, Rina, Endang Sri Rejeki, Jausi Jannah dan Nuraini Harmastuti. 2020. Analisis Penambatan Molekul Kandungan Kimia Tanaman Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) Terhadap Target Molekuler Terapi Penyakit Kardiovaskular. *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia* 17 (2)
- Hetényi C dan Van Der Spoel D. 2006. Blind docking of drug-sized compounds to proteins with up to a thousand residues. *FEBS Lett* 580:0–1450.
- Hevener, K. E., et al. 2009. Validation of Molecular Docking Programs for Virtual Screening Against Dihydropteroate Synthase. *Journal of Chemical Information and Modeling* 49 (2): 444-460
- Hilgenfeld, R. 2014. From SARS to MERS: crystallographic studies on coronaviral proteases enable antiviral drug design. *The FEBS journal*. doi: 10.1111/febs.12936.
- Hodgson, E. dan Levi P. E. 2000. *A Textbook of Modern Toxicology*. Singapore: Mc Graw-Hill Higher Education.
- Hodge, H.C. dan Sterner, J.H. 1949. Tabulation of Toxicity Classes. *Journal American Industrial Hygiene Association Quarterly* Vol. 10, Issue 4, pp. 93-96.
- Hodis E., Schreiber, G., dan Rother, K. 2007. eMovie: a storyboard-based tool for making molecular movies. *Trends Biochem Sci* 32; 199-204
- Huang, Pien. 2020. How Does The Novel Coronavirus Compare With MERS, SARS And The Common Cold? <https://www.npr.org/sections/goatsandsoda/2020/01/22/798277557/howdoes-wuhan-coronavirus-compare-to-mers-sars-and-the-common-cold>

- Hulseberg CE, et al. 2019. Arbidol and Other Low-Molecular-Weight Drugs That Inhibit Lassa and Ebola Viruses. *J Virol.* Vol. 93 No. 8. pii: JVI.02185-18. doi: 10.1128/JVI.02185-18. Print 2019 Apr 15. (PubMed ID 30700611)
- Hinchliffe A. 2008. *Molecular modeling for beginners*. 2nd ed. Chichester: John Wiley and Sons Ltd
- Iorga B, Herlem D, Barré E dan Guillou C. 2006. Acetylcholine nicotinic receptors: finding the putative binding site of allosteric modulators using the “blind docking” approach. *J Mol Model* 12:366–72
- Jensen, F., 2007. *Introduction to Computational Chemistry*, 2nd Ed. Chichester: John Wiley & Sons Ltd.
- Jin, Zhenming, et al. 2020. Structure of M^{pro} 1 from COVID-19 virus and discovery of its inhibitors. *bioRxiv* doi: <https://doi.org/10.1101/2020.02.26.964882>
- Joshi, Tanuja, et al. 2020. Structure-Based Screening of Novel Lichen Compounds for SARS Coronavirus Main protease (Mpro) and Angiotensin-Converting Enzyme 2 (ACE2) inhibitory potentials as multi-target inhibitors of COVID-19. *Research Square* DOI: 10.21203/rs.3.rs-26207/v1
- Kadam, R. U. dan Wilson, I. A. 2017. Structural basis of influenza virus fusion inhibition by the antiviral drug Arbidol. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 114, 206–214
- Kandimalla, Ramesh, et al. 2020. Current Status of Multiple Drug Molecules, and Vaccines: An Update in SARS-CoV-2 Therapeutics. *Molecular Neurobiology* 57; 4106–4116
- Kastritis, Panagiotis L. dan Bonvin, Alexandre M. J. J. 2012. On the binding affinity of macromolecular interactions: daring to ask why proteins interact. *J R Soc Interface* 10: 20120835. <http://dx.doi.org/10.1098/rsif.2012.0835>

- Kesuma, Dini, Siswandono, Bambang Tri Purwanto dan Suko 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* 01, 01-11 DOI: 10.20961/jpscr.v3i1.16266
- Khelfaoui, Hadjer, Dalal Harkati dan Basil A. Saleh. 2020. Molecular docking, molecular dynamics simulations and reactivity, studies on approved drugs library targeting ACE2 and SARS-CoV-2 binding with ACE2. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1803967>
- Kim, J.Y. 2020. Letter to the editor: case of the index patient who caused tertiary transmission of coronavirus disease 2019 in Korea: the application of lopinavir/ritonavir for the treatment of COVID-19 pneumonia monitored by quantitative RT-PCR. *J. Korean Med. Sci.* 35 (7) e88
- Kuswadi, dan Mutiara, Erna. 2004. *Statistik Berbasis Komputer untuk Orang-orang Non Statistik*. Jakarta: Elex Media Komputindo.
- Ky B, Mann DL, COVID-19 Clinical Trials: A Primer for the Cardiovascular and Cardio-Oncology Communities, *JACC: Basic to Translational Science* (2020), doi: <https://doi.org/10.1016/j.jacbts.2020.04.003>
- Laksmiani, dkk. 2018. Ethyl Acetate Fraction of Secang as Anti Cervical Cancer by Inducing P53 and Caspase-9. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science* 012065.
- Lan, J., et al. 2020. Structure of The SARS-CoV-2 Spike Receptor-Binding Domain Bound to The ACE2 Receptor. *Nature* 581, 215–220.
- Latifah, Luloek S. dan Priambodo, Anung. 2021. Perbandingan Tingkat Motivasi Selama Pembelajaran Daring Dan Luring Pada Materi Bola Voli Di Smkn 1 Kanor. *Jurnal Pendidikan Olahraga dan Kesehatan* 09 (02)

- Leach, A. R., Shoichet, B. K. dan Peishoff, C. E. 2006. Prediction of Protein Ligand Interactions, Docking and Scoring: Successes and Gaps. *Journal of Medicinal Chemistry*, 49, 5851-5855.
- Letko M, Marzi A. dan Munster V. 2020. Functional assessment of cell entry and receptor usage for SARS-CoV-2 and other lineage B betacoronaviruses. *Nature Microbiology*: 1–8. doi:10.1038/s41564-020-0688-y.
- Lestari, T. 2015. Studi Interaksi Senyawa Turunan 1,3-Dibenzoiltiourea sebagai Ribonukleotida Reduktase Inhibitor. *Jurnal Farmasi Indonesia* 7: 163 – 169.
- Li MK, et al. 2018. Antiviral activity of arbidol hydrochloride against herpes simplex virus I in vitro and in vivo. *Int J Antimicrob Agents*. Vol. 51 No. 1:98-106. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2017.09.001. Epub 2017 Sep 7. (PubMed ID 28890393)
- Lian, N., et al. 2020. Umifenovir treatment is not associated with improved outcomes in patients with coronavirus disease 2019: a retrospective study. *Clinical Microbiology and Infection* 26, 917-921
- Lipinski, C. A., Lombardo, F., dan Dominy, B. W. 1997. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 23 (1± 3), 3 ±25
- Lipinski C.A. 2000. Drug-like properties and the causes of poor solubility and poor permeability. *J.Pharmacol.Toxicol.Methods* 44(1); 235–249.
- Liu, Z., Li, Y., Han, L., et al. 2015. PDB-wide collection of binding data: current status of the PDBbind database. *Bioinformatics* 31, 405–412. doi: 10.1093/bioinformatics/btu626
- Liu, Jia, et al. 2020. Hydroxychloroquine, a less toxic derivative of chloroquine, is effective in inhibiting SARS-CoV-2 infection in vitro. *Cell Discovery* 6 (16)

- Lodish, H., et al. 2000. *Moleccular Cell Biology 4th Edition*. New York: W.H. Freeman Company.
- Lu R, et al. 2020. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet*; 395;565-74.
- Marlina, Novi. 2017. Pengaruh Model Pembelajaran Science, Tehcnologi, Society, Environment (Stse) terhadap Keterampilan Berpikir Kritis dan Hasil Belajar Siswa pada Materi Pencemaran Lingkungan di Mas Jeumala ‘Amal. *Jurnal EduBio Tropika* Vol 5 No 1, hlm. 1-53
- Meli, Rocco dan Biggin, Philip C. 2020. spyrmsd: symmetry-corrected RMSD calculations in Python. *J Cheminform* 12 (49) <https://doi.org/10.1186/s13321-020-00455-2>
- Mikhail dan Gracie. 1981. *Analysis and Adjustment of Survey Measurement*, Van. Nostrand Reinhold Company Inc.
- Morris, G. M., et al. 2009. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated Docking with Selective Receptor Flexibility. *J. Comput. Chem.* Vol. 30 No. 16, 2785–2791.
- McChesney, E. W. 1983. Animal toxicity and pharmacokinetics of hydroxychloroquine sulfate. *Am. J. Med.* 75, 11–18.
- Mubarok, Ali, Sahroni dan Sunanto. 2021. Mann Whitney in Comparing The Students’ Consultation Results of Enterpreneurial Practice Between Male and Female Lecturers in Economic Faculty of Pamulang University. *Procuratio: Jurnal Ilmiah Manajemen* 9 (1) e-ISSN 2580-3743
- Murray, R. K., Granner, D. K. dan Rodwell Victor. 2008. *Biokimia Harpe Edisi 30*. Jakarta: EGC

- Naik, Vankudavath Raju, et al. 2020. Remdesivir (GS-5734) as a therapeutic option of 2019-nCoV main protease – in silico approach. *J Biomol Struct Dyn* doi: 10.1080/07391102.2020.17816944
- Narkhede, Rohan R., et al. 2020. Interaksi pengikatan Chloroquine dengan COVID-19 Mpro diamati pada binding pocket rantai C. Interaksi terutama ditandai dengan interaksi pi-alkil antara cincin klorobenzena dengan VAL 104 dan ILE 106. *EJMO* Vol. 4 No. 3 doi: 10.14744/ejmo.2020.31503
- Nelson, D., dan Cox, M. 2001. *Lehninger Principles of Biochemistry 4th Edition*. Wisconsin: W.H. Freeman Company.
- Niak, Vankudavath Raju, et al. 2020. Remdesivir (GS-5734) as a therapeutic option of 2019-nCoV main protease – in silico approach. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, doi: <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1781694>
- Nqoro, X., Naki Tobeka dan Blessing A. Aderibigbe. 2017. QuinolineBased Hybrid Compounds with Antimalarial Activity. *Molecules (Basel, Switzerland)*. *MDPI* 22(12), 1– 22
- Oleg Trott, Arthur 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* 31:455– 461
- Oliveira, Micael Davi Lima de dan Kelson Oliveira. Comparative Docking of SARS-CoV-2 Receptors Antagonists from repurposing drugs. Research article DOI: [10.26434/chemrxiv.12044538.v4](https://doi.org/10.26434/chemrxiv.12044538.v4)
- Ong, Mohd Hanafi Azman dan Fadilah Puteh. 2017. Quantitative Data Analysis: Choosing Between SPSS, PLS and AMOS in Social Science Research. *International Interdisciplinary Journal of Scientific Research* Vol. 3 No. 1

- Orensteina WA dan Ahmedb R. 2017. Simply put: Vaccination saves lives. *Proc Natl Acad Sci U S A* Vol. 114 No. 16:4031–3. <https://doi.org/10.1073/pnas.1704507114>
- Oroojalian, Fatemeh, et al. 2020. Novel insights into the treatment of SARS-CoV-2 infection: An overview of current clinical trials. *International Journal of Biological Macromolecules* 165; hlm. 24 dan 29.
- Padhi, Aditya K., AniruddhaSeal dan Javed MasoodKhan. 2021. Unraveling the mechanism of arbidol binding and inhibition of SARS-CoV-2: Insights from atomistic simulations. *European Journal of Pharmacology* 894, 173836
- Page, D. S. 1997. Prinsip-Prinsip Biokimia. Jakarta: Erlangga
- Pankuch, Glenn A. dan Peter C. Appelbaum. 2006. Activities of Tizoxanide and Nitazoxanide Compared to Those of Five Other Thiazolides and Three Other Agents against Anaerobic Species. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* Vol. 50 No. 3, hlm. 1112
- Pecheur, E.I., et al. 2016. The synthetic antiviral drug arbidol inhibits globally prevalent pathogenic viruses. *J. Virol.* 90, 3086–3092.
- Pepperrell, Toby, Victoria Pilkington dan Andrew Owen. 2020. Review od Safety and Minimum Pricing of Nitazoxanide for Potential Treatment of COVID-19. *Journal of Virus Education*, 6 : 52-60
- Petsko, A. G. dan Dagmar R. 2004. *Protein Structure and Function*. London: New Sciences Press Ltd.
- Pillaiyar, Thanigaimalai, et al. 2016. An Overview of Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus (SARS-CoV) 3CL Protease Inhibitors: Peptidomimetics and Small Molecule Chemotherapy. *Journal of Medicinal Chemistry* DOI: 10.1021/acs.jmedchem.5b01461

- Pires, D. E., Tom L. B. dan David B. A. 2015. pkCSM: Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity Properties Using Graph-Based Signatures. *J. Med. Chem.* Vol. 58
- Prajapat, M. et al. 2020. Drug targets for corona virus: A systematic review. *Indian Journal of Pharmacology*. doi: 10.4103/ijp.IJP_115_20
- Priyanto, 2009. *Toksikologi: Mekanisme, Terapi Antidotum dan Penilaian Resiko*. Depok: Leskonfi.
- Priyatno Duwi. 2012. *Belajar Praktik Analisa Parametrik dan Non Parametrik Dengan SPSS*. Yogyakarta: Gafa Media.
- Putri, P. V. P., N. M. P. Susanti dan N. P. L. Laksmiani. 2019. Senyawa Kuersetin sebagai Agen Antikanker Kolorektal Secara In Silico. *Journal of Chemistry* 13 (2): 166 – 171
- Qoonita, F., dan Daryono, H.T. 2012. Hubungan Kuantitatif Struktur Dan Aktivitas Senyawa Turunan 3-Haloasilaminobenzoilurea Sebagai Inhibitor Pembentukan Mikrotubulus. *Acta Pharmaceutica Indonesia*, 27, 76-80
- Rachmania, Rizky Arcintha, Hariyanti, Ririh Zikriah dan Aditya Souldan. 2018. Studi In Silico Senyawa Alkaloid Herba Bakung Putih (*Crinum Asiatikum* L.) pada Penghambatan Enzim Siklooksigenase (COX). *Jurnal Kimia VALENSI* 4 (2)
- Ren, Li-Li, et al. 2020. Identification Of A Novel Coronavirus Causing Severe Pneumonia In Human: A Descriptive Study. *Chinese Medical Journal* 133(9).
- Riana, Dwiza. 2012. *Statistika Deskriptif Itu Mudah*. Tangerang: Jelajah Nusa
- Riedel S, Morse S, Mietzner T, Miller S. 2019. *Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology*. 28th ed. New York: McGrawHill Education/Medical; p.617-22

- Risner, K. H., et al. 2020. Maraviroc inhibits SARS-CoV-2 multiplication and s-protein mediated cell fusion in cell culture. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2020.08.12.246389>
- Rizal dan Ismail, Isriany. 2018. Pengaruh Konsentrasi Etanol Terhadap Penjerapan Nifedipin Pada Formula Ethosome. *Jurnal Farmasi Indonesia* 10 (2)
- Rossignol, J. F. 2014. "Nitazoxanide: A first-in-class broad-spectrum antiviral agent". *Antiviral Research* 110: 94-103
- Rossignol, J. F. 2016. "Nitazoxanide, a new drug candidate for the treatment of Middle East respiratory syndrome coronavirus". *J. Infect. Public Health* 9 (3): 227–230
- Rothan, H.A dan Siddappa N. Byrareddy. 2020. Review Article: The Epidemiology And Pathogenesis Of Coronavirus Disease (COVID-19) Outbreak. *Journal Of Autoimmunity*.
- Roy K., Kar S. dan Das R. N. 2015. "Computational chemistry," in Understanding The Basics of QSAR for Applications in Pharmaceutical Sciences Risk Assessment, K. Roy, S. Kar and R. N. Das (eds.). *Elsevier* pp. 357-425. DOI:10.1016/B978-0-12-801505-6.00005-3
- Sánchez-Linares I, Pérez-Sánchez H, Cecilia JM dan García JM. 2012. High-throughput parallel blind virtual screening using BINDSURF. *BMC Bioinformatics* 13 (Suppl 14):S13
- Saputri, Karisma Enggar, Nurul Fakhmi dan Erwinda Kusumaningtyas. 2016. Docking Molekular Potensi Anti Diabetes Melitus Tipe 2 Turunan Zerumbon Sebagai Inhibitor Aldosa Reduktase dengan Autodock-Vina. *Chimica et Natura Acta* Vol.4 No.1,
- Sari, Indah Pitaloka dan Sriwidodo. 2020. Perkembangan Teknologi Terkini dalam Mempercepat Produksi Vaksin COVID-19. *Majalah Farmasetika* Vol. 5 No. 5: hlm. 204-217

- Schlick, T. 2010. *Molecular modeling and simulation, an interdisciplinary guide*. 2nd ed. New York: Springer Science Business Media
- Shakya A., Bhat H.R., dan Ghosh S.K. 2017. Update on Nitazoxanide: A Multifunctional Chemotherapeutic Agent. *Curr Drug Discov Technol*. pii: CDDT-EPUB-85034. doi: 10.2174/1570163814666170727130003. (PubMed ID 28748751)
- Siswandono. 2016. *Kimia medisinal I*, edisi kedua. Surabaya: Airlangga University Press.
- Spyrakis, F. dan Cavasotto, C.N. 2015. Open challenges in structure-based virtual screening: Receptor modeling, target flexibility consideration and active site water molecules description. *Arch. Biochem. Biophys* 583, 105–119.
- Supriya, T., M. Shankar dan S. Kavya Lalitha. 2016. A Over View on Molecular Docking. *American Journal of Biological and Pharmaceutical Research* Vol. 3 No. 2
- Susilo, Adityo, et al. 2020. Coronavirus Disease 2019: Tinjauan Literatur Terkini. *Jurnal Penyakit Dalam Indonesia* Vol. 7, No. 1
- Sutherland, J.J.; Nandigam, R.K.; Erickson, J.A.; Vieth, M. 2007. Lessons in molecular recognition. 2. Assessing and improving cross-docking accuracy. *J. Chem. Inf. Model* 47, 2293–2302
- SRLF S, SFMU, GFRUP, SPILF. 2020. Recommendations from Experts on the Resuscitation Care of Patients during an SARS-CoV2 Epidemic Version 1. <https://www.srlfS.org/wp-content/uploads/2020/03/Recommandations-dexperts-COVID-19-10-Mars-2020.pdf>
- STAT. 2020. *The COVID-19 Tracker*. Diakses pada tanggal 04 November 2020 (<https://www.statnews.com/2020/03/26/covid-19-tracker/>)

- Syahputra, G., Ambarsari, L. dan Sumaryada, T. 2014. Simulasi Docking Kurkumin Enol, Bisdemetoksikurkumin Dan Analognya Sebagai Inhibitor Enzim 12- Lipoksigenase. *Jurnal Biofisika*, 10(1): 55-67.
- Syofrianisda, 2015. *Tafsir Maudhu'iy* Ed. 1 Cet. 1. Yogyakarta: Deepublish
- Syamsul, E. S., et al. 2015. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Kerehau (*Callicarpa longifolia* Lam.) Terhadap Mencit Putih. *Jurnal Ilmiah Manuntung*. Akademi Farmasi Samarinda.
- Tim Tafsir Ilmiah Salman ITB. 2014. *Tafsir Salman: Tafsir Ilmiah Juz 'Ammah*. Bandung: YPM Salman ITB
- Trott O dan Olson AJ. 2009. Software news and update AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *J Comput Chem* 31:455–61
- Trott, O. dan Olson, A.J. 2010. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading, *Journal of Computational Chemistry*, 31: 455-461.
- Tursia, Anita, Irsan Saleh dan Sri Nita. 2018. Hubungan Polimorfisme Gen CYP1A1 (Ile462Val) dengan Kejadian Karsinoma Epitel Ovarium. *Jurnal Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya* Vol. 4 No. 1
- Vankadari N dan Wilce JA. 2020. Emerging Wuhan (COVID-19) coronavirus: glycan shield and structure prediction of spike glycoprotein and its interaction with human CD26. *Emerg Microb Infect* 9:601–4.
- Vankadari, Naveen. 2020. Arbidol: A potential antiviral drug for the treatment of SARS-CoV-2 by blocking trimerization of the spike glycoprotein. *International Journal of Antimicrobial Agents* 56: 105998

- Viveiros, Anissa. Gavin Y Oudit, Jiuchang Zhong. 2020. Angiotensin Converting Enzyme 2: SARS-CoV-2 Receptor and Regulator of the ReninAngiotensin System. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.120.317015
- Vijay, Rahul. 2020. MERS Coronavirus: Methods and Protocols. *Methods in Molecular Biology*, vol. 2099, https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0211-9_3. USA: University of Iowa
- Walls, et al. 2020. Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. *Cell* 181 (2): 281-292
- Wang X, et al. 2020. The anti-influenza virus drug, arbidol is an efficient inhibitor of SARS-CoV-2 in vitro. *Cell Discov* Vol. 6 No.28
- [WHO] World Health Organization. 2020. *Advice for Public*. Diarsipkan dari versi asli pada tanggal 2 November 2020 dan diakses pada tanggal 04 November 2020. (https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus2019?gclid=CjwKCAjw8J32BRBCEiwApQEKgbnziZa3z2shfKCzc3sz_xs5YURVg3_uya7dZNJyER3D505Bjy82BoC8GgQAvD_BwE)
- [WHO] World Health Organization. 2020. *Report Of The Who On Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)*. Geneva: World Health Organization
- Widjaya, Toni. 2011. *Cepat Menguasai SPSS-19*. Jakarta: Cahaya Atma.
- Wrapp, D., et al. 2020. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science* 367, 1260–1263.
- Wu, Aiping, et al. 2020. Genome Composition And Divergence Of The Novel Coronavirus (2019-Ncov) Originating In China. *Cell Host & Microbe* 27.
- Wu, Canrong, et al. 2020. Analysis of therapeutic targets for SARS-CoV-2 and discovery of potential drugs by computational methods. *Acta Pharmaceutica Sinica B* 10 (5): 766-788

- Yan R., et al. 2020. Structural basis for the recognition of the SARSCoV-2 by full-length human ACE2. *Science* 367(6485); 1444–48
- Yandri, Elwi. 2018. Dimensi Pendidikan Islam dalam Surat An-Naml Ayat 15-44 (Analisis Kisah Nabi Sulaiman As Dengan Ratu Balqis). *Jurnal RUHAMA* Volume 1 No.1
- Zhang, L., et al. 2020. Crystal structure of SARS-CoV-2 main protease provides a basis for design of improved a-ketoamide inhibitors. *Science*. doi: 10.1126/science.abb3405.
- Zhou, P. et al. 2020. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus *Acta Pharmaceutica Sinica* us of probable bat origin. *Nature* 579, 270–273
- Zhu Z, et al. 2020. Arbidol monotherapy is superior to lopinavir/ritonavir in treating COVID-19. *J Infect* 81:e21–e23
- Zhu N, et al. 2020. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med*; 382(8):727-33.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil penentuan *Grid Box Center* dan *Sizes* dengan aplikasi CB-Dock

Reseptor	Senyawa	Vina Score	Ukuran Cavity (Å)	Center			Size (x*y*z)
				X	y	z	
7BQY	Nitazoxanide	-6.7	239	6	-2	26	21*21*21
		-6.6	162	9	3	20	
		-6.1	427	-6	-18	7	
		-5.6	201	-16	-8	12	
		-5.5	527	7	22	11	
	Lopinavir	-8.1	162	9	3	20	26*26*26
		-7.7	201	-16	-8	12	
		-7.6	427	-6	-18	7	
		-7.6	239	6	-2	26	
		-6.4	527	7	22	11	
	n-[(5-methylisoxazol-3-yl)carbonyl]alanyl-l-valyl-n-1-((1r,2z)-4-(benzyloxy)-4-oxo-1-[(3r)-2-oxopyrrolidin-3-yl]methyl)but-2-enyl)-l-leucinamide	-7.5	239	6	-2	26	29*29*29
		-7.5	162	9	3	20	
		-6.2	427	-6	-18	7	
		-6.1	201	-16	-8	12	
		-5.8	527	7	22	11	
2GZ7	Nitazoxanide	-7.1	577	-1	-37	16	21*21*21
		-6.7	674	-23	-40	4	
		-6	168	-5	-25	9	
		-5.7	250	-12	-62	-1	
		-5.2	148	16	-35	5	
	Lopinavir	-8.3	674	-23	-40	4	26*26*26

		-8.7	577	-1	-37	16	21*21*21
		-7.1	168	-5	-25	9	
		-6	250	-12	-62	-1	
		-6.7	148	16	-35	5	
	2-[(2,4-dichloro-5-methylphenyl)sulfonyl]-1,3-dinitro-5-(trifluoromethyl) Benzene	-7.5	674	-23	-40	4	
		-6.8	577	-1	-37	16	
		-6.4	168	-5	-25	9	
		-5.9	250	-12	-62	-1	
		-5.3	148	16	-35	5	
	3D0G	Arbidol	-7.3	1164	19	39	
-7.1			1342	47	-11	97	28*29*22
-6.8			1960	61	17	100	22*32*22
-6.6			1172	38	22	39	22*22*22
-5.8			976	20	2	136	
Chloroquine		-6.2	1960	61	17	100	24*32*24
		-6.5	1342	47	-11	97	24*24*24
		-6.1	1172	38	22	39	
		-6.5	1164	19	39	58	
		-4.9	976	20	2	136	
2-acetamido-2-deoxy-beta-D-glucopyranose		-6.1	1960	61	17	100	18*32*18
		-6	1164	19	39	58	18*18*18
		-5.7	1342	47	-11	97	28*29*18
		-5.6	1172	38	22	39	18*18*18
		-4.5	976	20	2	136	26*18*18
2-acetamido-2-deoxy-alpha-D-glucopyranose		-6.3	1164	19	39	58	18*18*18
		-6.1	1342	47	-11	97	28*29*18
		-5.9	1960	61	17	100	18*32*18
		-5.6	1172	38	22	39	18*18*18

		-4.5	976	20	2	136	26*18*18
1R4L	Arbidol	-8.4	6602	46	5	32	35*22*35
		-6.5	912	25	14	12	22*22*29
		-6.4	1402	17	4	24	22*22*31
		-5.1	299	47	-17	16	22*22*22
		-5.1	210	23	-16	23	22*22*22
	Chloroquine	-7	6602	46	5	32	35*24*35
		-6.3	912	25	14	12	24*24*24
		-5.8	1402	17	4	24	24*24*31
		-5.1	299	47	-17	16	24*24*24
		-4.5	210	23	-16	23	24*24*24
	(s,s)-2-{1-carboxy-2-[3-(3,5-dichlorobenzyl)-3h-imidazol-4-yl]-ethylamino}-4-methyl-pentanoic acid	-9.3	6602	46	5	32	35*23*35
		-7.2	912	25	14	12	23*23*29
		-6.1	1402	17	4	24	23*23*31
		-5.5	299	47	-17	16	23*23*23
		-5.4	210	23	-16	23	23*23*23
	2-acetamido-2-deoxy-beta-d-glucopyranose	-6	6602	46	5	32	35*18*35
		-5.9	912	25	14	12	18*24*29
		-5.1	1402	17	4	24	18*18*31
		-5.1	210	23	-16	23	18*18*18
		-5	299	47	-17	16	18*18*18

Lampiran 2. Hasil Analisis Uji-T Pada reseptor 7BQY

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Senyawa	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Hasil Afinitas	senyawa uji	.	3	.	.	3	.
	senyawa pembanding	.385	3	.	.750	3	.000

a. Lilliefors Significance Correction

		Test of Homogeneity of Variances			
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Hasil Afinitas	Based on Mean	16.000	1	4	.016
	Based on Median	1.000	1	4	.374
	Based on Median and with adjusted df	1.000	1	2.000	.423
	Based on trimmed mean	12.602	1	4	.024

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means					95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
Hasil Afinitas	Equal variances assumed	16.000	.016	-2.000	4	.116	-.06667	.03333	-.15921	.02588
	Equal variances not assumed			-2.000	2.000	.184	-.06667	.03333	-.21009	.07676

Lampiran 3. Hasil Analisis Statistik ANOVA Pada reseptor 2GZ7

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
Senyawa		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Hasil Afinitas	senyawa uji	.253	3	.	.964	3	.637
	senyawa pembanding	.175	3	.	1.000	3	1.000

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Hasil Afinitas	Based on Mean	.727	1	4	.442
	Based on Median	.250	1	4	.643
	Based on Median and with adjusted df	.250	1	3.200	.649
	Based on trimmed mean	.689	1	4	.453

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Hasil Afinitas	Equal variances assumed	.727	.442	10.752	4	.000	1.13333	.10541	.84067	1.42600
	Equal variances not assumed			10.752	3.448	.001	1.13333	.10541	.82124	1.44542

Lampiran 4. Hasil Analisis Statistik ANOVA Pada reseptor 3D0G

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Senyawa	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Hasil Afinitas	senyawa uji	.292	3	.	.923	3	.463
	senyawa pembanding	.175	3	.	1.000	3	1.000

a. Lilliefors Significance Correction

		Test of Homogeneity of Variances			
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Hasil Afinitas	Based on Mean	2.286	1	4	.205
	Based on Median	.500	1	4	.519
	Based on Median and with adjusted df	.500	1	2.560	.538
	Based on trimmed mean	2.102	1	4	.221

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Hasil Afinitas	Equal variances assumed	2.286	.205	-18.500	4	.000	-2.46667	.13333	-2.83686	-2.09647
	Equal variances not assumed			-18.500	2.876	.000	-2.46667	.13333	-2.90150	-2.03184

Lampiran 5. Hasil Analisis Statistik ANOVA Pada reseptor 1R4L

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
Senyawa		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Hasil Afinitas	senyawa uji	.	3	.	.	3	.
	senyawa pembanding	.385	3	.	.750	3	.000

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Hasil Afinitas	Based on Mean	16.000	1	4	.016
	Based on Median	1.000	1	4	.374
	Based on Median and with adjusted df	1.000	1	2.000	.423
	Based on trimmed mean	12.602	1	4	.024

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Hasil Afinitas	Equal variances assumed	16.000	.016	-21.500	4	.000	-1.43333	.06667	-1.61843	-1.24824
	Equal variances not assumed			-21.500	2.000	.002	-1.43333	.06667	-1.72018	-1.14649

Lampiran 6. Hasil Analisis Uji *Mann Whitney* Pada reseptor 7BQY**Test Statistics^a**

Hasil Afinitas	
Mann-Whitney U	1.500
Wilcoxon W	7.500
Z	-1.581
Asymp. Sig. (2-tailed)	.114
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.200 ^b

a. Grouping Variable: Senyawa

b. Not corrected for ties.

Lampiran 7. Hasil Analisis Uji *Mann Whitney* Pada reseptor 7BQY**Test Statistics^a**

	Hasil Afinitas
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b

a. Grouping Variable: Senyawa

b. Not corrected for ties.