

**PREDIKSI AKTIVITAS ANTI SARS-COV-2 SENYAWA  
TURUNAN FLAVONOID DARI TANAMAN SAGE (*Salvia officinalis* L.)  
TERHADAP RESEPTOR MAIN PROTEASE (6M2N) SECARA *IN SILICO***

**SKRIPSI**

**Oleh:**

**OCTAVIA PRAMISTI**

**NIM. 17930053**



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

**PREDIKSI AKTIVITAS ANTI SARS-COV-2 SENYAWA  
FLAVONOID DARI TANAMAN SAGE (*Salvia officinalis* L.) TERHADAP  
RESEPTOR MAIN PROTEASE (6M2N) SECARA *IN SILICO***

**SKRIPSI**

**Diajukan Kepada:**

**Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan**

**Universitas Islam Negeri 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**

**PREDIKSI AKTIVITAS ANTI SARS-COV-2 SENYAWA  
FLAVONOID DARI TANAMAN SAGE (*Salvia officinalis* L.) TERHADAP  
RESEPTOR MAIN PROTEASE (6M2N) SECARA *IN SILICO***

**SKRIPSI**

**Oleh:**

**OCTAVIA PRAMISTI**

**NIM 17930053**

**Telah diperiksa dan disetujui pada:**

**Tanggal 14 Desember 2021**

**Dosen Pembimbing I**



**Prof. Dr. apt. Roihatul Muti'ah, S.F., M.Kes.**  
**NIP.19800203200912 2003**

**Dosen Pembimbing II**



**apt. Alif Firman F, S.Farm., M.Biomed**  
**NIP. 19920607 201903 1 017**

**Mengetahui**

**Ketua Program Studi Farmasi**



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

**NIP. 19761214 200912 1 002**

**PREDIKSI AKTIVITAS ANTI SARS-COV-2 SENYAWA  
FLAVONOID DARI TANAMAN SAGE (*Salvia officinalis* L.) TERHADAP  
RESEPTOR MAIN PROTEASE (6M2N) SECARA *IN SILICO***

**SKRIPSI**

Oleh :  
**OCTAVIA PRAMISTI**

**NIM. 17930053**

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

**Tanggal : 15 Desember 2021**

**Ketua Penguji : apt. Alif Firman Firdausy, S. Farm, M. Biomed (.....)**  
**NIP. 19920607 201903 1 017**

**Anggota Penguji 1. apt. Yen Yen Ari Indrawijaya, M. Farm. Klin.**  
**NIP. 19930130 20180201 2 203**

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

**3. apt. Hajar Sugihantoro, S.Farm., M.P.H**  
**NIP.19851216 20160801 1 086**

**Mengetahui,**

**Ketua Program Studi Farmasi**



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

**NIP. 19761214 200912 1 002**

## PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Octavia Pramisti

NIM : 17930053

Program studi : Farmasi

Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan


Judul Penelitian : Prediksi Aktivitas Anti SARS-CoV-2 Senyawa Flavonoid dari Tanaman Sage (*Salvia officinalis* L.) Terhadap Reseptor Main Protease (6M2N) Secara *In Silico*

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar – benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan 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, 22 Desember 2021

Yang membuat pernyataan,



  
Octavia Pramisti  
NIM. 17930053

## MOTTO

**Berbuat baik kepada orang tua, terutama kepada Ibu**

**Don't judge a book by its cover**

وَعِنْدَهُ مَفَاتِيحُ الْغَيْبِ لَا يَعْلَمُهَا إِلَّا هُوَ وَيَعْلَمُ مَا فِي الْبَرِّ وَالْبَحْرِ وَمَا تَسْقُطُ مِنْ وَرَقَةٍ إِلَّا يَعْلَمُهَا وَلَا حَبَّةٍ فِي ظِلْمَتِ الْأَرْضِ وَلَا رَطْبٍ وَلَا يَابِسٍ إِلَّا فِي كِتَابٍ مُبِينٍ

**....Tidak ada sehelai daun pun yang gugur yang tidak diketahui-Nya....**

**– Q.S Al-An'am Ayat 59**

**Langkah awal dari keberhasilan adalah BANGUN !**

**Hari ini harus lebih baik dari hari kemarin**

**The best way to get started is to quit talking and begin doing**

**– Walt Disney**

## Lembar Persembahan

Alhamdulillahirobbil'aalamiin

Puji syukur kepada Allah SWT, atas segala limpahan rahmat dan hidayah-Nya, serta perlindungan, sehingga hamba selama proses menuntut ilmu hingga dapat selesai dan dapat menyelesaikan tugas akhir dengan baik. Serta sholawat dan salam selalu dipanjatkan kepada Nabi Muhammad SAW.

Dengan rasa syukur yang besar dari dalam diri ini, maka akan kupersembahkan tulisan karya ini kepada

1. Kedua orang tuaku, Bapak Suprayitno yang selalu menjadi panutanku dalam menjalankan kerasnya hidup ini dan Ibu Praptini yang selalu menjagaku sampai kubisa menyelesaikan studi S1 dengan baik.
2. Mbah Putri Asiyah yang selalu memberikan dukungan, doa dan dorongan untuk cucumu ini agar tidak pernah putus asa.
3. Ibu Prof. Dr. apt. Roihatul Muti'ah, S. F., M. Kes dan Bapak apt. Alif Firman Fridausy, S. Farm., M. Biomed selaku dosen pembimbing yang sangat memberikan arahan dan pengalaman yang berharga. Serta kepada Ibu apt. Yen Yen Ari Indrawijaya, M. Farm.Klin selaku dosen penguji dan Bapak apt. Hajar Sugihantoro, S. Farm., M.P.H selaku dosen penguji agama yang telah memberikan banyak masukan.
4. Bapak Prof. Dr. apt. Siswandono, M.S yang telah memberikan lisensi aplikasi Molegro Virtual Docker sehingga saya mampu menyelesaikan penelitian dengan baik.
5. Seluruh jajaran dosen dan akademisi jurusan Farmasi UIN Malang yang telah memberikan ilmunya yang berharga kepada saya.
6. Teman – teman “Piye-Piye”ku tersayang, Khalissa, Ranny, Nabila, Hida, dan Fafa yang memberikan keseruan dan menjadi pendengar keluh kesahku sehingga kehidupan selama perkuliahan dapat kulewati dengan baik dan menjadi penuh warna.
7. Teman – teman Farmasi UIN Malang 2017 terutama kelas B yang menjadi tempat diskusi selama perkuliahan. Serta teman – teman riset *in silico* COVID-19 yang memberi semangat.
8. Diriku yang telah berjuang meski banyak badai yang menghadang dan tetap berdiri hingga sekarang.
9. Semua pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini yang tidak dapat saya sebutkan satu per satu

## KATA PENGANTAR

*Assalamu'alaikum Wr. Wb.*

Alhamdulillah, segala puji syukur penulis haturkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmad, Hidayah serta Inayah-Nya sehingga penulis dapat menyusun proposal penelitian yang berjudul “**Prediksi Aktivitas Anti SARS-CoV-2 Senyawa Turunan Flavonoid Dari Tanaman Sage (*Salvia officinalis* L.) Terhadap Reseptor Main Protease (6M2N) Secara *In Silico***” dengan baik. Sholawat serta salam semoga tetap tercurahkan kepada junjungan kita baginda Rasulullah Muhammad SAW yang telah membawa umat manusia dari kegelapan (*jahiliyyah*) ke jalan yang terang benerang yakni agama Islam. Proposal ini merupakan salah satu syarat menyelesaikan program S1 di Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Selanjutnya penulis haturkan ucapan terima kasih seiring do'a dan harapan *jazakumullah ahsanal jaza'* kepada seluruh pihak yang telah ikut membantu dan selalu memberi dukungan untuk menyelesaikan tugas akhir ini. Terima kasih penulis haturkan kepada:

1. Prof. Dr. HM Zainuddin, selaku rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang, yang telah memberi banyak wawasan berharga selama penulis menuntut ilmu
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, S.Si., 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, S.F., M.Kes. dan apt. Alif Firman Firdausy, S.Farm., M.Biomed. selaku dosen pembimbing skripsi, yang telah banyak memberikan arahan dan pengalaman yang sangat berharga
5. Segenap jajaran dosen serta admin Program Studi Farmasi yang telah memberi arahan dan pengalaman kepada penulis.
6. Ayahanda dan ibunda tercinta yang senantiasa memberikan doa dan restunya kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini.
7. Semua pihak yang ikut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik berupa material maupun moril. Penulis menyadari bahwa dalam Menyusun skripsi ini masih terdapat kekurangan dan penulis berharap semoga skripsi ini bisa memberikan manfaat kepada para pembaca khususnya bagi penulis secara pribadi. *Aamiin Ya Rabbal Alamin.*

*Wassalamu'alaikum Wr. Wb.*

Malang, 01 Desember 2021

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN PERSETUJUAN</b> .....	<b>i</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>ii</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>iii</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>iv</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>vii</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>viii</b>
<b>DAFTAR SINGKATAN</b> .....	<b>ix</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1. 1 Latar Belakang .....	1
1. 2 Rumusan Masalah .....	5
1. 3 Tujuan Penelitian.....	6
1. 4 Manfaat Penelitian.....	6
1. 5 Batasan Masalah.....	6
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>8</b>
2. 1 Tanaman <i>Salvia officinalis</i> L. ....	8
2. 1. 1 Klasifikasi .....	8
2. 1. 2 Morfologi .....	9
2. 1. 3 Kandungan dan Manfaat .....	9
2. 1. 4 Aktivitas Antivirus.....	10
2. 1. 5 Senyawa Flavonoid.....	10
2. 2 Tinjauan COVID-19.....	12
2. 2. 1 Virus SARS-CoV-2 .....	13
2. 2. 2 Penyebaran dan Penularan .....	13
2. 2. 3 Struktur dan Genom.....	15
2. 3 Reseptor Main Protease (PDB ID:6M2N) .....	22
2. 4 Senyawa Pembanding (Lopinavir) .....	24
2. 5 Penambatan Molekuler (Studi <i>In Silico</i> ).....	25
2. 5. 1 Metode <i>In Silico</i> dalam Prespektif Islam.....	25
2. 5. 2 Molegro Virtual Docker.....	27
2. 6 Sifat Fisikokimia .....	27

2. 6. 1. Hukum Lima Lipinski.....	28
2. 6. 1. 1 Berat Molekul.....	29
2. 6. 1. 2 Log P .....	30
2. 6. 1. 3 Torision .....	30
2. 6. 1. 4 <i>Hydrogen Bond Atom</i> (HBA) .....	31
2. 6. 1. 5 <i>Hydrogen Bond Donor</i> (HBD) .....	31
2. 6. 1. 6 TPSA .....	31
2. 7 Ikatan Obat – Reseptor.....	32
2. 7. 1 Ikatan Kovalen .....	32
2. 7. 2 Ikatan Ionik .....	33
2. 7. 3 Ikatan Ion-Dipol dan Dipol-Dipol.....	33
2. 7. 4 Ikatan Hidrogen.....	34
2. 7. 5 Ikatan Van der Waal’s.....	34
2. 7. 6 Ikatan Hidrofobik .....	35
2. 7. 7 Transfer Mutan.....	35
2. 8 Toksisitas .....	36
2. 10 Aplikasi Penunjang .....	37
2. 10. 1 Protein Data Bank (PDB).....	37
2. 10. 2 PkCSM <i>Online Tool</i> .....	38
2. 10. 3 <i>SwissADME</i> .....	38
<b>BAB III KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS .....</b>	<b>39</b>
3. 1 Kerangka Konseptual.....	39
3. 1. 1. Bagan Kerangka Konsep .....	39
3. 1. 2. Uraian Kerangka Konseptual.....	40
3. 2 Hipotesis Penelitian.....	43
<b>BAB IV METODE PENELITIAN .....</b>	<b>44</b>
4. 1. Jenis dan Rancangan Penelitian .....	44
4. 2. Waktu dan Tempat.....	44
4. 3. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional.....	44
4. 3. 1. Variabel Bebas.....	44
4. 3. 2. Variabel Terikat.....	44

4. 3. 3. Variabel Terkontrol .....	45
4. 3. 4. Definisi Operasional .....	45
4. 4. Alat dan Bahan Penelitian .....	46
4. 4. 1. Alat Penelitian .....	46
4. 4. 2. Bahan Penelitian .....	47
4. 4. 2. 1. Senyawa Flavonoid .....	47
4. 4. 2. 2. Reseptor Main Protease (6M2N) .....	48
4. 5. Skema Kerja .....	49
4. 5. 1. Skema Kerja .....	49
4. 5. 2. Prosedur Kerja .....	50
4. 5. 2. 1. Skinning Senyawa .....	50
4. 5. 2. 2. <i>Molecular Docking</i> .....	50
4. 5. 2. 3. Prediksi Toksisitas Secara <i>In Silico</i> .....	51
4. 6. Analisis Data .....	51
<b>BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	<b>53</b>
5. 1. <i>Molecular Docking</i> dan Analisis Asam Amino .....	55
5. 2. Pengunduhan Target Protein .....	55
5. 3. Preparasi Ligan dan Reseptor .....	56
5. 4. Penentuan <i>Cavity</i> .....	60
5. 5. Penentuan Molegro Virtual Docking .....	62
5. 6. Validasi Reseptor 6M2N .....	62
5. 7. <i>Docking</i> Senyawa Flavonoid <i>Salvia officinalis</i> dan Lopinavir pada Reseptor 6M2N .....	65
5. 7. 1. Hasil <i>Docking</i> Senyawa Flavonoid <i>Salvia officinalis</i> dan Lopinavir pada Reseptor 6M2N .....	65
5. 7. 2. Hasil Interaksi Ligan dengan Asam Amino .....	68
5. 8. Prediksi Sifat Fisikokimia .....	76
5. 9. Prediksi Toksisitas .....	80
5. 10. Analisis Data Statik .....	82
5. 10. 1. Uji Normalitas .....	82
5. 10. 2. Uji Kruskall-Wallis .....	83

<b>BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>82</b>
6. 1. Kesimpulan .....	82
6. 2. Saran.....	83
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>84</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>9</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1. Ilustrasi Skema Tanaman <i>Salvia officinalis</i> L.....	9
Gambar 2.2 Struktur SARS – CoV – 2 .....	16
Gambar 2.3 Diagram skematik mekanisme masuknya COVID-19 dan replikasi virus serta pengemasan RNA virus dalam sel manusia.....	18
Gambar 2.4 Representasi skematis dari organisasi genom dan domain fungsional protein S untuk COVID-19 .....	20
Gambar 2.5 Representasi skematis dari nonstruktural genom SARS–CoV-2 ....	22
Gambar 2.5 Tampilan Molegro Virtual Docker (MVD).....	23
Gambar 4.1 Struktur (a) <i>catechin</i> , (b) <i>kaempferol</i> , (c) <i>quercetin</i> , (d) <i>luteolin</i> , (e) <i>apigenin</i> , (f)lopinavir .....	39
Gambar 4.2. Reseptor Mpro COVID-19 dengan PDB ID 6M2N.....	40
Gambar 5. 1. Hasil pengunduhan reseptor Mpro PDB ID 6M2N.....	56
Gambar 5. 2. Hasil penggambaran struktur 2D senyawa flavonoid .....	57
Gambar 5.3 Hasil penggambaran struktur 3D senyawa flavonoid .....	57
Gambar 5. 4. Reseptor 6M2N .....	59
Gambar 5.5 Hasil deteksi lubang ( <i>cavity</i> ) pada reseptor 6M2N .....	61
Gambar 5.6 Hasil visualisasi luas area pada <i>native ligand</i> di <i>cavity</i> 4 .....	61
Gambar 5.7 Hasil visualisasi 2D dan 3D <i>native ligand</i> 6M2N (3WL_401).....	75
Gambar 5.8 Hasil docking senyawa uji dan pembanding .....	75
Gambar 5.9 Hasil interaksi asam amino antara reseptor 6M2N dengan <i>native ligand</i> , senyawa uji, dan senyawa pembanding.....	72

## DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1. Klasifikasi senyawa flavonoid pada tanaman <i>Salvia officinalis</i> L.....	11
Tabel 2. 2. Klasifikasi kelas toksisitas menurut globally harmonized system.....	37
Tabel 4. 1. Parameter Uji Fisikokimia .....	45
Tabel 4. 2 Parameter Uji Sitotoksik .....	45
Tabel 4. 3 Parameter Docking.....	46
Tabel 5. 1. Hasil penentuan energi minimal (kcal/mol) senyawa flavonoid <i>Salvia officinalis</i> L. dengan MMFF94 pada aplikasi Avogadro.....	58
Tabel 5.2. Hasil <i>code</i> SMILES senyawa flavonoid tanaman <i>Salvia officinalis</i> L. dan lopinavir dengan ChemDraw Ultra 12.0.....	60
Tabel 5.3. Hasil Validasi Reseptor 6M2N .....	64
Tabel 5.4. Hasil <i>docking</i> senyawa flavonoid <i>Salvia officinalis</i> L. dan senyawa pembanding (lopinavir) dengan reseptor 6M2N .....	66
Tabel 5.5. Asam amino yang pada enzim 6M2N.....	69
Tabel 5.6. Hasil studi pendahuluan prediksi sifat fisikokimia senyawa turunan flavonoid dan obat pembanding (lopinavir) .....	77
Tabel 5.7. Prediksi toksisitas senyawa turunan flavonoid dan lopinavir menggunakan Protox Online Tool dan pkCSM Online Tool .....	80
Tabel 5.8. Hasil uji normalitas <i>Shapiro-Wilk</i> rerank score senyawa monoterpen Peppermint pada reseptor 6M2N.....	83
Tabel 5.9. Hasil uji Kruskal-Wallis rerank score senyawa turunan flavonoid tanaman <i>Salvia officinalis</i> L. pada reseptor 6M2N .....	84

## DAFTAR SINGKATAN

2019-nCoV	: 2019 novel coronavirus
2D	: 2 Dimensi
3CLpro	: 3-Chymotrypsin-Like Protease
3D	: 3 Dimensi
ACE2	: Angiotensin Converting Enzyme 2
Asn	: Asparagina
Asp	: Aspatat
BM	: Berat Molekul
CFR	: Case Fatality Rate
CoV	: Coronavirus
COVID-19	: Coronavirus Disease 19
Cys	: Sisteina
DNA	: Deoxyribonucleic Acid
Glu	: Glutamat
Gly	: Glycina
HBA	: Hydrogen Bond Acceptors
HBD	: Hydrogen Bond Donors
His	: Histidina
HR1	: Hepeptide Repeat 1
HR2	: Hepeptide Repeat 2
HSV-1	: Herpes Simplex Virus type 1
IL-1 $\beta$	: Interleukin 1 Beta
Kb	: Kilobit
Kkal	: Kilo Kalori
LD50	: Lethal Dose 50
Leu	: Leusina
LTB4	: Leukotrien B4
MERS-CoV	: Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus

Met	: Metionina
MMF94	: Merck Molecular Force Field 94
Mpro	: Main protease
mRna	: messenger RNA
MVD	: Molegro Virtual Docker
Nm	: Nanometer
ORF	: Open Reading Frame
PDB	: Protein Data Bank
PGE2	: Prostaglandin E2
PLpro	: Papain like Protease
RBD	: Receptor Binding Domain
RMSD	: Root Mean Square Deviation
SARS	: Severe Acute Respiratory Syndrome
SD	: Standar Deviasi
Ser	: Serina
Thr	: Treonina
TPSA	: Torpological Polar Surface Area
WHO	: World Health Organization

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	<i>Cavity Receptor</i> .....	96
Lampiran 2	Hasil Validasi Reseptor.....	96
Lampiran 3	Hasil <i>Docking</i> .....	98
Lampiran 4	Tabel Residu dan Jarak Asam amino.....	99
Lampiran 5	Hasil Prediksi Toksisitas.....	101
Lampiran 6	Hasil Uji Normalitas Shpriro-Wilk Rerank Score Senyawa Turunan Flavonoid Tanaman <i>Salvia officinalis</i> L. pada Reseptor 6M2N.....	103
Lampiran 7	Hasil Uji Kruskall-Wallis Rerank Score Senyawa Turunan Flavonoid Tanaman <i>Salvia officinalis</i> L. pada Reseptor 6M2N.....	104

## ABSTRAK

Pramisti, Octavia. 2021. Prediksi Aktivitas Anti SARS-CoV-2 Senyawa Turunan Flavonoid dari Tanaman Sage (*Salvia officinalis* L.) Terhadap Reseptor Main Protease (6M2N) Secara *In Silico*. Skripsi. Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Pembimbing (I) : Prof. Dr. apt. Roihatul Muti'ah, S.F., M.Kes

(II) : apt. Alif Firman Firdausy, S.Farm., M.Biomed

**Abstrak:** Wabah COVID-19 yang disebabkan oleh virus SARS-CoV-2 telah meluas hingga ke berbagai belahan dunia, tak terkecuali Indonesia. Salah satu upaya untuk mengatasi wabah ini yaitu dengan pendekatan komputasi dari tanaman herbal yang telah dilaporkan memiliki aktivitas antivirus. Beberapa penelitian senyawa turunan flavonoid dari tanaman sage (*Salvia officinalis* L.) seperti *luteolin*, *apigenin*, *quercetin*, *kaempferol*, dan *catechin* berpotensi sebagai agen antivirus lain dengan cara menghambat replikasi virus main protease (Mpro) secara *in silico*. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui potensi senyawa turunan flavonoid dari tanaman sage (*Salvia officinalis* L.) sebagai penghambat Mpro pada protein dengan PDB ID 6M2N. Melalui penelitian ini akan dilakukan prediksi fisikokimia dengan parameter hukum lima lipinski, *molecular docking*, dan uji toksisitas. Evaluasi dilakukan berdasarkan nilai *docking* menggunakan Molegro Virtual Docker 6.0. Hasil dari lima senyawa yang telah *didocking*, senyawa *kaempferol* memiliki nilai afinitas -100,632 kkal/mol. Residu asam amino Glu 166, Gly 143, Asn 142, Cys 145, dan His 41 yang didapatkan *kaempferol* paling mirip dengan senyawa pembanding (lopinavir) serta merupakan residu yang paling banyak berkontribusi dalam pembentukan ikatan hidrogen.

**Kata Kunci:** Mpro, Fisikokimia, Toksisitas, Flavonoid, dan *In silico*

## ABSTRACT

Pramisti, Octavia. 2021. A Study of Prediction Based on The Anti-SARS-CoV-2 Activity of Sage Plant (*Salvia officinalis* L.) Derivative Compounds Against The Main Protease (6M2N) *In Silico* Receptor, A Thesis, Pharmacy Study Program, Faculty of Medicine and Health Sciences, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Supervisor (I) : Prof. Dr. apt. Roihatul Muti'ah, S.F., M.Kes  
(II) : apt. Alif Firman Firdausy, S.Farm., M.Biomed

**Abstract:** Human infection coronavirus disease 2019 (COVID-19) caused by the SARS-CoV-2 virus has spread to various parts of the world, including Indonesia. One of the efforts to overcome this epidemic is by using a computational approach from herbal plants that have been reported to have antiviral activity. Several studies of flavonoid derived compounds from sage (*Salvia officinalis* L) such as *luteolin*, *apigenin*, *quercetin*, *kaempferol*, and *catechin* have the potential as antiviral agents by inhibiting the replication of the main protease virus (Mpro) in silico. The purpose of this study was to determine the potential of flavonoid derived compounds from sage (*Salvia officinalis* L) as inhibitors of Mpro on protein with PDB ID 6M2N. Through this research, physicochemical predictions with Lipinski's five law parameters, molecular docking, and toxicity tests will be carried out. The evaluation was carried out based on the docking value using Molegro Virtual Docker 6.0. The results of the five compounds that have been docked, *kaempferol* compound has an affinity value of -100.632 kcal/mol. The amino acid residues Glu 166, Gly 143, Asn 142, Cys 145, and His 41 obtained by *kaempferol* were most similar to the comparison compound (lopinavir) and were the most residues that contributed formation of hydrogen bonds.

**Keywords:** Mpro, Physicochemical, Toxicity, Flavonoid, and *In silico*.

## مستخلص البحث

براميسني ، أوكتافيا. 2021. نبوءة نشاط المضادة لـ SARS-CoV-2 لمركبات مشتقة من فلافونويد في نبات المريمية (*Salvia officinalis* L) على ضد البروتينات الرئيسية (6M2N) بشكل في السيليكون (*In silico*). البحث الجامعي. قسم الصيدلة ، كلية الطب والعلوم الصحية، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج.

المشرف : (1) الأستاذ الدكتور الصيدلي رائحة المطيعة الماجستير

(2) الصيدلي أليف فرمان الفردوسي الماجستير

**المخلص:** انتشر وباء كوفيد-19 الذي يسببه فيروس SARS-CoV-2 إلى أجزاء مختلفة من العالم ، بما في ذلك إندونيسيا. إحدى الجهود للتغلب على هذا الوباء هي استخدام المدخل الحسابي من النباتات العشبية التي تم الإبلاغ عن وجود نشاط مضاد للفيروسات له. العديد من الدراسات عن المركبات المشتقة من الفلافونويد في نبات المريمية (*Salvia officinalis* L) مثل *luteolin* ، *apigenin* ، *quercetin* ، *kaempferol* ، و *catechin* لديها إمكانات كسائر العوامل لمضادة الفيروس بطريق منع تكاثر فيروس الأنزيم البروتيني الرئيسي (*Mpro*) بشكل في السيليكون (*In silico*). كان الغرض من هذا البحث هو تحديد إمكانات المركبات المشتقة من الفلافونويد من نبات المريمية (*Salvia officinalis* L) كمانع لـ *Mpro* على البروتين مع *PDB ID 6M2N*. من خلال هذا البحث ، ستعقد نبوءة فيزيائية كيميائية باستخدام المعلمة لقانون ليبينسكي الخمسة، والإرساء الجزيئي ، واختبار السمي. إجراء التقييم بناءً على قيمة الإرساء باستخدام *Molegro Virtual Docker 6.0*. نتائج المركبات الخمسة التي تم رسوها ، مركب *kaempferol* له قيمة تقارب - 100.632 كيلو كالوري / مول. كانت بقايا الأحماض الأمينية 166 Glu و 143 Gly و 142 Asn و 145 Cys و 41 His التي تحصل عليها *kaempferol* أكثر تشابهاً مع مركب المقارنة (*lopinavir*) وكانت البقايا التي ساهمت بشكل أكبر في تكوين الروابط الهيدروجينية.

**الكلمات المفتاحية:** *Mpro* وفيزيائي كيميائي والفلافونويد وفي السيليكون (*In silico*)

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**


Kasus infeksi SARS-CoV-2 yaitu sindrom pernafasan akut parah pertama kali teridentifikasi di Wuhan, ibu kota Provinsi Hubei di China tengah pada akhir tahun 2019. Infeksi tersebut terus menyebar dan menjadi keadaan darurat di seluruh dunia, tak terkecuali di Indonesia. Kasus ini pertama kali dilaporkan di Indonesia pada tanggal 2 Maret 2020 yang terus menunjukkan peningkatan hingga akhir tahun 2020 dengan lebih dari 500.000 kasus dan 17.000 diantaranya menyebabkan kematian (WHO, 2020). Penyakit infeksi SARS-CoV-2 atau dikenal dengan *coronavirus disease 2019* (COVID-19) telah menjadi ancaman besar bagi kesehatan global (Lan, *et al.*, 2020). Salah satu ancaman tersebut berdampak pada calon jamaah haji yang akan berangkat pada tahun 2020. Terdapat sekitar 221.000 calon jamaah haji asal Indonesia tahun 2020 yang gagal berangkat ke Arab Saudi (BBC, 2020)

Sebelum terjadinya wabah COVID-19, ada 6 jenis coronavirus yang dapat menginfeksi manusia salah satunya adalah coronavirus yang menjadi etiologi COVID-19 (Susilo, 2020). Infeksi SARS-CoV-2 dapat menular pada manusia dan beberapa vertebrata lainnya dimana dapat menyebabkan gangguan pernapasan, enterik, hepar, dan neurologis (Jiang, 2020). Penyebaran virus dari manusia ke manusia terjadi karena kontak dekat dengan orang yang terinfeksi, terkena batuk,

bersin, tetesan pernapasan atau aerosol. Aerosol ini dapat menembus tubuh manusia, khususnya paru-paru melalui pernafasan (Shereen, 2020).

Menurut WHO, hingga saat ini belum ada obat yang secara spesifik direkomendasikan untuk mengobati COVID-19. Belum ditemukannya terapi dengan mekanisme yang tepat untuk mengatasi SARS-CoV-2 sehingga harus diwaspadai karena penularan yang relatif cepat, memiliki tingkat mortalitas yang tidak dapat diabaikan, dan belum adanya terapi definitif (Silva et al., 2020).

Pendekatan lain yang dapat digunakan adalah menggunakan media komputasi pada tanaman – tanaman herbal. Al – Qur’an juga sering menggunakan tanaman sebagai bukti kekuasaan Allah SWT dan perumpamaan untuk menyampaikan suatu hikmah. Selain itu, ada beberapa tumbuh-tumbuhan dan juga buah-buahan yang disebutkan secara jelas namanya dalam Al – Qur’an. Penyebutan nama tumbuh-tumbuhan dan buah-buahan dalam Al – Qur’an tentu bukan tanpa maksud, pasti ada sebab dan tujuan dalam penyebutan tersebut (Fauzan, 2019). Selain itu, manfaat penyebutan tumbuhan tersebut juga berimplikasi pada pengetahuan manusia dalam memperhatikan serta menjaga kesehatan jiwa dan raganya. Sesuai dengan Firman Allah SWT dalam QS. Asy-Syu’ara’ ayat 7 yang berbunyi :


 أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

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

Menurut Shihab (2002), dengan berusaha merenungi dan mengamati mengamati ciptaan Allah SWT di bumi ini, niscaya manusia akan dapat merasakan manfaat dari tumbuh-tumbuhan yang ada di bumi. Pada dasarnya semua penyakit berasal dari Allah SWT, maka hanya dengan seizin Allah penyakit tersebut dapat disembuhkan. Akan tetapi, kesembuhan tersebut tentunya harus diiringi dengan ikhtiar yang maksimal (Hestina, 2020). Tanaman – tanaman yang ada di bumi berguna bagi manusia dan dapat dijadikan sebagai tanaman obat untuk mengobati berbagai macam penyakit. Dimana hal tersebut tentu sangat berguna bagi keberlangsungan hidup masyarakat luas.

Masyarakat di berbagai penjuru dunia telah mengenal banyak tanaman obat yang berkhasiat termasuk dalam menyembuhkan penyakit infeksi. Beberapa dari itu tanaman yang memiliki sifat antivirus seperti mint yang tersebar di belahan dunia dapat dijadikan sebagai titik awal untuk mencari kandidat senyawa bioaktif yang berpotensi untuk mengatasi SARS-CoV-2. Pengobatan herbal dianggap sebagai salah satu pendekatan alternatif dalam pengobatan COVID-19 (Ang, 2020).

Salah satu tanaman yang dipercaya memiliki aktivitas antivirus ialah tanaman sage (*Salvia officinalis* L). *Salvia officinalis* L merupakan tanaman herbal yang mulai dikenal dan dimanfaatkan di Indonesia sebagai bumbu masak dan alternatif pengobatan. Di Eropa dan Cina, ekstrak dan minyak esensial tanaman sage telah banyak digunakan untuk berbagai aplikasi seperti makanan, kosmetik maupun keperluan industri farmasi. *Salvia officinalis* L. dilaporkan memiliki efek antibakterial, fungisidal, virustatik dan astrigenia (Slipranata, 2016). Tanaman ini mampu menghambat replikasi intraseluler HSV-1 dan dapat mengganggu langkah

perlekatan virus (Santoyo, 2012) serta menunjukkan aktivitas inaktivasi virus terhadap vesicular stomatitis VSV dengan cara mengambat replikasi virus (Sharma, 2020).

*Salvia officinalis* L. memiliki kandungan seperti alkaloid, karbohidrat, asam lemak, turunan glikosidik (misalnya, glikosida jantung, glikosida flavonoid, saponin), senyawa fenolik (misalnya kumarin, flavonoid, tanin), poli asetilen, steroids, dan terpen atau terpenoid (misalnya, monoterpenoid, diterpenoid). Beberapa flavonoid seperti *chlorogenic acid*, *asam ellagic*, *epicatecin*, *epigallocatechin gallate*, *quersetin*, *rosmarinic acid*, *rutin*, *apigenin* dan *luteolin-7-glukosida*, serta beberapa komponen volatil seperti *borneol*, *cineole*, dan *kaemferol* telah diidentifikasi dalam tanaman *Salvia Officinalis* (Ghorbani, 2017). Komponen flavanoid yang cukup melimpah dalam tanaman *Salvia officinalia* L. seperti contoh *quersetin* yang ditemukan dapat menghambat protease SARS-CoV (Velickovic, 2006 dan Polansky, 2020). *Quersetin* menjadi agen anti virus untuk demam berdarah, influenza dan flu burung strain H5N1 (Ganeshpurkar, 2017 dan Vijayakumar, 2020).

SARS CoV-2 memiliki salah satu enzim yang penting dalam menentukan kelangsungan hidupnya, yaitu Main protease (Mpro) atau 3-chymotrypsin-like protease (3CLPro) dengan memediasi replikasi dan transkripsi protein-protein pada virus. Mpro mampu membelah poliprotein di sebelas situs berbeda untuk menghasilkan berbagai protein non-struktural yang penting dalam replikasi virus (Rathnayake, 2020). Pentingnya peran Mpro ini menjadikannya salah satu target penting dalam mendesain antivirus COVID-19. Inhibisi Mpro (PDB ID 6M2N)

akan menyebabkan terganggunya replikasi dan transkripsi protein non struktural virus, sehingga mengakibatkan kematian virus (Jin, *et al.*, 2020). Pentingnya Mpro dalam proses replikasi dan transkripsi virus dapat menjadikan Mpro sebagai target obat untuk anti SARS-CoV-2. Mpro PDB ID 6M2N diperlukan untuk pematangan proteolitik poliprotein dan replikasi virus. Oleh karena itu, mereka telah diusulkan sebagai target terapi potensial dalam mengobati penyakit virus. Menghambat aktivitas enzim Mpro dianggap sebagai salah satu target terapi yang paling ditandai untuk coronavirus (Su, 2020).

Berdasarkan potensi senyawa – senyawa flavanoid yang telah disebutkan sebelumnya, peneliti bermaksud untuk mempelajari aktivitas *luteolin*, *apigenin*, *quersetin*, *kaempferol*, dan *catechin* dalam menghambat protein Mpro yang berkaitan dengan replikasi virus SARS-CoV-2 secara *in silico*. Aktivitas antivirus SARS-CoV-2 oleh senyawa – senyawa tersebut akan dikaji melalui penambatan molekul terhadap protein Mpro (6M2N). Sedangkan sifat fisikokimia senyawa – senyawa dalam tanaman *Salvia Officinalis* L. akan dianalisis menggunakan *SwissADME*.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini berdasarkan uraian diatas ialah :

1. Apakah kandungan senyawa flavonoid pada tanaman sage (*Salvia officinalis* L.) mempunyai sifat fisikokimia yang memenuhi hukum lima lipinski secara *in silico*?
2. Bagaimana prediksi toksisitas senyawa flavonoid pada tanaman sage (*Salvia officinalis* L.) secara *in silico*?

3. Apakah kandungan senyawa flavonoid pada tanaman sage (*Salvia officinalis* L.) memiliki aktivitas anti virus yang ditujukan dengan ikatan reseptor 6M2N sebagai terapi SARS-CoV-2 secara *in silico*?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian pada penelitian ini sebagai berikut :

1. Memprediksi sifat fisikokimia senyawa turunan flavonoid tanaman sage (*Salvia officinalis* L.) dengan parameter hukum Lima Lipinski secara *in silico*.
2. Memprediksi toksisitas senyawa turunan flavonoid tanaman sage (*Salvia officinalis* L.) secara *in silico*.
3. Mengetahui aktivitas antivirus senyawa turunan flavonoid tanaman sage (*Salvia officinalis* L.) yang ditujukan dengan ikatan reseptor 6M2N sebagai terapi SARS-CoV-2 secara *in silico*.

### 1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini yaitu sebagai bukti ilmiah tentang aktivitas senyawa flavanoid sebagai antivirus melalui reseptor Mpro dengan PDB ID: 6M2N dan sebagai dasar penelitian lanjutan untuk mengembangkan sediaan obat tradisional, khususnya untuk mengembangkan fitofarmaka antivirus yang memanfaatkan tanaman sage.

### 1.5 Batasan Masalah

Batasan penelitian ini ialah sebagai berikut :

1. Senyawa yang digunakan adalah golongan flavanoid (*luteolin*, *apigenin*, *quersetin*, *kaempferol*, dan *catechin*).

2. Protein target yang digunakan dalam simulasi berbasis komputer adalah protein Main protease (6M2N).
3. Software online yang digunakan adalah SwissADME, PubChem, dan Protein Data Bank.
4. Metode *in silico* antara senyawa golongan flavanoid dengan reseptor target menggunakan Molegro Virtual Docker 6.
5. Parameter *molecular docking* berupa *rerank score*, nilai RMSD, ikatan hidrogen, ikatan sterik, dan jarak ikatan.
6. Parameter kelas toksisitas LD50, *skin sensitization*, *Ames toxicity* dan *Hepatotoxicity* menggunakan pkCSM *online tools*.
7. Parameter prediksi sifat fisikokimia berupa Berat Molekul (BM), logaritma koefisien partisi (Log P), *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA), *Hydrogen Bond Donors* (HBD), *Topological Polar Surface Area* (TPSA), dan jumlah ikatan atom yang dapat berotasi (Torsion) menggunakan aplikasi SwissADME.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Tanaman *Salvia officinalis* L.**

Tanaman sage merupakan tanaman herbal yang belum banyak dikenal dan dimanfaatkan di Indonesia untuk alternatif pengobatan. Di Eropa dan Cina, ekstrak dan minyak esensial tanaman sage telah banyak digunakan untuk berbagai aplikasi seperti makanan, kosmetik maupun keperluan industri farmasi. Secara tradisional sage telah banyak digunakan untuk pengobatan seperti penanganan peradangan pada mulut dan tenggorokan, antimutagenik untuk penanganan kanker, astrigensia, antibakterial, fungisidal, dan antivirus (Slipanarta, 2016).

##### **2.1.1 Klasifikasi**

Tanaman *Salvia officinalis* L. dapat ditemukan di Eropa sekitar Mediterania, di Asia Tenggara, Asia Tengah dan Amerika Selatan. Klasifikasi *Salvia officinalis* L. adalah sebagai berikut (Altindal, 2016):

Kingdom: Plantae

Divisi: Magnoliophyta

Kelas: Magnoliopsida

Famili: Lamiaceae

Genus: *Salvia*

Spesies: *Salvia officinalis* L.



Gambar 2. 1. Ilustrasi Skema Tanaman *Salvia officinalis* L.

### 2. 1. 2 Morfologi

Tanaman *Salvia officinalis* L. mampu hidup sepanjang tahun. *Salvia officinalis* L. dibudidayakan dalam waktu singkat, umumnya dimulai dari Mei dan sebelum berbunga atau pada awal berbunga. Turunan minyak atsiri dalam daun *Salvia officinalis* L. berada pada kadar tertinggi sebelum berbunga. Karena itu, daun dipetik pada bulan Mei atau Juni sebelum berbunga. *Salvia officinalis* L. Memiliki sifat aromatik, panjang tanaman ini bervariasi antara 40 - 100 cm. Daun sage memiliki diameter 1-4 cm, panjang 4-10 cm, dan berbentuk lonjong. Tepinya tajam, berwarna hijau-abu-abu, berpilin, dan pahit. Ekskresi bau aromatik ditemukan pada area permukaan bawah daun. Bunganya berwarna keungu – unguan. Setiap kelompok bunga menghasilkan 2–10 bunga atau jarang 40 bunga. Bunga daun *Salvia officinalis* L. mengandung organ jantan dan betina atau hanya organ betina (Altindal, 2016).

### 2. 1. 3 Kandungan dan Manfaat

*Salvia officinalis* L. telah digunakan untuk tujuan medis selama ribuan tahun. Tanaman ini telah digunakan untuk banyak keluhan (misalnya, insomnia, campak, penyakit menular seksual, cacing) dan memiliki latar belakang sejarah

sejak zaman Yunani dan Romawi kuno. Sage digunakan untuk tujuan pengobatan terhadap gatal pada periode Ebers Papyrus (1500 SM). Itu juga digunakan untuk nyeri persalinan, sakit perut, batuk, suara serak, keringat, dan kontraksi. Tanaman ini mengandung senyawa flavonoid yang tersebar luas pada bagian tanaman seperti akar, bunga, daun, dan batang (Altindal, 2016).

Tanaman *Salvia officinalis* L. secara umum diketahui memiliki lebih dari 120 komponen yang telah diidentifikasi. Komponen utama dalam minyak *Salvia officinalis* L. adalah *cineole* (55 - 62%), *camphor* (8,8 - 25%) dan *thujones* ( $\alpha$ -thujone 1,2 – 3,3% dan  $\beta$ -thujone 0,9-9,9%) (Hamdpour, 2014 dan Darwish, 2013). *Salvia officinalis* L. merupakan sumber alami flavonoid (11%) misalnya, *luteolin*, *apigenin*, *quersetin*, *kaempferol*, dan *catechin* yang memiliki antioksidan kuat. Tanaman *Salvia officinalis* L. juga memiliki kandungan lain seperti *hydroxycinnamic acid derivates* (3,5%), *phenolic diterpenes* (0,35%), dan *triterpenes* (0,4 – 0,18%) (Altindal, 2016).

#### **2. 1. 4 Aktivitas Antivirus**

Tanaman *Salvia Officinalis* L. telah banyak dilaporkan memiliki aktivitas antivirus. Sebagai tanaman antivirus, *Salvia officinalis* L. mampu menghambat replikasi intraseluler HSV-1 dan, dapat mengganggu langkah perlekatan virus (Santoyo, 2012) serta menunjukkan aktivitas inaktivasi virus terhadap vesicular stomatitis virus VSV dengan cara menghambat replikasi virus (Sharma, 2020).

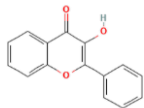
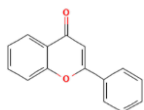
#### **2. 1. 5 Senyawa Flavonoid**

Senyawa flavonoid termasuk dari salah satu kelompok metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman. Senyawa flavonoid

dilihat dari strukturnya memiliki dua cincin aromatik yang diikat oleh tiga atom karbon yang dapat membentuk cincin ketiga (Zirconia, 2015). Uji warna yang digunakan adalah metode shinoda dan pew. Fraksi eluen diuji dengan menggunakan serbuk magnesium dan serbuk zink dan ditetaskan dengan HCl pekat lalu dilakukan metode kromatografi lapis tipis kemudian terjadi perubahan warna menjadi merah tua, diduga yang terjadi karena atom  $Mg^{2+}$  atau  $Zn^{2+}$  membentuk kompleks dengan senyawa flavonoid (Ritna, 2016).

Flavonoid didefinisikan sebagai senyawa alami penting ditandai dengan struktur fenolik. Secara kimia, flavonoid tersusun atas lima belas rangka karbon yang terdiri dari dua cincin benzena yang dihubungkan melalui cincin piran. Flavonoid diklasifikasikan berdasarkan struktur kimianya, tingkat oksidasi, dan pola substitusi cincin piran heterosikliknya yang juga dikenal sebagai cincin C. Klasifikasi senyawa individu dalam setiap kelas didasarkan pada substitusi cincin benzena (cincin A dan B) (Liskova, 2021). Tabel 2.1 memberikan gambaran tentang klasifikasi dan nama senyawa flavonoid pada tanaman *Salvia officinalis* L.

Tabel 2.1 Klasifikasi senyawa flavonoid pada tanaman *Salvia officinalis* L.

Klasifikasi Flavonoid pada Tanaman <i>Salvia officinalis</i> L.	Struktur Utama	Senyawa
Flavonols		<i>Kaempferol, quercetin, dan catechin</i>
Flavone		<i>Apigenin dan luteolin</i>

Flavon dan flavonol mengandung jumlah terbesar senyawa, yang mewakili sebagian kecil flavonoid, yaitu kategori 2-benzoyl-pyrone. Flavanon dan flavanonol

memiliki ikatan jenuh C , dan sering ditemukan dengan flavon dan flavonol pada tanaman. Flavonol banyak tersebar dalam tumbuhan baik sebagai pigmen antosianin dalam petal maupun dalam daun tumbuhan tingkat tinggi. Perbedaan antara flavon dan flavonol adalah pada flavon tidak ditemukannya gugus hidroksil pada atom C-3 (Arifin, 2018).

Flavonoid merupakan metabolit sekunder tanaman yang bertanggung jawab atas warna, rasa, dan juga terkait dengan aktivitas farmakologi tanaman. Flavonoid memiliki kemampuan antibakteri, antioksidan, antikanker, antiinflamasi, dan imunomodulator yang signifikan. Selain itu, flavonoid mengerahkan kapasitas antivirus yang kuat dalam berbagai patologi. Lebih penting lagi, flavonoid menunjukkan aktivitas antivirus dan imunomodulator terhadap virus corona. Oleh karena itu, sifat antivirus dari flavonoid mungkin berlaku juga dalam pandemi COVID-19 saat ini. Selain itu, aktivitas biologis flavonoid menentukan sebelumnya untuk menjadi efektif juga dalam hal modulasi jalur inflamasi dan kekebalan patologi terkait SARS-CoV-2 (Liskova, 2021).

## **2. 2 Tinjauan COVID-19**

COVID-19 kependekan dari corona virus disease-19. COVID-19 adalah penyakit yang disebabkan oleh virus *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2* (SARS-CoV-2) yang muncul awal Desember tahun 2019 di Wuhan, China. Sifat virus corona tersebut mudah menginfeksi manusia dan mudah menyebar hampir keseluruhan penjuru dunia. Oleh karena itu terjadilah wabah (pandemi) COVID-19 (Parwanto, 2021).

### **2. 2. 1 Virus SARS-CoV – 2**

SARS-CoV-2 merupakan virus RNA, genus virus beta-coronavirus dengan ukuran 29,9 kb yang berselubung dan berantai tunggal. Selain itu, gen penyandi protein SARS-CoV-2 masing-masing memiliki kesamaan urutan 79,5% dan 51% dengan SARS-CoV dan MERS-CoV. Virus SARS-CoV-2 menggunakan reseptor Angiotensin-Converting Enzyme 2 (ACE2) untuk entri seluler, mirip dengan SARS-CoV (Lotfi, 2020). Terdapat enam jenis virus yang tergabung dalam coronavirus, yaitu alphacoronavirus 229E, alphacoronavirus NL63, betacoronavirus OC43, betacoronavirus HKU1, *Severe Acute Respiratory Illness Coronavirus* (SARS-CoV), dan *Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus* (MERS-CoV) yang mampu menginfeksi manusia (Susilo, 2020).

Coronavirus menjadi bagian dari keluarga besar virus yang menyebabkan penyakit yang terjadi pada hewan ataupun manusia. Manusia yang terjangkit virus tersebut akan menunjukkan tanda-tanda penyakit infeksi saluran pernapasan mulai dari flu sampai yang lebih serius, seperti *Middle East Respiratory Syndrome* (MERS) dan *Severe Acute Respiratory Syndrome* (SARS) atau sindrom pernapasan akut berat. Coronavirus sendiri jenis baru yang ditemukan manusia sejak muncul di Wuhan, China pada Desember 2019, dan diberi SARS-CoV-2. Sehingga, penyakit ini disebut dengan COVID-19 (Nasution, 2021).

### **2. 2. 2 Penyebaran dan Penularan**

Virus corona merupakan zoonosis, sehingga terdapat kemungkinan virus berasal dari hewan dan ditularkan ke manusia. Pada COVID-19 belum diketahui dengan pasti proses penularan dari hewan ke manusia, tetapi data filogenetik

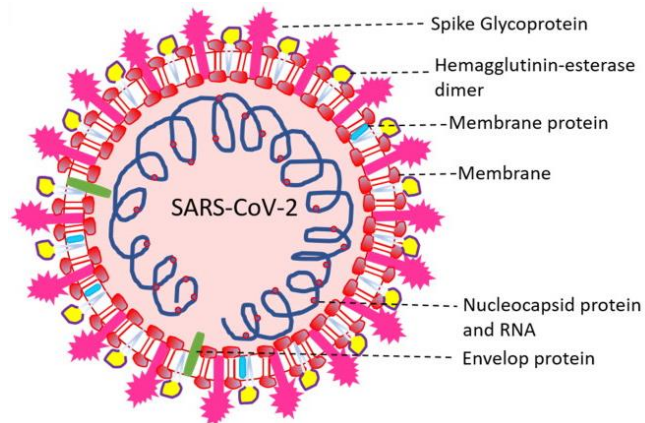
memungkinkan COVID-19 juga merupakan zoonosis. SARS-CoV-2 dapat menyebar baik melalui cara langsung (droplet dan penularan dari manusia ke manusia) dan melalui kontak tidak langsung (benda yang terkontaminasi dan penularan melalui udara). Penularan ini terjadi umumnya melalui droplet dan kontak dengan virus kemudian virus dapat masuk ke dalam mukosa yang terbuka. Suatu analisis mencoba mengukur laju penularan berdasarkan masa inkubasi, gejala dan durasi antara gejala dengan pasien yang diisolasi. Analisis tersebut mendapatkan hasil penularan dari 1 pasien ke sekitar 3 orang di sekitarnya, tetapi kemungkinan penularan di masa inkubasi menyebabkan masa kontak pasien ke orang sekitar lebih lama sehingga risiko jumlah kontak tertular dari 1 pasien mungkin dapat lebih besar (Handayani, 2020).

Alat pelindung diri (APD) juga bisa menjadi sumber infeksi airborne. Seperti disebutkan sebelumnya, penyebaran SARS-CoV-2 dari orang ke orang seharusnya terjadi terutama melalui tetesan pernapasan, ketika pasien batuk, bersin, atau bahkan berbicara atau bernyanyi. Tetesan biasanya tidak dapat melintasi lebih dari enam kaki (hampir dua meter) dan tetap di udara untuk waktu yang terbatas. Namun, SARS-CoV-2 tetap utuh dan menular dalam tetesan (berdiameter kurang dari lima mikron) dan dapat melayang di udara hingga tiga jam. Oleh karena itu, isolasi udara, ventilasi ruangan, dan aplikasi disinfektan yang tepat (terutama di toilet) dapat membatasi penyebaran virus secara aerosol. Laporan gabungan WHO-China menunjukkan bahwa rute transmisi oral tampaknya tidak menjadi faktor penting dalam penyebaran infeksi. Perlu disebutkan bahwa penelitian terhadap sperma dan spesimen testis pasien COVID-19 menunjukkan bahwa SARS-CoV-2

tidak dapat ditularkan melalui kontak seksual. Karena wanita hamil berisiko tinggi tertular COVID-19, menyelidiki kemungkinan penularan vertikal COVID-19 menjadi penting. Bayi yang dilahirkan dari ibu yang terkena dilaporkan hasil tes negatif untuk tujuh sampel duplikat darah, tinja, dan orofaring neonatus. COVID-19 dapat terjadi jika seseorang menyentuh permukaan yang terkontaminasi SARS-CoV-2, kemudian tangan bersentuhan langsung dengan selaput lendir seperti mata, hidung, atau mulut (Lotfi, 2020).

### **2. 2. 3 Struktur dan Genom**

SARS-CoV-2 berbentuk bulat, diselimuti, berdiameter sekitar 80-120 nm, dengan beberapa protein homotrimerik, terglykosilasi seperti klub yang diproyeksikan ke luar, memberi mereka penampilan luar biasa dari korona matahari, mendorong nama populer mereka, CoVs. Terlampir dalam amplop lipid bilayer dari virion adalah nukleokapsid heliks simetris yang terdiri dari kompleks +ssRNA dan protein kapsid. Struktur genom dari SARS-CoV-2 diapit oleh dua daerah panjang yang tidak di terjemahkan (UTRs) sementara itu mengkodekan beberapa protein struktural dan protein nonstruktural. Ada empat protein struktural penting — protein spike (S), membran (M), envelope (E), dan nukleokapsid (N) — yang dikodekan oleh gen struktural yang terletak di dalam wilayah genom. Selain protein struktural yang disebutkan di atas, didalam stuktur genom SARS CoV-2 terdapat ORF1a/b seperti pada gambar 2.4 yang mengkode lebih dari 16 protein non-struktural, yang bersama-sama bertanggung jawab atas aspek struktural dan fungsional (Yadav, 2021).

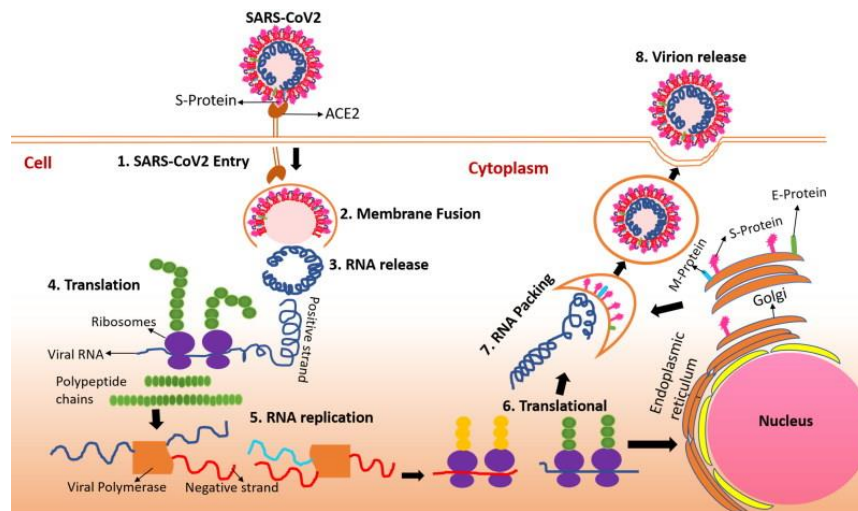


Gambar 2.2 Struktur SARS – CoV – 2 (Boopathi *et al.*, 2020)

Protein S virion adalah protein glikosilasi transmembran tipe I (150-200 kDa) yang terdiri dari 1273 asam amino, dan menampilkan berbagai tingkat konservasi di seluruh virus corona keluarga. Setelah sintesis, tiga rantai polipeptida protein S bergabung satu sama lain, membentuk kumpulan homotrimerik. Setiap protein S monomer terdiri dari subunit S1 dan S2, yang bersama-sama memiliki beberapa domain fungsional, dari N hingga C-termini sebagai berikut: *N-terminal domain* (NTD), *receptor binding motive* (RBM) yang mengandung *receptor binding domain* (RBD), furin situs pembelahan (S1/S2, yang kemungkinan akan dibelah oleh protease TMPRSS, fusion peptide, central helix, domain penghubung, domain pengulangan heptad (HR1/2), domain transmembran, dan ekor sitoplasma. Selanjutnya, setiap protein S monomer terlipat menjadi struktur tiga dimensi dengan tiga domain topologi yang berbeda—yaitu, kepala, badan, dan ekor sitoplasmik. RBD/S1 (~200 asam amino) protein S mengalami transisi konformasi dari bawah ke atas selama interaksi dengan reseptor ACE2 terikat membran, memfasilitasi pengenalan dan pengikatan sel. Selain itu, RBD secara substansial berkontribusi terhadap stabilitas mekanis keseluruhan dari lonjakan homotrimerik.

Subunit S2 dengan fusion peptide, central helix, domain penghubung, domain pengulangan heptad (HR1/2) memediasi integrasi antara virus dan membran sel inang. Pada akhirnya, interaksi antara motif pengikatan reseptor RBD subunit S1 dan reseptor ACE2 menyebabkan masuknya sel inang. Fitur lain yang luar biasa dari protein S adalah glikosilasi terkait-N substansial yang mencakup sebagian besar luas permukaan protein, dan menunjukkan perubahan dinamis yang bergantung pada konformasi. Selain perisai, n-glycans terutama pada posisi N165 dan N234 terlibat dalam modulasi konformasi RBD, yang dapat digunakan sebagai target terapi potensial. Selain itu, protein S terdiri dari N-terminus ekstraseluler terikat disulfida, domain transmembran, dan bagian terminal-C intraseluler pendek dengan palmitoylation. Protein S memainkan determinan utama dari respon imun pejamu, dan terlibat dalam patogenesis virus melalui aktivasi respon stres retikulum endoplasma (RE), dan oleh karena itu setiap perubahan mutasi dapat menyebabkan perubahan patogenesis (Yadav, 2021).

Protein membran (M) adalah glikoprotein terkait-O sekitar 25-30 kDa, dan paling melimpah di antara berbagai protein struktural, dan memiliki tiga domain transmembran yang berbeda. Protein M homodimerik berasosiasi dengan protein struktural virus lainnya, termasuk nukleokapsid, memfasilitasi perakitan molekul partikel virus serta mungkin terlibat selama patogenesis. Meskipun protein M memiliki komposisi asam amino yang beragam, tetapi secara struktural diawetkan di berbagai genera. Kecuali -CoVs yang menunjukkan glikosilasi terkait-O, protein M coronavirus lainnya mengalami glikosilasi terkait-N. Glikosilasi memainkan peran penting dalam tropisme organ dan pensinyalan IFN (Yadav, 2021).

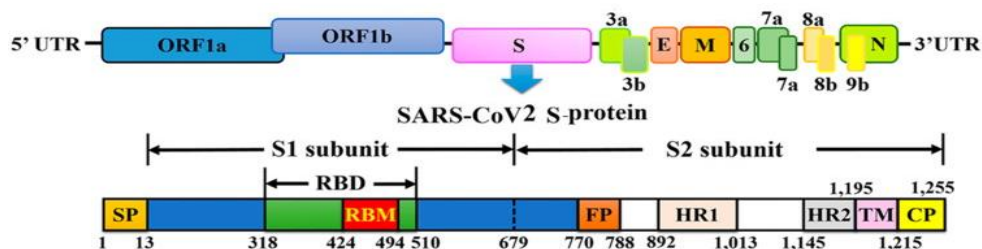


Gambar 2.3 Diagram skematik mekanisme masuknya COVID-19 dan replikasi virus serta pengemasan RNA virus dalam sel manusia (Boopathi *et al.*, 2020)

Mekanisme masuk dan replikasi virus dalam sel manusia dipetakan pada Gambar 2.3. Protein S menempel pada reseptor enzim pengubah angiotensin 2 (ACE2) yang ditemukan di permukaan banyak sel manusia, termasuk yang di paru-paru memungkinkan masuknya virus. Protein coronavirus S mengalami pembelahan proteolitik oleh protease inang (yaitu tripsin dan furin), di dua situs yang terletak di batas antara subunit S1 dan S2 (situs S1/S2). Pada tahap selanjutnya terjadi pembelahan domain S2 (situs S2') untuk melepaskan peptida fusi. Peristiwa ini akan memicu aktivasi mekanisme fusi membran. Pencarian antibodi dapat menemukan dukungan pada penargetan molekuler yang dapat memanfaatkan informasi struktural (urutan aa) dari daerah pengikatan yang ditemukan pada reseptor enzim pengubah angiotensin 2. Dengan cara ini protokol ini dapat menyediakan pengobatan untuk memblokir masuknya virus. Biasanya, sel manusia menelan virus dalam proses yang disebut endositosis. Setelah memasuki sitoplasma, kemungkinan besar COVID-19 menggunakan metode tiga langkah unik untuk fusi membran, yang melibatkan pengikatan reseptor dan perubahan

konformasi yang diinduksi dalam glikoprotein Spike (S) diikuti oleh proteolisis cathepsin L melalui protease intraseluler dan selanjutnya aktivasi mekanisme fusi membran dalam endosom. Kemudian, endosom terbuka untuk melepaskan virus ke sitoplasma, dan uncoating nukleokapsid virus (N) dimulai melalui proteasom yang biasanya dapat menghidrolisis protein endogen, tetapi mereka juga mampu mendegradasi protein eksogen seperti protein nukleokapsid SARS. Virion mengikat reseptor pada permukaan sel inang target melalui subunit S1 dan Spike dibelah oleh protease inang dan kemudian diharapkan fusi pada pH rendah antara virus dan membran target inang melalui subunit S2. Akhirnya, materi genetik virus RNA untai tunggal dilepaskan sepenuhnya ke dalam sitoplasma. Di sana terjadi proses replikasi dan transkripsi yang dimediasi oleh apa yang disebut kompleks replikasi/transkripsi. Kompleks tersebut dikodekan dalam genom virus dan terbuat dari protein non-struktural (nsp). Replikasi/transkripsi diyakini menginduksi struktur membran ganda dalam sitoplasma sel yang terinfeksi. Setelah genom RNA positif diterjemahkan untuk menghasilkan protein replika dari kerangka baca terbuka 1a/b (ORF 1a/b) (lihat Gambar 2.4). Protein ini menggunakan genom sebagai tempat untuk menghasilkan RNA negatif panjang, yang selanjutnya berfungsi sebagai tempat dalam menghasilkan genom tambahan panjang penuh. Protein virus struktural, M, S dan E disintesis di sitoplasma dan kemudian dimasukkan ke dalam retikulum endoplasma (ER) (Gambar 2.3), dan ditransfer ke retikulum endoplasma-kompartemen menengah Golgi. Sitoplasma nukleokapsid terbentuk dari enkapsidasi genom yang direplikasi oleh protein N, dan sebagai hasilnya mereka bergabung dalam membran golgi untuk merakit diri menjadi virion

baru. Akhirnya, virion baru diekspor dari sel yang terinfeksi dengan transportasi ke membran sel dalam vesikel berdinging halus dan kemudian disekresikan melalui proses yang disebut eksositosis, sehingga dapat menginfeksi sel lain (Boopathi *et al.*, 2020).



Gambar 2.4 Representasi skematis dari organisasi genom dan domain fungsional protein S untuk COVID-19 (Boopathi *et al.*, 2020)

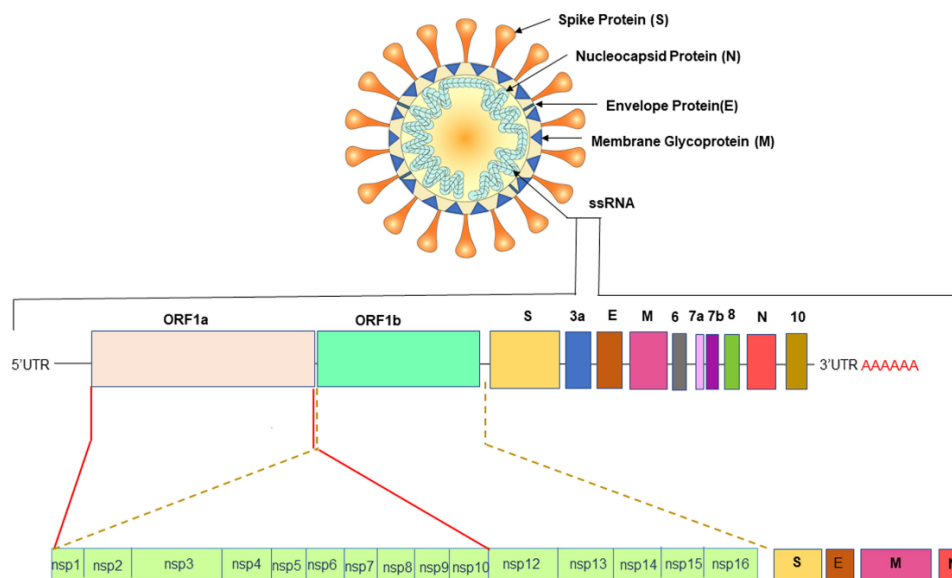
Pemrosesan poliprotein virus corona dan domain protein non-struktural (nsp) diilustrasikan untuk coronavirus terkait sindrom pernapasan akut yang parah. Pembelahan proteolitik dari poliprotein pp1a dan pp1ab difasilitasi oleh protease virus yang berada di nsp3 (PLpro) dan nsp5 (Mpro). PLpro secara proteolitik melepaskan nsp1, nsp2, nsp3 dan terminal amino nsp4 dari poliprotein pp1a dan pp1ab. Mpro secara proteolitik melepaskan nsp5–16 dan ujung karboksi nsp4 dari poliprotein pp1a dan pp1ab. Domain yang dilestarikan dan fungsi yang diketahui secara skematis digambarkan untuk nsp1–16 (V'kovski, 2021).

Ada dua ORF, ORF1a dan ORF1b dalam RNA SARS-CoV-2 yang tergabung dari protein nonstruktural, NSP merupakan protein. Polipeptida yang diterjemahkan dari ORF 1 a/b diproses menjadi sekitar NSP 1-15. NSP 1 digunakan oleh virus untuk menghindari sistem kekebalan inang, penghambatan ekspresi gen inang oleh karenanya, ini adalah protein target untuk pengembangan vaksin. NSP 2 dapat digunakan untuk replikasi virus dan fungsinya tidak begitu jelas. NSP 2 dan

3 berinteraksi untuk membentuk protease yang membelah ORF1a/b. Struktur NSP 3 menunjukkan adanya domain untuk pengikat RNA, domain PL-PRO untuk mencapai aktivitas penuh protein. NSP 3 dan NSP 4 berinteraksi dengan kofaktor lain untuk menginduksi penataan ulang membran untuk mekanisme replikasi virus dan hilangnya kompleks NSP 3 dan NSP 4 juga akan menghilangkan replikasi virus. NSP 5 adalah protease seperti sistin, 3CL-PRO yang memproses 11 situs pembelahan antara NSP 4 dan 16 selama replikasi dan juga memiliki struktur 3-domain yang dilestarikan dan residu katalitik. NSP 6 menghasilkan autofosom dari retikulum endoplasma dan terlibat dalam autofagi. Selain itu, NSP yang berbeda memiliki peran yang berbeda dalam siklus hidup virus. Misalnya, NSP 12 dalam kompleks dengan NSP7 dan NSP 8 membentuk mesin replikasi virus, NSP 9 dalam kompleks dengan NSP 8 terlibat dalam replikasi dan virulensi RNA, kompleks NSP10 - NSP16 sangat penting untuk membatasi transkrip mRNA virus untuk ترجمahan yang efisien dan untuk menghindari pengawasan kekebalan, NSP 14 dalam kompleks dengan aktivatornya NSP 10 terlibat dalam aktivitas eks nuklease, NSP13 adalah untuk aktivitas RNA, NSP14 adalah untuk aktivitas eksoribonuklease, NSP 11 dan NSP 15 terlibat dalam aktivitas endoribonuklease (Raj, 2021).

Faktor virus dan pejamu memiliki peran dalam infeksi SARS-CoV. Efek sitopatik virus dan kemampuannya mengalahkan respons imun menentukan keparahan infeksi. Disregulasi sistem imun kemudian berperan dalam kerusakan jaringan pada infeksi SARS-CoV-2. Respons imun yang tidak adekuat

menyebabkan replikasi virus dan kerusakan jaringan. Di sisi lain, respons imun yang berlebihan dapat menyebabkan kerusakan jaringan (Susilo, 2020).



Gambar 2.5 Representasi skematis dari nonstruktural genom SARS-CoV-2 (Rastogi *et al.*, 2020)

### 2. 3 Reseptor Main Protease (PDB ID:6M2N)

Coronavirus merupakan virus *Ribonucleic acid* (RNA) untai tunggal indra positif (ssRNA+) keluarga Coronaviridae. *Human Coronaviruses* HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoVOC43, dan HCoV-HKU1 telah diamati hampir sepertiga dari jenis pilek biasa. Diantara coronavirus, *Main protease* (Mpro) adalah target obat esensial untuk mengkatalisis proses poliprotein yang diterjemahkan dari RNA dan mengenali situs pembelahan tertentu (Fauzi., 2021).

Mpro merupakan salah satu komponen penting yang terdapat dalam coronavirus. Fungsi utama dari Mpro yaitu melepaskan polipeptida fungsional dari poliprotein melalui proses proteolitik. Terdapat dua poliprotein yang diperlukan untuk replikasi dan transkripsi coronavirus, antara lain pp1a dan pp1b. Poliprotein ini dikode oleh genom dari coronavirus yang terdiri dari kurang lebih 30.000

nukleotida. Selain itu, Mpro juga digunakan oleh coronavirus (SARS-CoV dan SARS CoV-2) untuk berinteraksi secara langsung dengan Angiotensin-Converting Enzyme 2 (ACE-2) sehingga dapat masuk ke dalam sel target (Fakih, 2020).

Main protease (Mpro) atau 3C-like protease (3CLpro) atau disebut juga NSP5 merupakan salah satu enzim penting dalam menentukan kelangsungan hidup CoV, dengan memediasi replikasi dan transkripsi protein-protein pada virus. Pentingnya peran Mpro ini menjadikannya salah satu target penting dalam mendesain antivirus COVID-19. Enzim ini teridentifikasi memiliki bobot molekul 33,797 kDa yang ditetapkan melalui spektroskopi massa. Efisiensi katalitiknya ( $K_{cat}/K_m$ ) pada SARSCoV-2 sebesar  $28.500 \text{ M}^{-1}\text{S}^{-1}$  (Jin, *et al.*, 2020) sedikit lebih besar dibandingkan pada SARS-CoV yaitu  $26.500 \text{ M}^{-1}\text{S}^{-1}$  (Xue, *et al.*, 2007), namun jauh lebih besar dibandingkan human rhinovirus 3C Protease yang hanya sebesar  $920 \text{ M}^{-1}\text{S}^{-1}$  (Jin, *et al.*, 2020). Mpro memiliki lebih dari 11 situs pembelahan. Inhibisi aktivitas enzim ini akan menyebabkan terhambatnya replikasi virus. Manusia tidak memiliki enzim protease yang sama dengan Mpro virus ini, maka inhibitor Mpro tidak akan menghasilkan efek toksik pada manusia (Zhang, *et al.*, 2020). Berbagai studi *in silico* telah dilakukan untuk menemukan calon molekul yang efektif menghambat main protease SARS-CoV-2 ini. Inhibisi main protease akan menyebabkan terganggunya replikasi dan transkripsi protein non struktural virus, sehingga mengakibatkan kematian virus. Jin *dkk.*, membuktikan bahwa N3 merupakan salah satu inhibitor ireversibel Mpro tersebut. Model protein enzim diperoleh melalui *homology modelling* (Jin, *et al.*, 2020). Studi *docking* direalisasikan demi mendapatkan prediksi akurat dari konformasi secara

optimal untuk kedua ligan dan target protein untuk membentuk kompleks yang stabil. Semua senyawa yang merapat pada struktur kristal protease SARS-CoV-2 3CL (3CL pro) (ID PD: 6M2N). Pose *docking* dari 3WL A, sebagai *active site* yang terkristalisasi bersama berinteraksi dengan amino residu asam dari situs aktif dan ikatan hidrogen. 3WL A yang terkristalisasi diambil sebagai ligan referensi untuk membandingkan hasil *docking* dari senyawa yang dipelajari (Pintilie, 2021).

#### **2. 4 Senyawa Pembanding (Lopinavir)**

Struktur kristal protease SARS-CoV-2 telah dirilis, memberikan dasar struktural untuk identifikasi obat yang dapat berinteraksi dengan target ini. Desain obat berbantuan komputer dapat memainkan peran-peran penting untuk mengidentifikasi obat aktif baru. Lopinavir menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap SARS-CoV-2 protease utama. Peran protein nonstruktural dari virus corona, protease utama, atau mirip Mpro yang melibatkan pemrosesan proteolitik dari poliprotein replikasi, dan sangat penting untuk replikasi dan pematangan virus; protease ini berbagi situs pembelahan umum yang serupa di antara virus corona, dan urutan penyelarasan SARS-CoV-2 Mpro menunjukkan identitas 96,1% dibandingkan dengan SARS-CoV. Coronavirus Main protease dianggap sebagai target obat yang menarik untuk pengobatan infeksi virus corona. Dalam studi pusat tunggal retrospektif pertama yang menggambarkan karakteristik klinis dari 98 rawat inap Covid-19 pasien di Korea Selatan, 99% pasien menerima Main protease, serta 82% dari pasien sakit kritis dirawat di rumah sakit di Brescia, Italia, bersaksi bagaimana obat antivirus ini telah banyak digunakan dalam praktik klinis, di seluruh dunia, untuk menghadapi penyakit dramatis ini (Meini *et al.*, 2020).

## **2. 5 *Molecular Docking* (Studi *In Silico*)**

### **2. 5. 1 Metode *In silico* (*Molecular Docking*) dalam Prespektif Islam**

*In Silico* adalah suatu istilah untuk percobaan atau uji yang dilakukan dengan metode simulasi komputer. *In Silico* sendiri telah menjadi metode yang digunakan untuk mengawali penemuan senyawa obat baru dan untuk meningkatkan efisiensi dalam optimasi aktivitas senyawa induk. Metode *in silico* dilakukan dengan melakukan *molecular docking* kandidat senyawa obat dengan reseptor yang dipilih. *Docking* adalah suatu upaya untuk menyelaraskan antara ligan yang merupakan molekul kecil ke dalam reseptor yang merupakan molekul protein yang besar, dengan memperhatikan sifat keduanya (Jensen, 2007).

Kemajuan teknologi yang sangat pesat dan pemanfaatan perangkat laptop atau *mac book* dan juga komputer menjadi tawaran yang menarik sebagai alat bantu dalam penemuan obat. Kemampuan komputasi yang meningkat secara eksponensial merupakan peluang untuk mengembangkan simulasi dan kalkulasi dalam merancang obat. *In silico* merupakan metode pendekatan pada suatu kondisi atau keadaan nyata ke dalam simulasi komputer dengan menggunakan program tertentu. Sebagaimana diketahui dalam proses penemuan obat membutuhkan waktu yang sangat lama dan biaya yang mahal, oleh karena itu kecenderungan dalam penggunaan metode *in silico* pada kimia komputasi dalam pemodelan molekul (desain obat) telah memperoleh momentum yang signifikan (Geldenhuys, 2006).

Penemuan obat baru dengan metode *in silico* ini belum ada dizaman nabi namun Allah SWT memerintahkan untuk selalu berfikir dan berilmu sehingga

dapat memahami ilmu pengetahuan baru. Salah satunya pada Al-Qur'an Surah Al-Ankabut ayat 43:

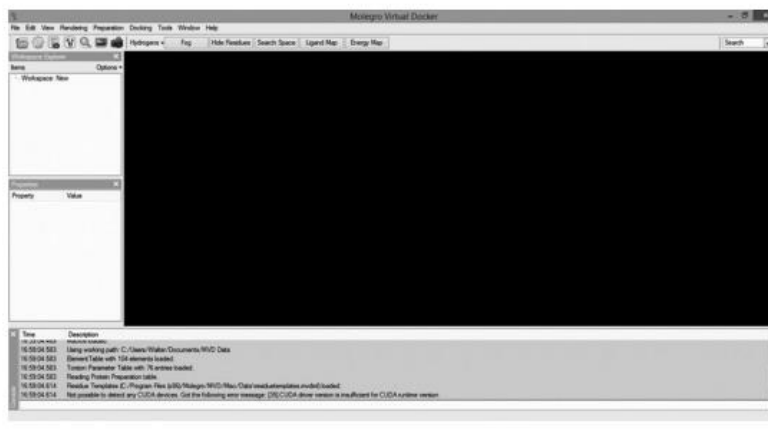
وَتِلْكَ الْأَمْثَلُ نَضْرِبُهَا لِلنَّاسِ وَمَا يَعْقِلُهَا إِلَّا  
 الْعَالِمُونَ ﴿٤٣﴾

Artinya: “Dan perumpamaan-perumpamaan ini Kami buat untuk manusia, dan tiada yang akan memahaminya kecuali mereka yang berilmu” (QS. Al-Ankabut:43).

Makna dari ayat ini menurut Tafsir Jalalain adalah (Dan perumpamaan-perumpamaan ini yang ada dalam Qur'an (Kami buat) Kami jadikan (untuk manusia; dan tiada yang memahaminya) yang mengerti akan perumpamaan-perumpamaan ini (kecuali orang-orang yang berilmu) yakni, orang-orang yang berpikir. Ilmu pengetahuan dan teknologi dalam islam dipandang sebagai kebutuhan manusia dan sebagai bagian pelaksanaan kewajiban manusia sebagai makhluk yang berakal (Muslimin, 2014).

*Molecular docking* merupakan suatu prosedur komputasi untuk memprediksi konformasi protein atau molekul asam nukleat (DNA atau RNA), dan ligan yang merupakan molekul kecil atau protein lain. Dengan kata lain, *molecular docking* mencoba untuk memprediksi struktur antarmolekul yang kompleks terbentuk antara dua atau lebih konstituen molekul (Dias, 2008).

## 2. 5. 2 Molegro Virtual Docker



Gambar 2.5 Tampilan Molegro Virtual Docker (MVD)

Molegro Virtual Docker (MVD) adalah aplikasi program simulasi *docking* protein-ligan yang memungkinkan kita untuk melakukan *docking* simulasi komputasi yang telah terintegrasi menilai akurasi *docking*. MVD memiliki grafik antarmuka pengguna yang memungkinkan pengguna untuk melakukan semua tugas yang terkait dengan simulasi *docking*. Program MVD memungkinkan kita untuk melakukan simulasi *docking* di platform terintegrasi dan intuitif. MVD dapat menangani semua langkah simulasi *docking* dengan kemampuan grafis, yang memungkinkan untuk menghasilkan angka berkualitas tinggi dari hasil *docking* (de Azevedo, 2019).

## 2. 6 Sifat Fisikokimia

Sifat fisikokimia molekul potensial obat yang merupakan indikator kualitas utama. Dalam penemuan obat, sifat fisikokimia dapat didefinisikan sebagai fisik yang nyata atribut molekul yang terkait dengan interaksi dengan media dan lingkungan yang berbeda. Parameter sifat fisikokimia dengan menggunakan hukum lima lipinski seperti berat molekul (BM), logaritma koefisien partisi oktanol/air

(Log P), jumlah ikatan antar atom yang dapat berotasi (*Torsion*); *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA), *Hydrogen Bond Donors* (HBD), dan *Topological Polar Surface Activity* (TPSA) dilakukan dengan menggunakan SwissADME. Hukum lima Lipinski digunakan untuk mengevaluasi bioavailabilitas suatu senyawa, sehingga dapat dilakukan selektivitas secara optimal. Senyawa yang menunjukkan kesesuaian dengan parameter pada hukum lima Lipinski memiliki tingkat kestabilan yang lebih baik selama pengujian. Situs <https://www.swissadme.ch/> yang diakses secara bebas mampu menampilkan prediksi dari banyak senyawa. Selain itu, dapat memberikan rangkuman analisis sehingga lebih mudah dalam tahapan analisis maupun pemilihan senyawa (Daina et al., 2017).

### **2. 6. 1. Hukum Lima Lipinski**

Banyak aspek sifat seperti obat dapat diukur melalui indeks fisikimia yang dapat dihitung secara *in silico*. Kriteria seperti *Lipinski Rule of Five* dapat digunakan untuk mengevaluasi senyawa dengan sifat seperti obat yang diprediksi. Hukum lima Lipinski atau hukum lima Pfizer (RO5) adalah aturan untuk mengevaluasi kemiripan obat atau menentukan apakah senyawa kimia dengan aktivitas farmakologis atau biologis tertentu memiliki sifat fisikokimia yang akan membuatnya menjadi obat yang aktif secara oral pada manusia (Benet *et al.*, 2016).

Obat atau senyawa akan sulit diabsorpsi dan permeabilitasnya rendah apabila (Lipinski et al, 1997):

- 1 Berat molekulnya lebih besar 500 g/mol
- 2 Mempunyai nilai log koefisien partisi oktanol/air (logP) lebih besar +5

- 3 Mempunyai ikatan-H donor, yang dinyatakan dengan jumlah gugus O-H dan N-H, lebih besar 5
- 4 Mempunyai ikatan –H aseptor, yang dinyatakan dengan jumlah atom O dan N, lebih besar 10

Analisis di atas dikenal sebagai hukum lima Lipinski karena semua nilai merupakan kelipatan dari angka lima. Hukum lima ini banyak digunakan sampai sekarang, meskipun ada beberapa senyawa yang tidak memenuhi hukum tersebut tetapi diabsorpsi cukup baik dalam tubuh yang mempunyai berat molekul lebih besar 500 g/mol. Salah satu penjelasan tentang hal ini adalah walaupun berat molekul senyawa lebih besar 500 g/mol tetapi mengandung banyak gugus – gugus fungsional yang dapat membentuk ikatan hidrogen, sehingga dapat meningkatkan kelarutan senyawa (Siswandono, 2020).

#### **2. 6. 1. 1 Berat Molekul**

Berat molekul (BM) adalah salah satu karakteristik yang paling penting dari makromolekul. Berat molekul atau biasa disebut molekul relatif merupakan berat suatu molekul dalam satuan massa atom. Berat molekul dapat dihitung dengan menjumlahkan berat seluruh atom yang menyusunnya. Berat molekul merupakan variabel yang penting sebab berhubungan langsung dengan sifat fisikokimia. Berat molekul yang lebih dari 500 g/mol tidak dapat berdifusi menembus membran sel (Syahputra *et al.*, 2011). Apabila suatu senyawa memiliki BM lebih dari 500 maka senyawa tersebut memiliki ukuran yang besar sehingga proses absorpsi akan semakin lama (Adriani, 2018).

### 2. 6. 1. 2 Log P

Penerapan aturan lipinski ini berhubungan dengan proses absorpsi atau permeabilitas terhadap lipid bilayer yang ada di dalam tubuh. Nilai log P berkaitan dengan polaritas ligan dalam pelarut lemak, minyak maupun pelarut non polar. Ligan dengan nilai log P > 5 akan berinteraksi lebih mudah menembus lapisan lipid bilayer pada membran sel dan terdistribusi luas di dalam tubuh. Hal ini menyebabkan sensitifitas ikatan ligan terhadap molekul target berkurang dan toksisitas ligan meningkat. Semakin kecil nilai log P maka ligan cenderung larut dalam air dan bersifat hidrofobik. Nilai Log P ligan tidak boleh negatif karena tidak dapat melewati membran lipid bilayer. Jika nilai Log P > 5 maka suatu senyawa akan lebih lama tinggal di lipid bilayer dan terdistribusi lebih luas di dalam tubuh sehingga selektivitas ikatan terhadap enzim target menjadi berkurang dan menyebabkan toksisitasnya menjadi lebih tinggi (Adriani, 2018). Nilai Log P yang lebih besar dari 5 akan menyebabkan senyawa obat akan cenderung memiliki tingkat toksisitas yang tinggi karena akan tertahan lebih lama pada lipid bilayer 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 jika molekul tersebut tidak dapat melewati membran lipid bilayer (Syahputra *et al.*, 2011).

### 2. 6. 1. 3 Torsion

*Torsion* adalah jumlah ikatan antar atom yang dapat berotasi atau ikatan antar atom yang dapat berputar. Potensial rotasi ini, karena rotasi ikatan A–B dan C–D terhadap ikatan B–C, adalah periodik dalam sudut rotasinya, yang

didefinisikan sebagai sudut antara proyeksi A–B dan C–D pada bidang tegak lurus B-C (Matthias, 2013).

#### **2. 6. 1. 4 *Hydrogen Bond Acceptor (HBA)***

Skala untuk kekuatan akseptor ikatan hidrogen (HBA) dapat diturunkan dengan menggunakan molekul akseptor referensi monofungsional yang umum. Fragmen rantai HBA yaitu atom di sekitar yang tidak berada dalam cincin apa pun hingga kulit ketiga. Jika atom kulit keempat berada dalam sebuah cincin, jenis atom berubah (Bauer, 2019). Parameter *hydrogen bond acceptor* memiliki jumlah atom O dan N dengan nilai  $> 10$ . HBA pada parameter hukum lima Lipinski mendeskripsikan solubilitas sebuah senyawa agar dapat menembus membran sel secara difusi pasif (Syahputra *et al.*, 2011).

#### **2. 6. 1. 5 *Hydrogen Bond Donor (HBD)***

Salah satu parameter, *hydrogen bond donor* dinyatakan dengan jumlah gugus ikatan–OH dan –NH yang dapat membentuk hidrogen antarmolekul dengan nilai lebih besar dari 5. Semakin tinggi kapasitas ikatan hidrogen, maka semakin tinggi energi yang dibutuhkan agar proses absorpsi dapat terjadi. HBD pada parameter hukum lima Lipinski mendeskripsikan solubilitas sebuah senyawa agar dapat menembus membran sel secara difusi pasif (Syahputra dkk., 2011).

#### **2. 6. 1. 6 TPSA**

*Topological polar surface area (TPSA)* atau area permukaan kutub topologi, yang memanfaatkan kontribusi kelompok fungsional berdasarkan database struktur yang besar, adalah ukuran yang nyaman untuk area permukaan kutub yang menghindari kebutuhan untuk menghitung struktur 3D ligan atau untuk

memutuskan konformasi biologis mana yang relevan atau konformasi. *Polar surface area* (PSA) atau area permukaan kutub telah menjadi deskriptor molekuler yang banyak digunakan dalam studi sifat transportasi obat seperti penyerapan usus dan penetrasi sawar darah-otak. Jumlah kontribusi terhadap luas permukaan molekul atom polar seperti oksigen, nitrogen, dan hidrogen yang melekat padanya. Sejak laporan pertama dari area permukaan kutub topologi (TPSA), telah menjadi sangat populer dalam kimia obat untuk skrining virtual dan untuk memprediksi sifat ADME (Prassana, 2009).

## **2. 7 Ikatan Obat – Reseptor**

### **2. 7. 1 Ikatan Kovalen**

Ikatan kovalen sendiri terbentuk karena atom-atom yang berikatan (secara kimia) memiliki elektronegativitas yang sama/hampir sama dan jika berinteraksi akan terjadi pemakaian elektron secara bersama-sama oleh atom-atom yang berikatan. Bentuk dalam ikatan kovalen tak terkecuali hidrocarbon, unsur-unsur penyusunnya merupakan unsur-unsur non logam. Tapi ada juga beberapa ikatan kovalen yang tidak sepenuhnya bersifat kovalen, dimana ikatan ini memiliki sifat ionic karena memiliki beda elektronegativitas yang tinggi. Senyawa kovalen pada berbagai wujud tidak dapat menghantar arus listrik. Hal ini disebabkan senyawa kovalen tidak mengandung ion-ion sehingga posisi molekulnya tidak berubah (stabil). Kebanyakan senyawa kovalen tidak dapat melarut dalam air, tetapi mudah melarut dalam pelarut organik (Pranoto, 2013).

### **2. 7. 2 Ikatan Ionik**

Ikatan ion adalah ikatan yang dihasilkan oleh daya tarik menarik elektrostatik antara ion-ion yang muatannya berlawanan. Kekuatan tarik menarik akan semakin berkurang bila jarak antar ion makin jauh, dan pengurangan tersebut berbanding terbalik dengan jaraknya. Makromolekul dalam sistem biologis yang berfungsi sebagai komponen reseptor mengandung gugus protein dan asam nukleat yang bervariasi, mempunyai gugus kation dan anion potensial tetapi hanya beberapa saja yang dapat terionisasi pada pH fisiologis. Gugus kation protein berupa gugus amino yang terdapat pada asam-asam amino seperti lisin, glutamin, asparagin, arginin, glisin, dan histidin (Siswandono dan Soekardjo, 2000)

### **2. 7. 3 Ikatan Ion-Dipol dan Dipol-Dipol**

Interaksi ion-dipol dalam makromolekul biologis terbentuk antara ion atom atau molekul dan gugus dipolar protein netral melalui ikatan hidrogen atau koordinasi. Interaksi ion (muatan)-dipol adalah gaya tarik mendasar, mirip dengan ikatan hidrogen dan interaksi Van der Waals, yang terbentuk antara ion atau molekul bermuatan dan gugus dipolar dengan muatan parsial (Sippel, 2015). Interaksi dipol-dipol adalah interaksi lemah yang muncul dari hubungan dekat dipol permanen atau induksi. Protein mengandung sejumlah besar interaksi ini, yang sangat bervariasi dalam kekuatan. Ikatan dipol juga dapat menginduksi momen dipol dalam atom atau kelompok lain. Hal ini merupakan interaksi yang menstabilkan, tetapi memiliki ikatan yang jauh lebih lemah (Raymen, 2013).

#### 2. 7. 4 Ikatan Hidrogen

Ikatan hidrogen berperan sebagai integral dalam struktur biologis, fungsi, dan dinamika konformasi dan merupakan dasar bagi kehidupan. Ikatan hidrogen masih sering dilihat sebagai interaksi elektrostatik antara atom elektronegatif A dan atom hidrogen yang terikat pada atom elektronegatif H-. Ikatan hidrogen adalah suatu ikatan antara atom H yang memiliki muatan positif parsial dengan atom lain yang bersifat elektronegatif dan mempunyai sepasang elektron bebas dengan oktet lengkap seperti O,N,F. Ikatan hidrogen terjadi pada senyawa yang memiliki gugus-gugus seperti OH...O, NH...O, NH...H, OH...N, NH...F, OH...F (Siswandono dan Soekardjo, 2000).

#### 2. 7. 5 Ikatan Van der Waal's

Interaksi kimia mendukung pembentukan molekul dari atom dan ikatan sendiri dari struktur atom dan molekul yang diperluas atau kekuatan tarik menarik pada molekul atau atom yang tidak bermuatan. Ikatan *van der Waal's* adalah paling lemah dibandingkan dengan jenis ikatan lain: kovalen, ionik, logam, dan hidrogen. Sementara ikatan *van der Waal's* individu lemah, interaksinya bersifat aditif dan dapat menjadi signifikan kekuatan mengikat untuk ansambel atom dan molekul. Deskripsi terkini dari ikatan ini tidak melibatkan penggunaan bersama elektron (Han, 2016). Meskipun begitu *van der Waal's* merupakan faktor pengikat yang cukup bermakna, terutama untuk senyawa-senyawa yang mempunyai berat molekul tinggi. Ikatan *van der waal's* terlibat pada interaksi cincin benzen dengan daerah bidang datar reseptor dan pada interaksi rantai hidrokarbon dengan makromolekul atau reseptor (Siswandono dan Soekardjo, 2000).

### **2. 7. 6 Ikatan Hidrofobik**

Hidrofobitas adalah sifat yang cukup penting dalam biologi, kimia, dan biokimia. Ini didefinisikan sebagai afinitas rendah untuk air atau bahkan penghindaran air oleh molekul atau zat tertentu. Ikatan hidrofobik merupakan salah satu kekuatan penting dalam penggabungan daerah non polar molekul obat dengan daerah non polar reseptor biologis (Siswandono dan Soekardjo, 2000). Interaksi *hydrophobic* juga memainkan peran penting dalam pembentukan dan stabilitas protein, membran biologis, dan misel. Efek hidrofobik memiliki efek signifikan pada pengenalan molekul. Ketika interaksi hidrofobik terjadi, interaksi van der Waals terjadi antara senyawa nonpolar dan beberapa perubahan spesifik dalam struktur air. Begitu molekul mendekat satu sama lain, jumlah partikel air yang bersentuhan dengannya berkurang. Selain itu, perubahan struktural ini secara signifikan berkontribusi pada energi bebas. Interaksi hidrofobik dikategorikan sebagai interaksi yang diinduksi pelarut. Dalam konteks ini, hidrofobitas dapat dicirikan oleh energi bebas asosiasi atau sebagai alternatif dengan perubahan energi bebas sebagai fungsi jarak antara sepasang molekul nonpolar dalam larutan berair (Bogunia, 2020).

### **2. 7. 7 Transfer Muatan**

Ketika suatu molekul atau gugus yang merupakan donor elektron mendekat kepada suatu molekul atau gugus yang merupakan penerima elektron, molekul donor elektron dapat mentransferkan muatannya kepada akseptor. Kejadian tersebut akan membentuk suatu kompleks transfer muatan yang mana interaksi tersebut masih termasuk dalam interaksi dipol-dipol. Potensial energi

interaksi ini sebanding dengan perbedaan antara potensial ionisasi donor dengan afinitas elektron akseptor (Siswandono dan Soekardjo, 2000).

## 2. 8 Toksisitas

Toksisitas merupakan suatu kemampuan zat kimia dalam menimbulkan kerusakan zat kimia dalam menimbulkan kerusakan pada organisme saat digunakan. Salah satu timbulnya efek toksisitas adalah pemberian dengan dosis yang salah. Toksisitas suatu senyawa dapat diketahui dengan mempelajari efek – efek dari pemaparan senyawa terhadap organisme. Uji toksisitas dapat dikelompokkan menjadi uji toksisitas umum dan khusus (Farisi, 2015).

Untuk menentukan toksisitas senyawa dapat dilakukan dengan uji *Ames Toxicity*, *Skin Sensitization*, dan *Hepatotoxicity*. Uji *Ames Toxicity* adalah metode yang digunakan secara luas untuk menilai potensi mutagenik senyawa dengan menggunakan bakteri. *Skin sensitization* yaitu uji untuk mengetahui reaksi sensitivitas pada kulit secara *in silico* (Kesuma *et al.*, 2018). Sedangkan *hepatotoxicity* merupakan uji yang dilakukan untuk mengetahui adanya toksisitas senyawa terhadap hepar secara *in silico* (Rahman *et al.*, 2018).  $LD_{50}$  digunakan untuk menilai potensi toksisitas akut suatu bahan.  $LD_{50}$  ditetapkan sebagai tanda pada pemberian suatu bahan sebagai dosis tunggal yang dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji (Priyanto, 2010). Untuk memprediksi toksisitas ( $LD_{50}$ ) per oral pada rodent dan klasifikasi toksisitas senyawa berdasarkan Globally Harmonized System (GHS) digunakan *Protox online tool* (Kesuma *et al.*, 2018).

Kelas toksisitas didefinisikan menurut sistem klasifikasi Globally Harmonized System (GHS) yang diselaraskan secara global. Nilai LD<sub>50</sub> diberikan dalam (mg/kg) (El din *et al.*, 2016):

Tabel 2. 2 Klasifikasi kelas toksisitas menurut globally harmonized system

Kategori GHS	Klasifikasi Kriteria	
	LD <sub>50</sub> (mg/kg berat badan)	Keterangan
Kelas I	LD <sub>50</sub> ≤ 5	Fatal jika tertelan
Kelas II	5 < LD <sub>50</sub> ≤ 50	Fatal jika tertelan
Kelas III	50 < LD <sub>50</sub> ≤ 300	Beracun jika tertelan
Kelas IV	300 < LD <sub>50</sub> ≤ 2000	Berbahaya jika tertelan
Kelas V	2000 < LD <sub>50</sub> ≤ 5000	Mungkin berbahaya jika tertelan
Kelas VI	LD <sub>50</sub> > 5000	Tidak beracun

## 2. 9 Aplikasi Penunjang

### 2. 10. 1 Protein Data Bank (PDB)

Research Collaboratory for Structural Bioinformatics (RCSB) Protein Data Bank (PDB) mendukung penelitian dan pendidikan ilmiah di seluruh dunia dengan menyediakan akses ke informasi beranotasi tentang struktur tiga dimensi (3D) makromolekul (misalnya, asam nukleat, protein), dan molekul kecil terkait (misalnya, obat-obatan, kofaktor, inhibitor) dalam arsip PDB. Peneliti, pendidik, dan siswa menggunakan sumber daya RCSB PDB untuk mempelajari bentuk dan interaksi molekul biologis dan implikasinya dalam biologi molekuler, kedokteran, bioteknologi, dan seterusnya. RCSB PDB mendukung pengembangan standar untuk deposisi data, representasi, anotasi, dan validasi data struktur atom yang diperoleh dari berbagai metode eksperimen. Representasi yang seragam dari data PDB sangat penting untuk menyediakan kemampuan pencarian dan analisis yang konsisten untuk semua pengguna PDB, dari pelajar pemula hingga pakar domain. Situs Web PDB RCSB menyediakan alat untuk mencari, memvisualisasikan, dan

menganalisis data PDB, termasuk eksplorasi mudah interaksi kimia yang menstabilkan makromolekul dan memainkan peran penting dalam interaksi dan fungsinya. Selain itu, sumber daya pendidikan tersedia untuk penggunaan gratis dan tidak terbatas di kelas untuk menjelajahi kimia dan biologi pada tingkat molekuler (Zardecki, 2016).

### **2. 10. 2 PkCSM Online Tool**

Pengembangan obat memiliki sifat farmakokinetik dan keamanan yang belum banyak diketahui menjadi rintangan yang signifikan. Pendekatan komputasi dapat membantu meminimalkan risiko ini. Dengan mengembangkan pendekatan baru (pkCSM) yang menggunakan tanda berbasis grafik untuk mengembangkan model prediktif sifat ADMET sebagai pengembangan obat. pkCSM berkinerja lebih efektif digunakan dalam menghemat waktu pada penelitian. Server web yang dapat diakses secara bebas (<http://structure.bioc.cam.ac.uk/pkcsm>), yang tidak menyimpan informasi yang dikirimkan kepadanya, menyediakan platform terintegrasi untuk mengevaluasi sifat farmakokinetik dan toksisitas dengan cepat (Pires *et al.*, 2015).

### **2. 10. 3 SwissADME**

Pengembangan obat melibatkan penilaian penyerapan, distribusi, metabolisme dan ekskresi (ADME) semakin awal dalam proses penemuan, pada tahap ketika dianggap senyawa banyak tetapi akses ke sampel fisik terbatas. Dalam konteks itu, model komputer merupakan alternatif yang valid untuk eksperimen. Di sini, kami menyajikan situs web SwissADME yang dapat diakses gratis sebagai kumpulan model prediktif yang cepat namun kuat untuk sifat fisikokimia,

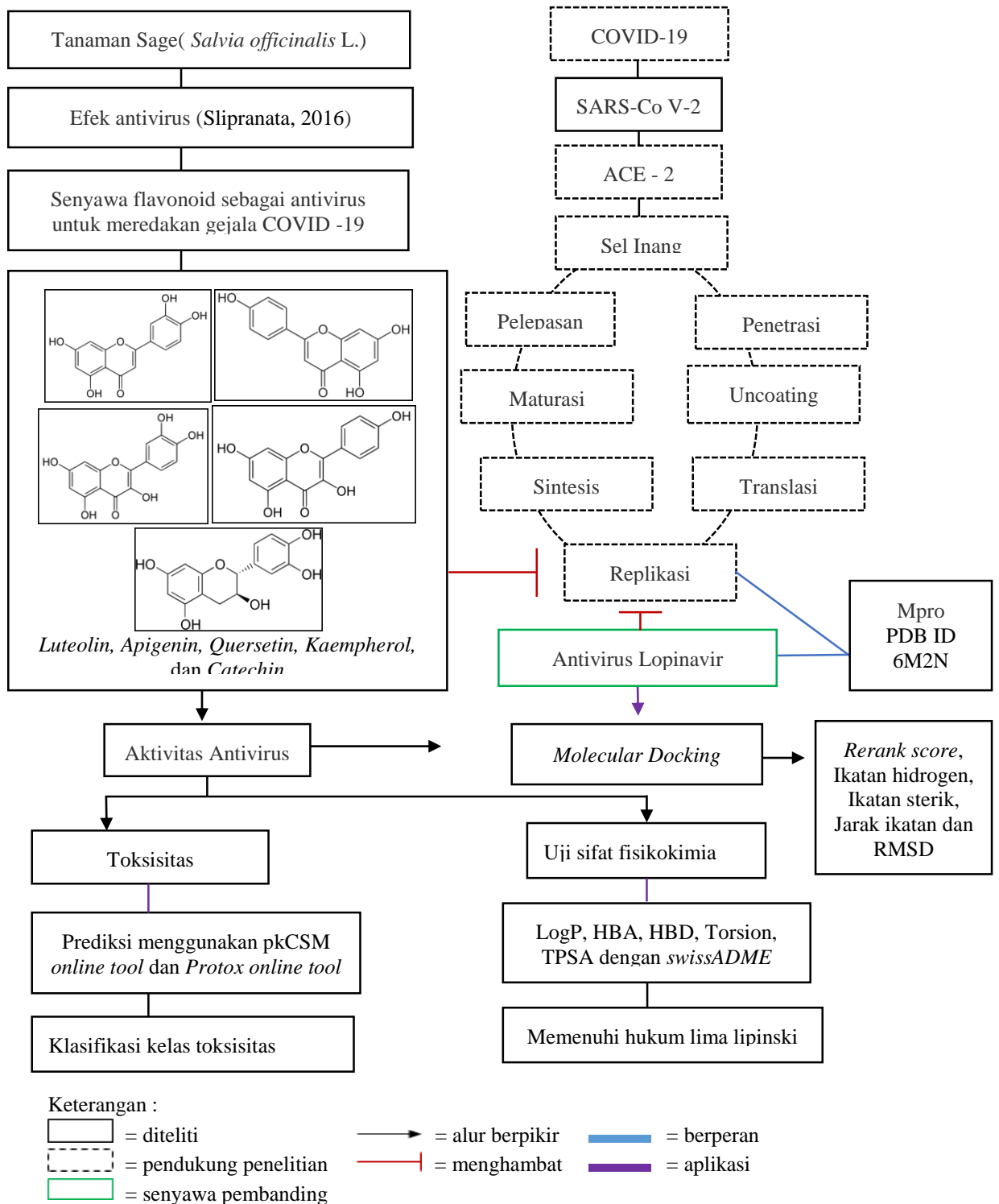
farmakokinetik, kemiripan obat, dan keramahan kimia obat. Masukan dan interpretasi yang mudah dan efisien untuk pengguna melalui situs web bebas <http://www.swissadme.ch> (Daina *et al.*, 2017).

## BAB III

### KERANGKA KONSEPTUAL

#### 3.1. Kerangka Konseptual

##### 3.1.1. Bagan Kerangka Konsep



### 3. 1. 2. Uraian Kerangka Konseptual

Penyakit infeksi SARS-CoV-2 atau dikenal dengan *coronavirus disease* 2019 (Covid-19) telah menjadi ancaman besar bagi kesehatan global (Lan, 2020). Infeksi SARS-CoV-2 dapat menular pada manusia yang dapat menyebabkan gangguan pernapasan, hepar, dan neurologis (Jiang, 2020). Hingga saat ini belum ada obat yang secara spesifik direkomendasikan untuk mengobati COVID-19. Belum ditemukannya terapi dengan mekanisme yang tepat untuk mengatasi SARS-CoV-2 sehingga harus diwaspadai karena penularan yang relatif cepat, memiliki tingkat mortalitas yang tidak dapat diabaikan, dan belum adanya terapi definitif (Silva *et al.*, 2020)

Salah satu obat yang digunakan untuk mengobati COVID-19 yaitu lopinavir, dengan menggunakan pendekatan penemuan obat komputasional, diperkirakan bahwa lopinavir adalah penghambat potensial dari Mpro SARS-CoV-2 dan kemungkinan besar adalah multi-agen target. Terapi ini tidak dirancang khusus untuk mengobati COVID-19, melainkan untuk mengobati penyakit sebelumnya yang memiliki gejala mirip dengan COVID-19 (Xu *et al.*, 2020). Pada proses terjadinya siklus hidup SARS-CoV-2, Mpro berperan penting dalam translasi dan replikasi virus (Jin *et al.*, 2019). Sehingga, Mpro dengan PDB ID 6M2N dapat dijadikan target penghambatan siklus hidup SARS-CoV-2 dalam rangka pengembangan obat antivirus. Pengembangan ini dapat diperoleh dari tanaman yang berpotensi sebagai antivirus

Sebagai tanaman antivirus, *Salvia officinalis* L. mampu menghambat replikasi intraseluler HSV-1 dan, dapat mengganggu langkah perlekatan virus

(Santoyo, 2012) dan menunjukkan aktivitas inaktivasi virus terhadap vesicular stomatitis virus VSV dengan cara menghambat replikasi virus (Smidling, 2007). Kandungan flavanoid dalam daun *Salvia officinalis* L. seperti *luteolin*, *apigenin*, *quercetin*, *kaempferol*, dan *catechin*. Semua senyawa ini memiliki sifat terapeutik yang efektif dan berguna bagi kesehatan manusia (El-Feky, 2016; Lu, 2002; Roby, 2013). Studi menunjukkan bahwa flavonoid memiliki aktivitas antivirus pada beberapa virus termasuk SARS-CoV (Jo, 2020). Seperti apigenin (Ryu, 2010), luteolin (Yi, 2004) dan quercetin (Nguyen, 2012). Dengan adanya penelitian mengenai potensi tanaman *Salvia officinalis* L. sebagai antivirus SARS-CoV-2, maka perlu adanya prediksi mengenai kandungan senyawa flavanoid dalam tanaman *Salvia officinalis* L. tersebut yang dapat menghambat reseptor main protease, serta sifat fisiko kimia dari senyawa tersebut dengan metode *in silico*.

Pada penelitian ini lima senyawa flavanoid potensial yang terkandung dalam tanaman *Salvia officinalis* L. dilakukan skrining dengan menggunakan program *SwissADME*. Tujuannya untuk mengetahui senyawa mana saja yang lulus skrining dengan parameter memenuhi Hukum Lima Lipinski. Prediksi sifat fisikokimia dari senyawa flavanoid tanaman *Salvia officinalis* L. menggunakan program *SwissADME* dengan cara mengetahui kode senyawa pada SMILES yang didapat sehingga bisa mendapatkan berat molekul (BM), logaritma koefisien partisi oktanol/air (Log P), *Hydrogen Bond Atom* (HBA), *Hydrogen Bond Donor* (HBD), jumlah ikatan atom yang dapat berotasi (Torsion), dan *Polar Surface Activity* (PSA) yaitu parameter sifat fisikokimia berdasarkan parameter Hukum Lima Lipinski. Selanjutnya, dilakukan uji toksisitas menggunakan *pkCSM Online Tool* dan *Protox*

*Online Tool* untuk mengetahui toksisitas dan menentukan klasifikasi toksisitas senyawa tersebut.

Kode protein yang digunakan dalam memprediksi senyawa flavanoid yang terkandung pada tanaman *Salvia officinalis* L. untuk menghambat Main protease dengan PDB ID: 6M2N yang berperan dalam pematangan proteolitik virus. Penyiapan ligan dilakukan menggunakan software Chem Bio Draw Ultra versi 12 dan Chem Bio 3D Ultra versi 12. Ligan tersebut kemudian diminimalisasi energi menggunakan software Avogadro dengan metode Merck Molecular Force Field 94 (MMF94). Ligan yang telah digambar kemudian dicopy code SMILE tersebut yang nantinya digunakan untuk prediksi skринning yang memenuhi parameter Hukum Lima Lipinski dengan program SwissADME. Dalam penentuan *cavity* memungkinkan untuk mendeteksi interaksi antara ligan dan reseptor 6M2N dilakukan secara otomatis oleh software Molegro Virtual Docker sehingga dapat mendeteksi *native ligan* yang menempel pada salah satu *cavity*. Selanjutnya dilakukan proses validasi reseptor dengan cara *docking* sebanyak 3 kali antara ligan dan reseptor untuk mendapatkan nilai RMSD  $< 2\text{\AA}$ . Perbedaan tempat reseptor akan menimbulkan interaksi dan afinitas yang berbeda yang ditandai dengan ikatan hidrogen, ikatan sterik, interaksi asam amino pada reseptor, serta energi ikatan yang digambarkan dengan nilai *Rerank Score* (RS), *MolDock score*, dan *H-Bond*. Kemudian hasilnya dari senyawa uji akan dibandingkan dengan senyawa pembanding untuk mengetahui ada kesamaan aktivitas.

### 3. 2. Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kerangka konsep diatas dapat dirumuskan hipotesis sebagai berikut :

1. Senyawa flavonoid dalam tanaman *Salvia officinalis* L. memiliki sifat fisikokimia yang memenuhi Hukum Lima Lipinski secara *in silico*.
2. Senyawa flavonoid dalam tanaman *Salvia Officinalis* L. memiliki toksisitas yang rendah secara *in silico*.
3. Terdapat perbedaan interaksi dan afinitas senyawa golongan flavonoid dalam tanaman *Salvia Officinalis* L. terhadap reseptor 6M2N secara *in silico*.

## **BAB IV**

### **METODE PENELITIAN**

#### **4. 1 Jenis dan Rancangan Penelitian**

Jenis penelitian yang digunakan yaitu eksperimental berbasis komputer dengan metode *in silico* dari senyawa flavanoid (*luteolin*, *apigenin*, *quercetin*, *kaempferol*, dan *catechin*) pada tanaman *Salvia officinalis* L. terhadap reseptor Mpro (6M2N) menggunakan aplikasi penunjang Chem Bio Draw Ultra versi 12, Chem Bio 3D Ultra versi 12, Molegro Virtual Docker 6.0 (Molegro ApS), *SwissADME*, dan *pkCSM online tool*.

#### **4. 2 Waktu dan Tempat**

Penelitian akan dilaksanakan di tempat masing – masing, sesuai dengan kondisi yang akan terjadi terkait pandemi yang menimpa saat ini mulai bulan Oktober – November 2021.

#### **4. 3 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional**

##### **4. 3. 1 Variabel Bebas**

Variabel bebas pada penelitian ini ialah senyawa flavanoid meliputi *luteolin*, *apigenin*, *kuersetin*, *kaempferol*, dan *catechin* pada tanaman *Salvia officinalis* L.

##### **4. 3. 2 Variabel Terikat**

Variabel terikat dari penelitian ini adalah nilai RMS, *Rerank Score*, ikatan hidrogen, ikatan sterik, jarak ikatan, berat molekul (BM), logaritma koefisien partisi oktanol/air (Log P), *Hydrogen Bond Atom* (HBA), *Hydrogen Bond Donor* (HBD), jumlah ikatan atom yang dapat berotasi (Torsion), *Topological Polar Surface Activity* (TPSA), LD<sub>50</sub>, *skin sesnsitilization*, *Ames toxicity* dan *Hepatotoxicity*.

### 4.3.3 Variabel Terkontrol

Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah reseptor Mpro PDB ID 6M2N, Chem Bio Draw Ultra Versi 12 (Cambridge Soft), Chem Bio 3D Ultra Versi 12 (Cambridge Soft), Molegro Virtual Docker 6.0 (Molegro ApS), pkCSM *Online Tool*, *Protox Online Tool*, SwissADME, dan SPSS Statistics 26.0 for Windows.

### 4.3.4 Definisi Operasional

Tabel 4.1 Parameter Uji Fisikokimia

Hukum Lima Lipinski	Definisi
BM (g/mol)	Prediksi hubungan dengan absorpsi, jika berat molekul lebih dari 500 g/mol akan sulit terabsorpsi berdasarkan perhitungan SwissADME.
Log P	Prediksi suatu senyawa untuk tinggal di lipid bilayer dan terdistribusi lebih luas di dalam tubuh sehingga selektivitas ikatan terhadap enzim target menjadi berkurang berdasarkan perhitungan SwissADME.
<i>Hydrogen Bond Donors</i> (HBD)	Prediksi jumlah donor ikatan hidrogen yang mendeskripsikan semakin tinggi kapasitas ikatan hidrogen, maka semakin tinggi energi yang dibutuhkan agar proses absorpsi dapat terjadi berdasarkan perhitungan SwissADME.
<i>Hydrogen Bond Acceptors</i> (HBA)	Prediksi jumlah akseptor ikatan hidrogen yang mendeskripsikan semakin tinggi kapasitas ikatan hidrogen, maka semakin tinggi energi yang dibutuhkan agar proses absorpsi dapat terjadi berdasarkan perhitungan SwissADME.
<i>Torsion</i>	Prediksi jumlah ikatan antar atom yang dapat berotasi berdasarkan perhitungan SwissADME.
<i>Topological Polar Surface Area</i> (TPSA)	Prediksi daerah permukaan kutub berdasarkan perhitungan SwissADME.

Tabel 4.2 Parameter Uji Toksisitas

Parameter	Definisi
LD <sub>50</sub>	Prediksi toksisitas yang bertujuan untuk mengetahui senyawa tersebut dapat menyebabkan kematian 50% dalam dosis maksimal pada populasi secara <i>in silico</i> berdasarkan perhitungan <i>Protox Online Tool</i>

<i>Ames Toxicity</i>	Prediksi toksisitas yang bertujuan untuk mengetahui potensi mutagenik suatu senyawa secara <i>in silico</i> berdasarkan perhitungan <i>pkCSM Online Tool</i>
<i>Skin Sensitization</i>	Prediksi toksisitas yang bertujuan untuk mengetahui potensi sensitivitas pada kulit secara suatu senyawa secara <i>in silico</i> berdasarkan perhitungan <i>pkCSM Online Tool</i>
<i>Hepatotoxicity</i>	Prediksi toksisitas yang bertujuan untuk mengetahui potensi mengetahui adanya toksisitas senyawa terhadap secara suatu senyawa secara <i>in silico</i> berdasarkan perhitungan <i>pkCSM Online Tool</i>

Tabel 4.3 Parameter *Molecular Docking*

Parameter	Keterangan	Standar
RMSD	Melihat kemiripan antara dua buah struktur	Nilai RMSD $\leq 2$ Å
<i>Rerank Score</i>	Digambarkan sebagai prediksi interaksi ikatan antara obat dengan reseptor.	Nilai harus < dari <i>native ligand</i> semakin kecil menunjukkan besar tingkat keserasian antara ligan dan reseptor berinteraksi
Ikatan Sterik	Ikatan sterik dapat memberikan tempat bagi ikatan hidrogen dengan asam amino yang aktif sehingga akan menstabilkan suatu ikatan.	Lebih banyak ikatan yang terjadi dari pembanding, maka lebih bagus.
Ikatan Hidrogen	Ikatan hidrogen adalah ikatan yang terjadi antara hidrogen dengan atom O,N, F	Hidrogen lebih banyak ikatan yang terjadi dari pembanding maka lebih baik.
Ikatan Jarak	Ikatan jarak antara atom ligan dan atom pada reseptor pada suatu interaksi ikatan.	Nilai jarak ikatan lebih tinggi dari pembanding maka lebih baik.

#### 4. 4 Alat dan Bahan Penelitian

##### 4. 4. 1 Alat Penelitian

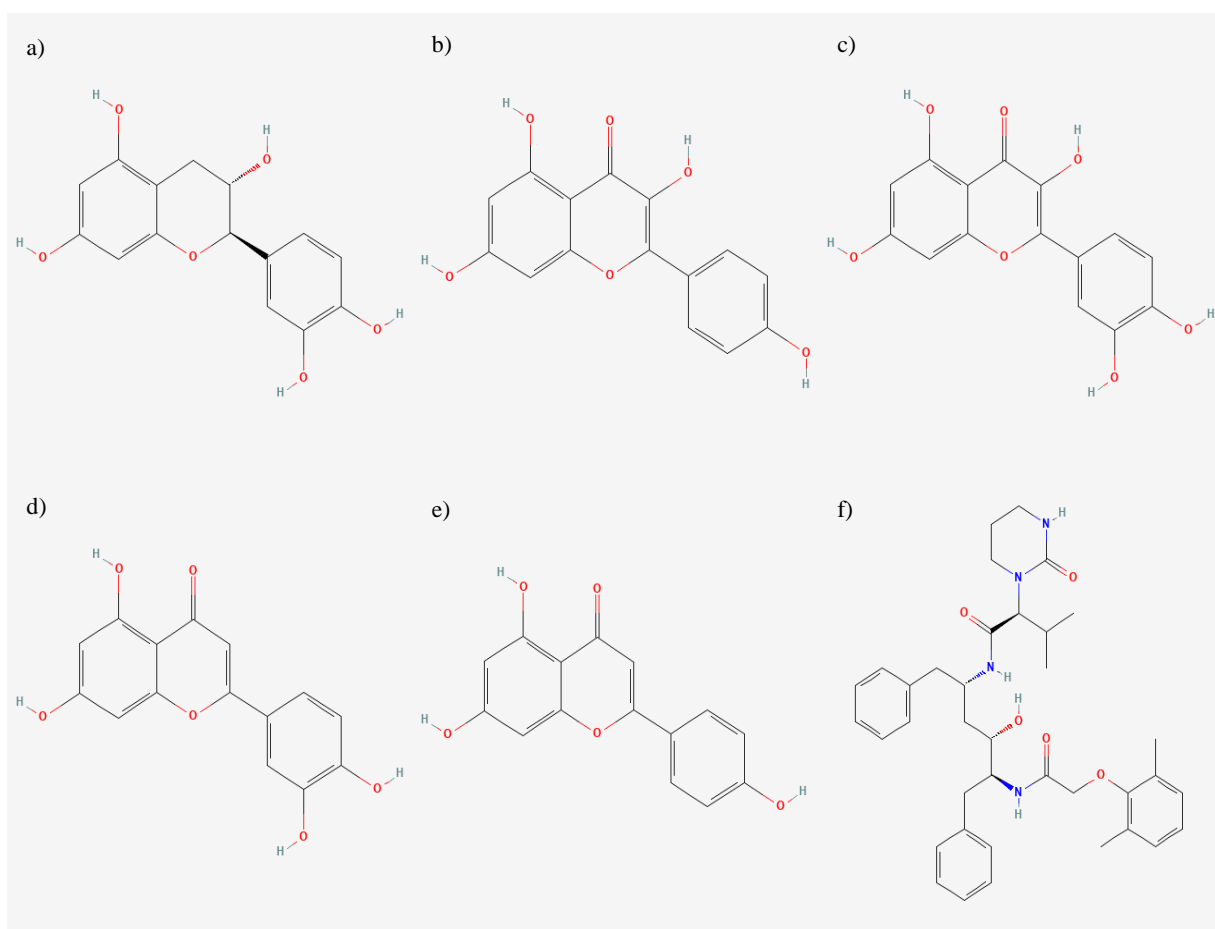
Perangkat yang digunakan pada penelitian ini adalah perangkat keras berupa laptop dengan spesifikasi: processor intel® inside™ Celeron N4000, RAM 4 GB, Windows 10 sebagai sistem operasi, Perangkat lunak yang digunakan Chem Bio Draw Ultra Versi 12 (Cambridge Soft), Chem Bio 3D Ultra Versi 12 (Cambridge

Soft), Molegro Virtual Docker 6.0 (Molegro ApS), pkCSM *Online Tool*, *Protoc Online Tool*, *SwissADME* dan *SPSS Statistics 26.0 for Windows*.

#### 4. 4. 2 Bahan Penelitian

##### 4. 4. 2. 1 Senyawa Flavonoid

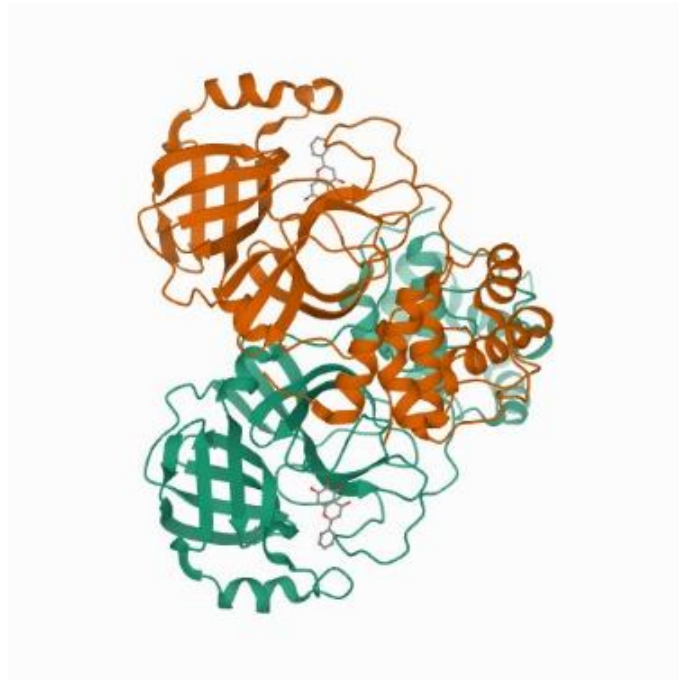
Ligand yang digunakan ialah senyawa flavonoid (*luteolin*, *apigenin*, *quercetin*, *kaempherol*, dan *catechin*) dengan pembanding lopinavir yang diunduh strukturnya dari laman <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> sebagai berikut :



Gambar 4.1 Struktur (a) *catechin*, (b) *kaempherol*, (c) *quercetin*, (d) *luteolin*, (e) *apigenin*, (f) *lopinavir*

#### 4. 4. 2. 2 Reseptor Main Protease (6M2N)

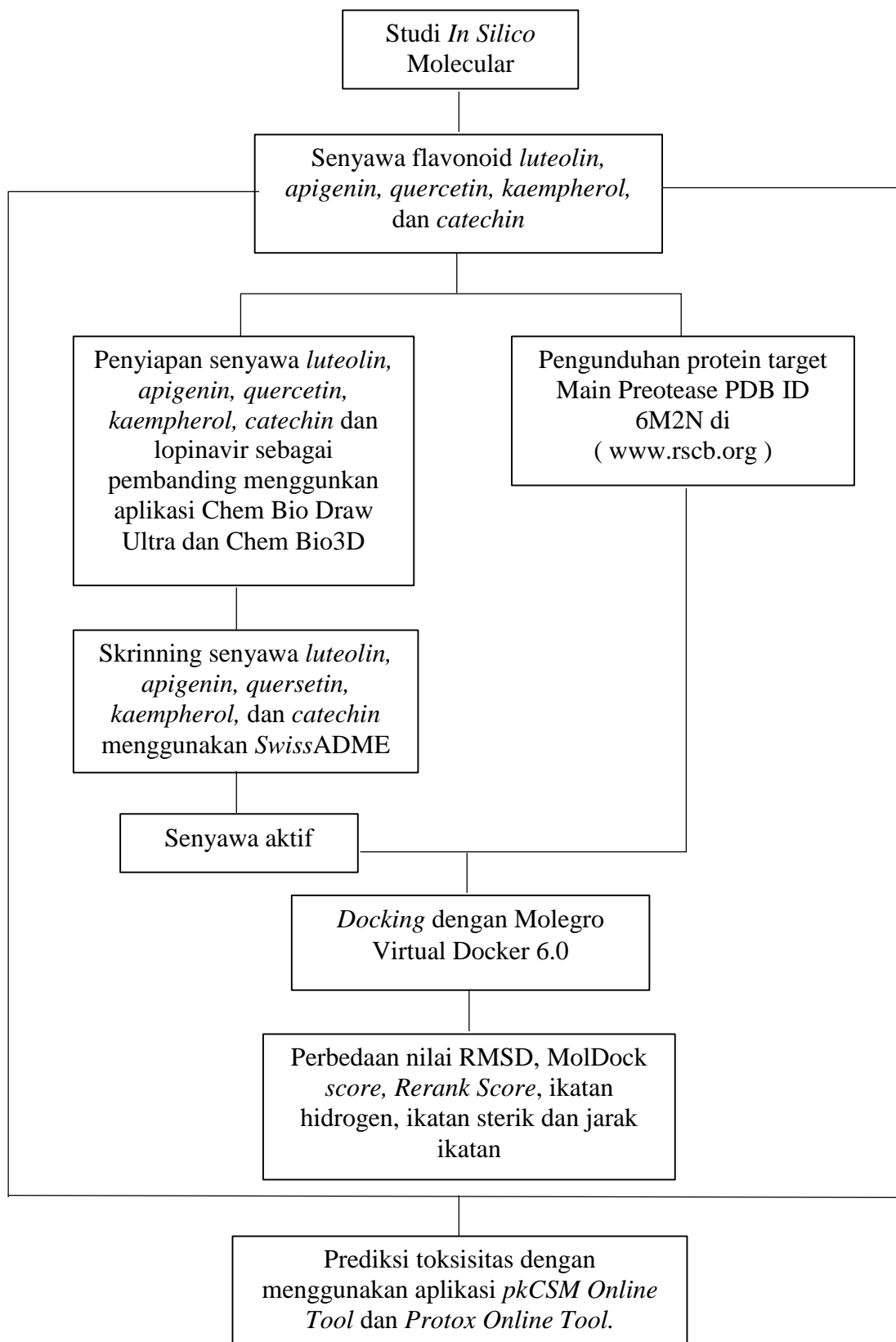
Struktur *native ligand* dan reseptor targetnya yaitu Main protease (6M2N) sebagai reseptor SARS CoV – 2 yang diunduh dari laman Protein Data Bank (PDB) <https://www.rcsb.org/structure/6M2N>



Gambar 4.2. Reseptor Mpro COVID-19 dengan PDB ID 6M2N

## 4. 5 Skema Kerja

### 4. 5. 1 Skema Kerja



## 4. 5. 2 Prosedur Kerja

### 4. 5. 2. 1 Skrinning Senyawa

Persiapan dalam skrinning senyawa ialah digambar struktur dua dimensi senyawa flavanoid dengan aplikasi Chem Bio Draw Ultra. Kemudian disalin kode SMILES senyawa dari aplikasi online PubChem pada *SwissADME*. Kemudian diseleksi senyawa yang memenuhi syarat tidak menembus sawar otak dan memenuhi Hukum 5 Lipinski (Diana, 2017).

### 4. 5. 2. 2 *Molecular Docking*

Persiapan dalam *molecular docking* adalah (1) mengunduh reseptor 6M2N dari laman Protein Data Bank (PDB). Kemudian digambar struktur molekul senyawa 2D dengan software Chem Bio Draw Ultra Versi 12, kemudian *dicopy* pada software Chem Bio 3D Ultra Versi 12 untuk membuat struktur 3D, selanjutnya disimpan dalam bentuk file \*.sdf atau \*.pdb. (2) Senyawa tersebut dioptimasi geometri struktur untuk mencari energi minimal menggunakan Avogadro dengan metode MMFF94. (3) Penentuan *cavity* sebagai rongga tempat untuk menempelnya *native ligand*. (4) Selanjutnya dilakukan validasi reseptor dengan re-docking sebanyak 3 kali, hal ini dilakukan sampai mendapatkan nilai RMSD  $<2\text{\AA}$ . (5) Reseptor (yang telah tervalidasi) dengan hasil nilai RMSD terkecil kemudian *didocking* dengan senyawa uji dan penmabing. (4) Hasil dari *docking* senyawa berupa nilai dari *MolDockscore*, Rerank score, H-Bond, dan residu asam amino yang kemudian dibandingkan dengan senyawa pembanding (lopinavir) untuk mengetahui adanya aktivitas yang sama.

#### 4. 5. 2. 3 Prediksi Toksisitas Secara *In Silico*

Prediksi toksisitas dilakukan dengan menggambar struktur molekul senyawa 2D dengan software Chem Bio Draw Ultra Versi 12, kemudian dicopy pada software Chem Bio 3D Ultra Versi 12 untuk membuat struktur 3D, selanjutnya disimpan dalam bentuk file \*.sdf atau \*.pdb. Berikutnya mencari code SMILES senyawa *luteolin*, *apigenin*, *quercetin*, *kaempferol*, dan *catechin* dengan cara mengubah struktur 2D melalui menu edit dan dicopy as menjadi code SMILES. Lalu code SMILES dicopy pada microsoft word atau microsoft excel dan disimpan untuk melakukan uji. Dalam bentuk format SMILES inilah senyawa diproses menggunakan *pkCSM Online Tool* dan *Protox Online Tool*.

#### 4. 6 Analisis Data

Analisis data secara *in silico* yang dilakukan melalui beberapa kriteria. Pertama, senyawa yang telah dioptimasi kemudian didocking dengan reseptor yang telah divalidasi. Hasil validasi dari reseptor target (6M2N) dengan *native ligand* (5,6,7-trihydroxy-2-phenyl-4H-chromen-4-one) bernilai  $<2 \text{ \AA}$  (Rachmanis, 2019). Kemudian, analisis data hasil *docking* pada senyawa uji dilakukan berdasarkan nilai pada *rerank score*, *MolDock score*, dan residu asam amino yang terlibat untuk mengetahui adanya kemiripan aktivitas dengan senyawa pembanding (lopinavir). Kedua, analisis hasil dari sifat fisikakimia pada senyawa yang sesuai dengan Hukum lima lipinski yaitu berat molekul (BM) yang tidak lebih dari 500 g/mL, nilai koefisien partisi (logP yang berikatan dengan lipofilisitas atau hidrofobisitas) kurang dari 5, mempunyai jumlah donor ikatan hidrogen kurang dari 5, dan mempunyai jumlah akseptor ikatan hidrogen kurang dari 10 (Lipinski, 1997).

Ketiga, setelah prediksi aktivitas, senyawa turunan flavonoid dari tanaman *Salvia officinalis* L. dan senyawa pembanding (lopinavir) juga diprediksi sifat toksisitasnya dengan memprediksi hasil nilai LD<sub>50</sub>, *dosage* diekspresikan dalam mg/kg berat badan atau mg/cm<sup>2</sup>. Nilai tersebut dapat digunakan dalam menilai potensi toksisitas senyawa tersebut yang kemudian diklasifikasikan didasarkan pada Globally Harmonized System (GHS) yang terbagi dalam 6 kelas.

## BAB V

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Allah memberikan gelar *ulul albab* atau orang yang berakal, yaitu orang yang mengerjakan dua hal, yaitu *tadzakur* atau menghafal Allah dengan perkataan dan/atau hati dalam situasi dan kondisi apapun, dan *tafakkur* berpikir tentang ciptaan Allah, khususnya peristiwa-peristiwa di dunia. alam semesta. Dengan melakukan dua hal ini, seseorang akan dapat mengetahui, memahami, menghayati bahwa di balik fenomena alam dan segala isinya mengungkapkan keberadaan sang pencipta, Allah SWT (Herawati, 2015). Firman Allah dalam surat al Imran ayat 190:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَأَخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ ﴿١٩٠﴾

Artinya: “Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal”.

Menurut Syaikh Imam al-Qurthub (2008), sesungguhnya dalam peraturan langit dan bumi serta keindahannya, di dalam pergantian malam dan siang, serta terus menerus beriring-iringan melalui aturan yang paling baik (harmonis), yang nyata pengaruhnya pada tubuh dan akal kita, seperti panas dan dingin, demikian pula pada binatang dan tumbuh-tumbuhan, semua itu merupakan dalil (bukti) yang menunjukkan keesaan Allah, kesempurnaan ilmu dan kodrat-Nya, bagi semua orang yang berakal kuat (Rosyadi, 2008).

Ayat ini mengundang manusia untuk berpikir, karena sesungguhnya dalam penciptaan, yakni benda-benda angkasa seperti matahari, bulan, dan jutaan gugusan bintang yang terdapat di langit atau dalam pengaturan sistem kerja langit yang

sangat teliti serta kejadian dan perputaran bumi pada porosnya, yang melahirkan silih bergantinya malam dan siang perbedaannya, baik dalam masa maupun dalam panjang dan pendeknya terdapat tanda-tanda kemahakuasaan Allah bagiulūl-albāb, yakni orang-orang yang memiliki akal yang murni (Shihab, 2002).

Syaikh Imam al-Qurthub (2008) menafsirkan bahwa Allah SWT memerintahkan kita untuk melihat, merenung, dan mengambil kesimpulan pada tanda-tanda ke-Tuhanan. Karena tanda-tanda tersebut tidak mungkin ada kecuali diciptakan oleh Yang Maha Hidup, Yang Maha Suci, Maha Menyelamatkan, Maha Kaya dan tidak membutuhkan apapun yang ada di alam semesta. Dengan menyakini hal tersebut maka keimanan mereka bersandarkan atas keyakinan yang benar dan bukan hanya sekedar ikut-ikutan. Pada lafadz yang berarti "*Terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal*". Inilah salah satu fungsi akal yang diberikan kepada seluruh manusia, yaitu agar mereka dapat menggunakan akal tersebut untuk merenungi tanda-tanda yang telah diberikan oleh Allah SWT (Rosyadi, 2008).

Sebagai umat muslim hendaknya kita mempelajari tentang ciptaan Allah sebagai bentuk beribadah kepada Allah SWT. Penting bagi kita untuk melakukan kajian pengobatan dengan memanfaatkan berbagai nikmat yang telah diberikan oleh Allah SWT baik berupa fitrah maupun kecerdasan, akan tetapi manusia sebagai mediator harus memaksimalkan apa yang telah dimilikinya untuk mengembangkan ilmunya (Herawati, 2015). Pengembangan bahan obat diawali dengan sintesis atau isolasi dari berbagai sumber yaitu dari tanaman disekitar kita untuk dijadikan aktivitas antivirus dalam menangani penyakit COVID-19. Dengan

mempelajari hubungan struktur obat dan aktivitasnya maka pencarian zat baru lebih terarah menggunakan *molecular docking*.

### **5. 1. *Molecular Docking* dan Analisis Asam Amino**

*Molecular docking* atau penambatan molekul adalah prosedur komputasional yang digunakan untuk memahami dan memprediksi rekognisi molekuler yang menggambarkan interaksi antara molekul obat sebagai ligan dengan reseptor. Proses komputasi akan mencari ligan yang menunjukkan kecocokan geometris dan kecocokan energi (memprediksi afinitas ikatan) (Suhud, 2015). Proses *docking* dilakukan dengan menggunakan program Molegro Virtual Docker (MVD). Penarikan kesimpulan diperoleh dari nilai *rerank score* yang lebih negatif dibandingkan dengan kontrolnya serta semakin banyak asam amino yang terikat melalui ikatan hidrogen yang sama dengan kontrolnya. Selain analisis potensinya dilihat dari nilai *rerank score*, juga dilihat interaksi ligan dengan residu asam amino dari protein reseptor secara *in silico*. Analisis interaksi dilakukan untuk mengetahui kekuatan ikatan di antara senyawa aktif tersebut. Senyawa aktif yang diprediksi memiliki ikatan kuat dengan protein target adalah senyawa aktif yang mempunyai ikatan hidrogen dengan residu asam amino protein reseptor yang sama dengan kontrol (Bintari, 2018). Protein yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Main protease (Mpro) dengan PDB ID 6M2N yang berperan dalam translasi dan replikasi virus.

### **5. 2. Pengunduhan Target Protein**

Struktur *native ligand* dan reseptor targetnya yaitu Main protease (6M2N) sebagai reseptor SARS CoV – 2 yang diunduh dari laman Protein Data Bank (PDB)

<https://www.rcsb.org/structure/6M2N> dengan format \*.pdb. Pencarian dan pengunduhan reseptor berdasarkan protein reseptor yang telah memiliki ligan.



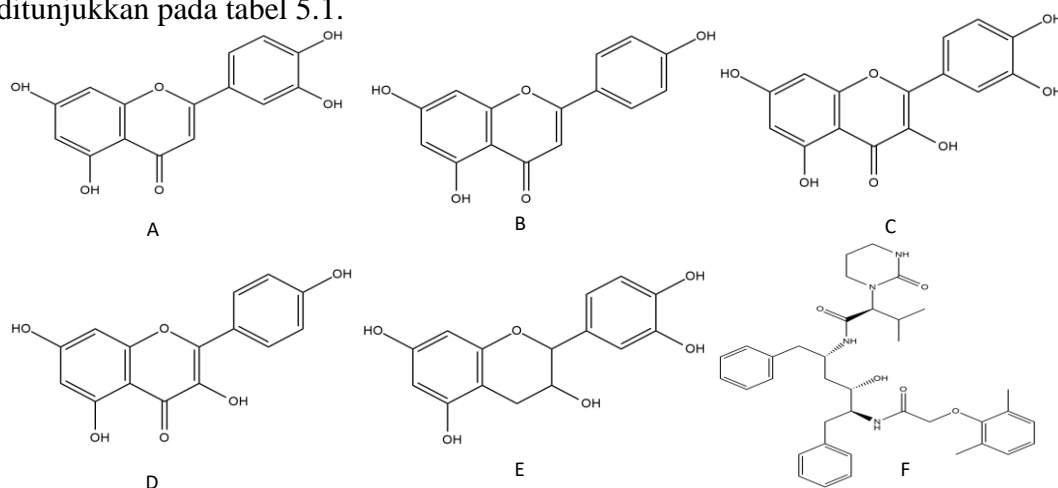
Gambar 5.1. Hasil Pengunduhan Reseptor Mpro COVID-19 dengan PDB ID 6M2N (RCSB PDB, 2020)

### 5. 3. Preparasi Ligan dan Reseptor

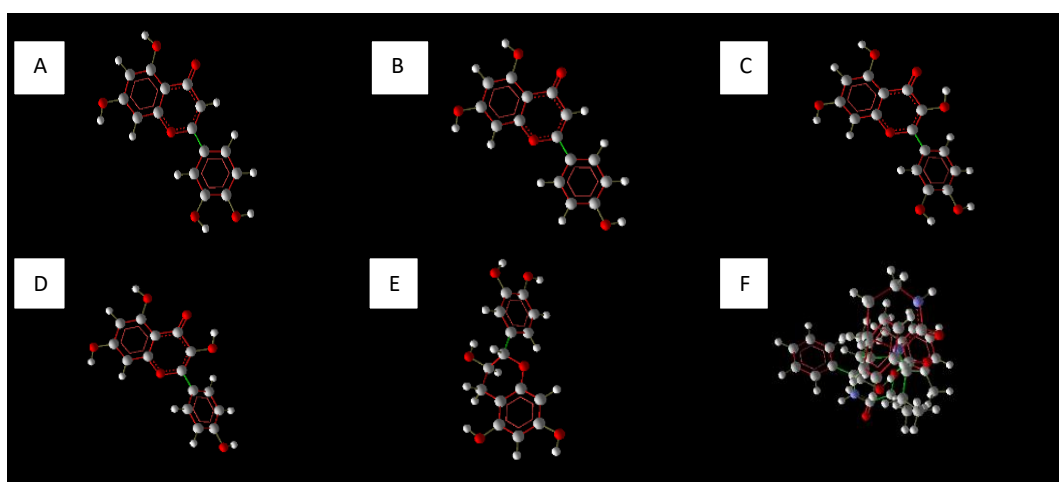
Preparasi struktur ligan senyawa uji dan ligan senyawa pembanding merupakan langkah pertama yang harus dilakukan. Ligan atau senyawa uji senyawa flavonoid dari tanaman *Salvia officinalis* L. digambar menggunakan perangkat lunak menggunakan software Chem Bio Draw Ultra 12.0 dibuat dalam struktur dua dimensi (2D) kemudian ditransformasikan menjadi struktur tiga dimensi (3D) dengan menggunakan software Chem Bio 3D Ultra 12.0, hal tersebut dikarenakan pada semua tahapan docking menggunakan model struktur 3D. Kemudian hasil gambar struktur 2D dan 3D ligan/senyawa ditunjukkan pada gambar 5.2 dan gambar 5.3.

Kemudian dilakukan optimasi geometri, untuk menentukan energi minimalisasi menggunakan software Avogadro dengan metode Merck Molecular Force Field 94 (MMF94). Minimalisasi energi dapat mempermudah dan menyetabilkan susunan ikatan selama penambatan molekul, penambahan hidrogen,

dan konversi struktur dua dimensi menjadi tiga dimensi. Optimasi melalui minimisasi energi yang dilakukan dengan baik dan tepat dapat meningkatkan ketepatan dan performa hasil penambatan molekular (Hanif, 2020). Replikasi sebanyak 3 kali pada perlakuan optimasi geomteri agar dihasilkannya bentuk stereokimia yang paling stabil dan disimpan dengan format \*.mol2. Hasil optimasi geometri senyawa flavonoid tanaman *Salvia officinalis* L. dan lopinavir ditunjukkan pada tabel 5.1.

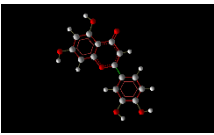
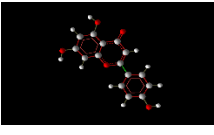
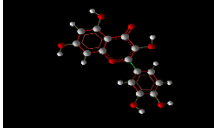
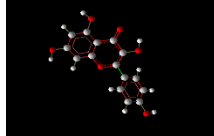
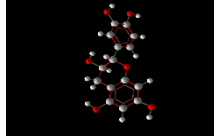
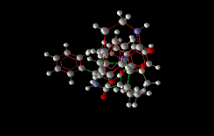


Gambar 5.2 Hasil penggambaran struktur dua dimensi senyawa flavonoid (A)*Luteolin*, (B)*Apigenin*, (C)*Quercetin*, (D)*Kaempferol*, (E)*Catechin*, dan (F)*Lopinavir*



Gambar 5.3 Hasil penggambaran struktur tiga dimensi senyawa flavonoid (A)*Luteolin*, (B)*Apigenin*, (C)*Quercetin*, (D)*Kaempferol*, (E)*Catechin*, dan (F)*Lopinavir*

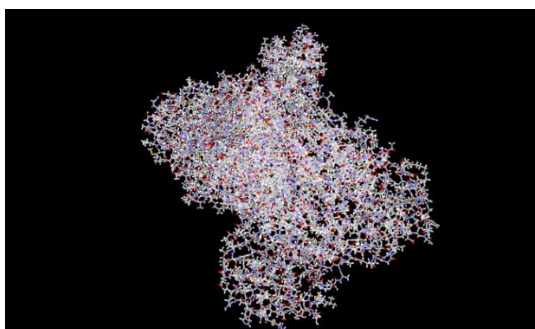
Tabel 5.1 Hasil penentuan energi minimal (kcal/mol) senyawa flavonoid *Salvia officinalis* L. dengan MMFF94 pada aplikasi Avogadro

Senyawa	Struktur 3D	Energi Minimal (kcal/mol)			Rerata (kcal/mol) $\pm$ SD
		Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III	
<i>Luteolin</i>		130.167	130.167	130.167	130.167 $\pm$ 0,0000
<i>Apigenin</i>		142.238	142.238	142.238	142.238 $\pm$ 0,0000
<i>Quercetin</i>		224.081	224.081	224.081	224.081 $\pm$ 0,0000
<i>Kaempferol</i>		236.904	236.904	236.904	236.904 $\pm$ 0,0000
<i>Catechin</i>		178.259	178.259	178.259	178.259 $\pm$ 0,0000
Lopinavir		5548.22	5548.22	5548.22	5548.22 $\pm$ 0,0000

Hasil optimasi pada tabel 5.1 diatas didapatkan nilai rerata dan nilai standar deviasi ( $\pm$ SD) energi minimal paling kecil yaitu senyawa *luteolin* sebesar 130.167 kkal/mol, sedangkan energi minimal yang paling besar yaitu pada senyawa

lopinavir dengan nilai 5548.22 kkal/mol. Energi tersebut merupakan rerata energi seminimal mungkin pada bentuk stereokimia dan bentuk yang paling stabil untuk dilakukan *docking*.

Setelah dilakukan preparasi ligan/senyawa, selanjutnya dilakukan preparasi reseptor. Reseptor yang telah diunduh melalui data file PDB (Protein Data Bank) dengan PDB ID 6M2N dengan natif ligan 5,6,7-trihydroxy-2-phenyl-4Hchromen-4-one. Protein tersebut ditinjau menggunakan software MVD ditunjukkan oleh gambar 5.4. Program akan memunculkan warning apabila terdapat struktur protein yang error.



Gambar 5.4 Reseptor 6M2N

Langkah selanjutnya adalah sebelum melakukan prediksi toksisitas, kode SMILES dijalankan terlebih dahulu. Pengkodean SMILES dilakukan dengan menggunakan software Chem Bio Draw Ultra 12.0, langkah ini dilakukan setelah menggambar senyawa turunan flavonoid tanaman *Salvia officinalis* L. (*luteolin*, *apigenin*, *quercetin*, *kaempferol*, dan *catechin*) dan obat lopinavir yang berperan sebagai pembanding secara 2D. Kemudian struktur 2D dimodifikasi melalui menu edit dan disalin sebagai kode SMILES. Kode SMILES kemudian disalin ke Microsoft Word, yang kemudian disimpan untuk pengujian lebih lanjut. Hasil

pembuatan *code* SMILES senyawa flavonoid tanaman *Salvia officinalis* L. dan senyawa pembanding (lopinavir) ditunjukkan pada tabel 5.2.

Tabel 5.2 Hasil *code* SMILES senyawa flavonoid tanaman *Salvia officinalis* L. dan lopinavir dengan ChemDraw Ultra 12.0

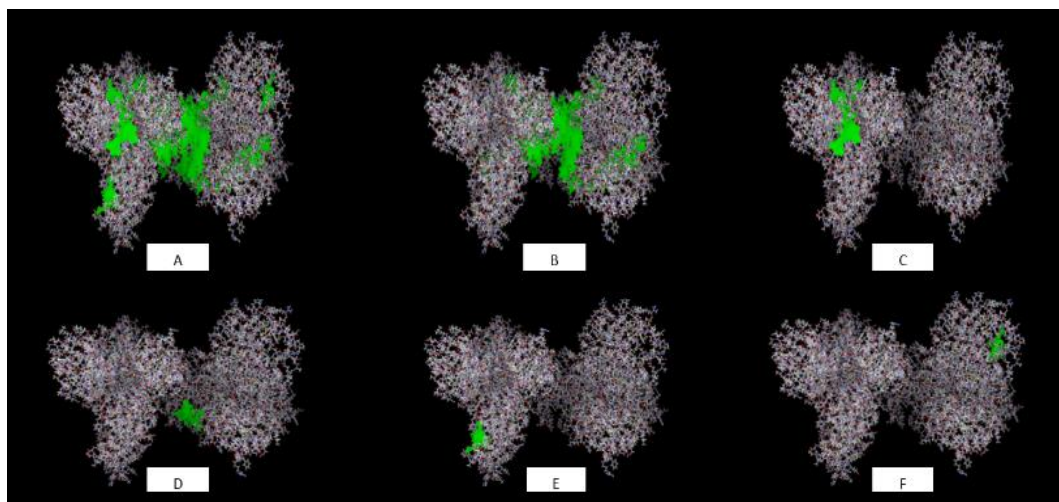
Nama Senyawa	Code SMILES
<i>Luteolin</i>	<chem>O=C1C=C(C2=CC=C(O)C(O)=C2)OC3=C1C(O)=CC(O)=C3</chem>
<i>Apigenin</i>	<chem>O=C1C=C(C2=CC=C(O)C=C2)OC3=C1C(O)=CC(O)=C3</chem>
<i>Quercetin</i>	<chem>OC1=C(C2=CC=C(O)C(O)=C2)OC3=C(C(O)=CC(O)=C3)C1=O</chem>
<i>Kaempferol</i>	<chem>OC1=C(C2=CC=C(O)C=C2)OC3=C(C(O)=CC(O)=C3)C1=O</chem>
<i>Catechin</i>	<chem>OC1C(C2=CC=C(O)C(O)=C2)OC3=C(C(O)=CC(O)=C3)C1</chem>
Lopinavir	<chem>O=C1N([C@H](C(N[C@@H](CC2=CC=CC=C2)C[C@H](O)[C@@H](N C(COC3=C(C)C=CC=C3C)=O)CC4=CC=CC=C4)=O)C(C)C)CCN1</chem>

*Code* SMILE senyawa flavonoid tanaman *Salvia officinalis* L. dan senyawa

pembanding (lopinavir) digunakan untuk proses prediksi toksisitas menggunakan *pkCSM Online Tool* dan *Protox Online Tool*

#### 5. 4. Penentuan *Cavity*

Algoritma MVD memanfaatkan rongga (*cavity*) untuk mendeteksi tempat ikatan protein yang berpotensi sebagai sisi aktif untuk berikatan dengan ligan (Pratoko, 2012). Penentuan *cavity* memungkinkan untuk mendeteksi interaksi antara ligan dan reseptor 6M2N. *Cavity* pada reseptor ditampilkan dalam warna hijau. Hasil penentuan *cavity* ditunjukkan pada Gambar 5.5. Adanya 5 *cavity* dimungkinkan terjadinya interaksi antara *native ligand* dengan reseptor 6M2N. *Native ligand* yang berinteraksi dipilih untuk selanjutnya dilakukan *docking*. *Cavity* yang digunakan adalah *cavity* 4 dengan volume 152,576 dan luas permukaan 450,56.



Gambar 5.5 Hasil deteksi lubang (*cavity*) pada reseptor 6M2N (A) *cavity* secara keseluruhan, (B) *cavity* 1, (C) *cavity* 2, (D) *cavity* 3, (E) *cavity* 4, (F) *cavity* 5

**Keterangan Gambar 5.5**

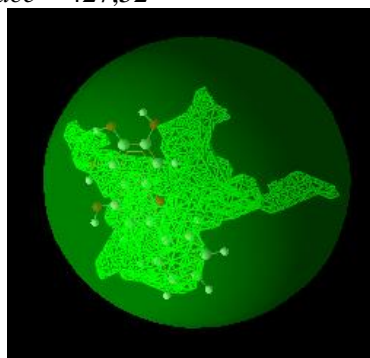
*Cavity* 1 Vol = 5012,48 *Surface* = 13633,3

*Cavity* 2 Vol = 666,112 *Surface* = 1674,24

*Cavity* 3 Vol = 287,232 *Surface* = 963,84

*Cavity* 4 Vol = 152,576 *Surface* = 450,56

*Cavity* 5 Vol = 131,584 *Surface* = 427,52



Gambar 5.6 Hasil visualisasi luas area pada *native ligand* di *cavity* 4

Hal terpenting berikutnya adalah mengatur luas area dalam situs pengikatan. Metode docking dilakukan dengan menambatkan setiap ligand pada reseptor 6M2N dengan koordinat *scoring function* MolDock Score [GRID] pada *binding site center* X = -32.97, Y=-67.60, dan Z=43.84 dengan radius 9. Setiap senyawa dalam proses docking dengan reseptor harus berada pada titik koordinat yang sama disemua kondisi.

## 5. 5. Penentuan Molegro Virtual Docking

Sebelum melakukan fase validasi dan docking menggunakan software Molegro Virtual Docker (MVD), terlebih dahulu harus ditentukan parameter program.

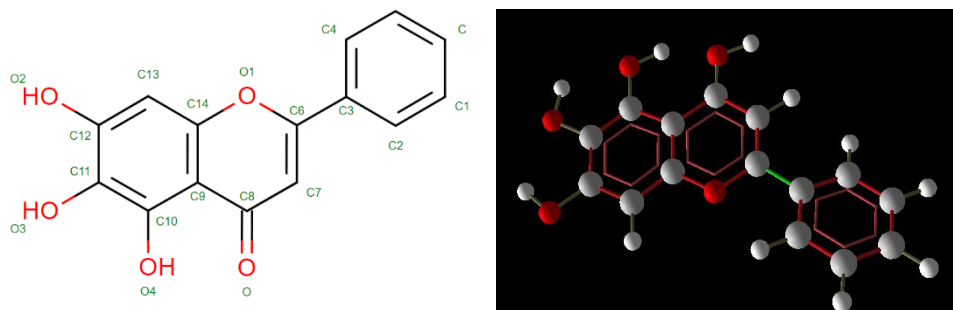
Parameter berikut diatur pada perangkat lunak MVD sebagai berikut :

- a. Scoring Function :
  - Score : MolDock Score [GRID]
  - Grid resolution (Å) : 0,30 Å
  - Ligand evaluation : Internal ES, Internal HBond, Sp2-Sp2 Torsions
- b. Search Algorithm
  - Algorithm : MolDock Optimizer
  - Number of runs : 10
  - After docking : Energy minimization, Optimize H-Bonds
- c. Parameter Setting
  - Max iterations : 1500
  - Max population size : 50
  - Max steps : 300
- d. Multiple Poses : Enable energy threshold

## 5. 6. Validasi Reseptor 6M2N

Validasi metode molecular docking dilakukan menggunakan aplikasi MVD dengan menambatkan ulang (*redocking*) reseptor 6M2N yang sudah dipreparasi. Validasi dilakukan dengan melakukan penambatan menggunakan ligand 3WL\_401 pada *cavity* 4 sebanyak 3 kali. Kemudian dilihat nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*) senyawa hasil docking. Metode dikatakan valid apabila nilai RMSD

yang diperoleh nilai RMSD yang memiliki nilai syarat 2 Å (Angstrom) (Mutaqqin, 2019).



Gambar 5.7. Hasil visualisasi 2D dan 3D *Native ligand* PDB ID 6M2N (3WL\_401)

3WL\_401 [A] merupakan *native ligand* yang berperan aktif dalam reseptor 6M2N. Hasil visualisasi *native ligand* 3WL\_401 [A] atau 5,6,7-trihydroxy-2-phenyl-4H-chromen-4-one dapat diamati pada gambar 5.5. *Native ligand* tersebut memiliki dua cincin aromatik.

*Docking* yang dilakukan pada ligan asli untuk menentukan RMSD, dimana RMSD digunakan untuk melihat validasi protokol *docking*. Dari reseptor 6M2N, ligan asli reseptor diekstraksi dan dimasukkan ke tempat sisi aktif yang sesuai dalam pengikatan untuk menentukan kemampuan ligan dalam mereproduksi orientasi dan posisi inhibitor yang diamati pada struktur kristal di dalam *cavity* (Pratoko, 2012). Ligan kemudian dimasukkan ke dalam *cavity* dengan volume 152,576 kemudian dilakukan docking dengan reseptor. Adapun hasil yang didapat meliputi parameter Rerank Score dan RMSD.

*Rerank score* menunjukkan kekuatan inetraksi, tanpa dipengaruhi oleh gugus bahkan hidrogen bond. *Rerank score* digunakan untuk mengetahui pose terbaik, semakin rendah nilainya maka semakin baik suatu ligan untuk menempel di *cavity* suatu protein (Thomsen and Christensen, 2006). RMSD merupakan jarak

penyimpangan dari posisi ikatan *native ligand* dengan protein setelah didockingkan terhadap posisi ikatan *native ligand* yang sebenarnya. Nilai RMSD ini dapat disebut pula dengan jarak ikatan. Untuk memperoleh metode yang valid, maka dilakukan pengaturan pada *binding site* sehingga diperoleh nilai  $\text{RMSD} \leq 2\text{\AA}$ .

Tabel 5.3 Hasil Validasi Reseptor 6M2N

Ligan	3WL_401[A]			Rerata $\pm$ SD
	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III	
Nilai RMSD ( $\text{\AA}$ )	1,89031	1,87632	1,88609	1,8842 $\pm$ 0,0072
Rerank Score (kkal/mol)	-64,9884	-65,6590	-66,0822	-65,5765 $\pm$ 0,5515

Perlakuan validasi reseptor dengan dilakukannya replikasi sebanyak 3 kali dengan melakukan *redocking* pada *native ligand* dengan *cavity 4* protein target 6M2N. Reseptor 6M2N memiliki empat protein yang berbeda diantaranya seperti 3WL\_401 [A], 3WL\_401 [B], 3WL\_401 [C] dan 3WL\_401 [D]. Protein yang digunakan yaitu protein 3WL\_401 [A] yang berikatan dengan *cavity 4*. Dari reseptor tersebut, didapatkan hasil yang terbaik dilihat dari nilai RMSD yang valid dan memiliki nilai rata – rata yaitu 1,8842  $\text{\AA}$ . Nilai  $\text{RMSD} < 2,0 \text{\AA}$  biasanya digunakan sebagai kriteria kesuksesan metode *docking*. Semakin kecil nilai RMSD menunjukkan bahwa pose ligan yang diprediksi semakin baik karena semakin mendekati konformasi *native* (Agistia, 2013). Dikarenakan sudah valid dan memenuhi syarat maka protokol docking dengan menggunakan reseptor ini dapat diaplikasikan untuk docking senyawa turunan flavonoid dari tanaman *Salvia officinalis* L.

## **5. 7. Docking Senyawa Flavonoid *Salvia officinalis* dan Lopinavir pada**

### **Reseptor 6M2N**

Metode dalam uji in silico melibatkan pemasangan molekul yang aktivitasnya akan diprediksi ke sel target yang dipilih. *Docking* adalah upaya untuk menyelaraskan ligan, yang merupakan molekul kecil, di sel target, yang merupakan molekul protein besar. Pengikatan senyawa turunan flavonoid tanaman *Salvia officinalis* L. dan lopinavir dilakukan secara otomatis menggunakan software MVD dengan koordinat situs ligan asli pada reseptor 6M2N.

Hal yang perlu diperhatikan dalam pelaksanaan docking menggunakan MVD adalah pemilihan senyawa yang akan *didocking* serta tempat senyawa akan berinteraksi dengan reseptor (*cavity*). Parameter yang diukur yaitu energi yang terlibat dapat mengukur kekuatan ikatan obat dengan reseptor seperti MolDock *Score*, *Rerank Score*, *H-bond* (ikatan hidrogen), serta nilai RMSD (Root Mean Square Deviation) (Saifuddin, 2014).

### **5. 7. 1. Hasil Docking Senyawa Flavonoid *Salvia officinalis* dan Lopinavir pada Reseptor 6M2N**

Hasil penambatan molekul yang bagus salah satunya dapat dilihat dengan membandingkan nilai energi binding atau energi bebas ikatan ( $\Delta G$ ). Energi gibbs ( $\Delta G$ ) yang dihasilkan secara spontan menunjukkan kekuatan ikatan antara ligan dengan reseptor, semakin negatif nilai energi tersebut maka semakin besar ikatan yang terbentuk antara ligan dan reseptor (Pratama, 2021). Hasil *docking score* yang diperoleh dari *docking* antara ligan senyawa flavonoid *Salvia officinalis* dan

senyawa pembanding (lopinavir) dengan reseptor 6M2N dengan menggunakan software MVD 6.0 ditunjukkan pada tabel 5.4.

Tabel 5.4 Hasil *docking* senyawa flavonoid *Salvia officinalis* L. dan senyawa pembanding (lopinavir) dengan reseptor 6M2N

Senyawa	Parameter Score	Replikasi (Kkal/mol)			Rerata $\pm$ SD
		Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III	
<i>Luteolin</i>	MolDock Score	-114,47	-114,699	-114,166	-114,445 $\pm$ 0,267
	Rerank Score	-92,2857	-92,7873	-92,2666	-92,447 $\pm$ 0,295
	H-Bond	-10,4161	-10,4898	-10,4228	-10,443 $\pm$ 0,041
<i>Apigenin</i>	MolDock Score	-104,181	-103,62	-104,166	-103,989 $\pm$ 0,3197
	Rerank Score	-88,2498	-79,771	-88,2275	-85,416 $\pm$ 4,889
	H-Bond	-11,0912	-10,9001	-11,1127	-11,035 $\pm$ 0,117
<i>Quercetin</i> *	MolDock Score	-117,264	-117,15	-117,268	-117,227 $\pm$ 0,067
	Rerank Score	-94,2052	-94,0749	-93,9813	-94,087 $\pm$ 0,113
	H-Bond	-11,8226	-11,8327	-11,8236	-11,826 $\pm$ 0,006
<i>Kaempferol</i>	MolDock Score	-100,802	-100,875	-100,22	-100,632 $\pm$ 0,359
	Rerank Score	-85,0375	-85,2683	-84,8345	-85,047 $\pm$ 0,217
	H-Bond	-9,61166	-9,77017	-9,20433	-9,529 $\pm$ 0,292
<i>Catechin</i>	MolDock Score	-112,033	-112,028	-112,057	-112,031 $\pm$ 0,016
	Rerank Score	-95,8801	-95,8889	-95,8834	-95,885 $\pm$ 0,004
	H-Bond	-12,1181	-12,1137	-12,134	-12,116 $\pm$ 0,011
Lopinavir	MolDock Score	-191,303	-167,802	-181,866	-180,324 $\pm$ 11,826
	Rerank Score	-98,781	-103,797	-106,068	-102,882 $\pm$ 3,7287
	H-Bond	-1,77908	-1,77307	-1,16647	-1,573 $\pm$ 0,352

**Keterangan:**

\* : Senyawa yang memiliki Moldock Score paling rendah

Hasil *docking* pada reseptor Mpro PDB ID 6M2N dengan senyawa turunan flavonoid tanaman *Salvia officinalis* L. dan senyawa pembanding (lopinavir) dapat dilihat pada tabel 5.4 dengan nilai rerata Moldock Score terendah sebesar -117,227 kkal/mol pada senyawa uji *quercetin*. Sedangkan senyawa pembanding (lopinavir) sebagai senyawa pembanding memiliki nilai rerata Moldock Score sebesar -

180,324 kkal/mol. Hal ini menunjukkan bahwa dari lima senyawa uji, senyawa quercetin memiliki energi yang paling kuat menempel dengan reseptor pada cavity 4. Namun energi dari senyawa quercetin tidak lebih kuat menempel dari senyawa pembanding (lopinavir). Berdasarkan hasil docking pada tabel 5.4 nilai rerank score terendah adalah senyawa uji *catechin* yaitu sebesar -95,885 kkal/mol.

MolDock *score* didasarkan pada algoritma pencarian kandidat obat baru dengan algoritma prediksi *cavity*. MolDock secara otomatis mengidentifikasi situs pengikatan potensial (selanjutnya disebut sebagai *cavity*) menggunakan algoritma deteksi *cavity*. MolDock memiliki nilai *hydrogen bond* yang dimasukkan kedalam parameter nilai *moldock score* secara sistematis pada aplikasi MVD. Nilai ini cukup akurat digunakan sebagai parameter *binding affinity* dari program MVD, hal ini terbukti dari penelitian Thomsen and Christensen (2006) yang memperkenalkan MolDock, berdasarkan evolusi diferensial terpandu dan fungsi penilaian docking. Peneliti melakukan *redocking* pada 77 protein target untuk mencari RMSD kemudian dievaluasi aktivitasnya. Hasil percobaan menunjukkan bahwa MolDock memiliki akurasi docking yang tinggi sehubungan dengan identifikasi mode pengikatan ligan yaitu sebesar 87%. MolDock *score* menunjukkan energi yang digunakan selama proses docking (Pratoko, 2012). Fungsi penskoran MolDock, yaitu sesuai dengan Potensi Linear Sepotong (PLP), digunakan untuk proses *docking molecular* dengan ligan (Vaezi *et al.*, 2020).

Prediksi aktivitas senyawa uji ketika terikat pada reseptor target dilihat dari nilai *rerank Score*-nya. Senyawa uji yang memiliki nilai afinitas lebih rendah diprediksi memiliki kemampuan berikatan yang lebih stabil (Suhadi *et al.*, 2019).

Semakin rendah nilai *rerank score*, semakin kuat ikatan antara ligan dan reseptor. Hal ini menunjukkan pose terbaik yang diperoleh. Jika ikatan ligan pada reseptor lebih kuat maka senyawa tersebut dapat dikatakan memiliki aktivitas yang lebih besar, sehingga dapat dikatakan lebih aktif daripada senyawa dengan nilai *rerank score* yang tinggi (Zaidan et al., 2020). H-bond score dalam hasil *docking* senyawa flavonoid *Salvia officinalis* L. dan senyawa pembanding (lopinavir) dengan reseptor 6M2N akan berpengaruh terhadap asam amino yang akan dihasilkan. Skor *docking* dan H-bond yang terbentuk dengan asam amino dari atom interaksi kelompok digunakan untuk memprediksi mode pengikatan, afinitas pengikatan, dan orientasi ligan yang ditambahkan di *active site* reseptor (Pintilie, 2021).

Nilai *rerank score* yang lebih rendah memberikan arti bahwa ligan memiliki kestabilan yang lebih baik, namun nilai energi ikatan yang terjadi pada ligan uji juga bernilai negatif, hal ini menunjukkan bahwa ligan uji senyawa turunan flavonoid tanaman *Salvia officinalis* L. berpotensi memiliki aktivitas menghambat replikasi SARS CoV-2. Senyawa uji yang paling potensial sebagai inhibitor reseptor protease utama (ID PDB: 6M2N) ditunjukkan dengan setelah nilai residu asam amino senyawa uji dilakukan banding dengan senyawa pembanding.

### **5. 7. 2. Hasil Interaksi Ligan dengan Asam Amino**

Adanya residu asam amino yang memiliki kemiripan dengan *native ligand* menunjukkan bahwa ligan mampu menghambat aktifitas protein target dan berpotensi memiliki fungsi yang sama dengan *native ligand* (Syahputra et al., 2014).

Tabel 5.5 Asam amino yang terlibat dalam ikatan hidrogen dan sterik pada enzim 6M2N

Senyawa	Ikatan Hidrogen		Ikatan Sterik	
	Asam Amino	Gugus Ligan	Asam Amino	Gugus Ligan
<i>Native Ligand</i>	Leu 141	O No. 18	Asn 142	C No. 12
	Gly 143	O No. 18	Met 165	O No. 9
	Gly 143	O No. 17		
	Glu 166	O No. 9		
<i>Luetolin</i>	Cys 145	O No.16	Arg 188	O No 9
	Gly 143	O No. 16	Asp 187	O No 9
	Ser 144	O No.16	His 164	O No 12
	Ser 144	O No.18	Leu 141	C No. 14
	Leu 141	O No.16	His 41	O No 3
	Leu 141	O No.18	Leu 141	O No 18
			Ser 144	O No 18
			Gly 143	O No 18
<i>Apigenin</i>	Tyr 54	O No. 17	Cys 145	C No 8
	Cys 44	O No 17	Asn 142	O No 9
	Gly 143	O No 9	Gly 143	O No 9
	Glu 166	O No 6	Glu 166	O No 6
	Glu 166	O No 3	Tyr 54	O No 17
			Cys 44	O No 17
			Asp 187	O No 17
			Asp 48	O No 17
<i>Quercetin</i>	Cys 145	C No. 8	Cys 145	O No 17
	Asn 142	O No. 2	Cys 145	O No 17
	Gly 143	O No.17	Gly 143	O No 17
	Cys 145	O No.17	Ser 144	O No 17
	Ser 144	O No. 17	Leu 141	O No 17
	Ser 144	O No. 19	Asn 142	O No 2
	Leu 141	O No. 17	Arg 188	O No 10
	Leu 141	O No. 19	Ser 144	O No 10
<i>Kaempherol*</i>			Leu 141	O No 10
			Asp 187	O No 10
	His 164	O No. 2	Thr 26	O No 10
	Met 49	O No. 18	Gly 143	O No 7
	Thr 26	O No 10	His 41	O No 13
	Gly 143	O No 7	His 41	C No 0
			Cys 145	O No 7
			Asn 142	O No 7
<i>Catechin</i>			His 164	O No 2
			Asp 187	O No 18
			Met 49	O No 18
			Cys 145	O No 18
	Cys 145	O No. 16	Arg 188	O No. 9
	Gly 143	O No. 16	Asn 142	O No. 2
	Asn 142	O No. 2	Ser 144	O No 18
	Ser 144	O No. 18	Ser 144	O No 16
Ser 144	O No. 16	Leu 141	O No 16	
Leu 141	O No. 18	Leu 141	O No 18	
Leu 141	O No. 16	Cys 145	O No 16	
		Gly 143	O No 16	

Senyawa	Ikatan Hidrogen		Ikatan Sterik	
	Asam Amino	Gugus Ligan	Asam Amino	Gugus Ligan
Lopinavir	Glu 166	O No. 36	Asn 142	C No 8
	His 41	O No. 24	Asn 142	O No. 13
	Asn 142	O No. 13	His 41	O No 24
			His 164	O No 24
			Asp 187	C No 31
			Met 49	C No 3
			Glu 166	C No 43
			Met 165	C No 36

**Keterangan:**

\* : Senyawa yang memiliki residu asam amino paling mirip dengan senyawa pembanding (lopinavir)

Adanya interaksi asam amino yang terlibat memungkinkan adanya kontak antara ligan dengan reseptor sehingga memiliki aktivitas penghambatan. Area ikatan (*Binding site*) merupakan area dari pengikatan protein terhadap ligan yang akan mempengaruhi konformasi maupun fungsi dari protein. Area *binding site* akan memperlihatkan residu-residu asam amino yang berperan penting dalam membentuk interaksi antara makromolekul dengan ligan seperti ikatan hidrogen, ikatan hidrofobik, dan ikatan elektrostatik (Sari, *et al.*, 2020).

Skor *docking* dan ikatan hidrogen yang terbentuk dengan asam amino dari interaksi atom digunakan untuk memprediksi mode pengikatan, *binding affinity*, dan orientasi ligan yang ditambatkan di *active site* reseptor. Reseptor Mpro dengan PDB ID 6M2N memiliki lebih dari beberapa residu asam amino dari *active site*. Pose *docking* dari 3WL A yang berinteraksi dengan amino residu asam dari *active site* dan ikatan hidrogen yaitu residu asam amino Glu 166, Gly 143 dan Asn 142 sehingga kemungkinan memiliki efek penghambatan pada senyawa (Pintilie, 2021).

Analisa residu yang terlibat dalam interaksi antara senyawa dan Mpro yaitu senyawa berinteraksi dengan dua residu katalitik penting His41 dan Cys145 dari *active site* reseptor 6M2N. Kedua residu ini hadir dalam domain katalitik Mpro dan

secara aktif berpartisipasi dalam aktivitas katalik Mpro. Oleh karena itu, pengikatan senyawa flavonoid pada residu ini dapat mengurangi aktivitas katalitik Mpro yang pada akhirnya akan menyebabkan pengurangan replikasi virus (Gogoi, 2021). Hal ini menunjukkan bahwa interaksi residu asam amino yang terbentuk sesuai dengan literatur penelitian terdahulu yang menggunakan protein 6M2N sehingga dapat dikatakan bahwa penelitian ini sudah benar terkait hasilnya karena residu asam amino yang didapat dengan diliteratur sama.

Adanya interaksi asam amino yang terlibat memungkinkan adanya kontak antara ligan dengan reseptor sehingga memiliki aktivitas penghambatan. Berdasarkan hasil penambatan tersebut diperoleh residu asam amino dari *native ligand* yaitu, Leu 141, Gly 143, Glu 166, Asn 142, dan Met 165. Sedangkan residu asam amino dari obat pembanding (lopinavir) yang terlibat yaitu, Glu 166, His 41, Asn 142, Met 49, Met 165, dan Asp 187 yang dapat dilihat pada Gambar 5.7 Hasil tersebut dijadikan sebagai acuan untuk membandingkan residu asam amino yang berikatan pada ligan uji yaitu turunan senyawa flavonoid dalam menghambat replikasi SARS CoV-2.

Untuk senyawa terhadap 6M2N, residu asam amino *luteolin* yang memiliki kesamaan dengan senyawa pembanding (lopinavir) menunjukkan interaksi Asp 187, His 164, dan His 41 yang terbaca pada *ligand map*. Senyawa *apigenin* memiliki kesamaan dengan senyawa pembanding (lopinavir) yaitu Glu 166, Glu 166, Glu 166, Asn 142, dan Asp 187. *Quercetin* memiliki kesamaan dengan senyawa pembanding (lopinavir) yaitu adanya interaksi Asn 142, Asn 142 dan Asp 187. Interaksi asam amino senyawa *kaempferol* memiliki kesamaan dengan

senyawa pembanding (lopinavir) yaitu His 164, His 41, His 41, Asn 142, Asp 187, dan Met 49. Residu asam amino *catechin* yang memiliki kesamaan dengan senyawa pembanding (lopinavir) menunjukkan interaksi asam amino Asn 142 dan Asn 142.

*Quercetin* memang memiliki nilai *Moldock score* yang terendah dan diprediksi memiliki kekuatan ikatan paling besar dibanding senyawa uji lainnya. Tetapi hanya residu asam amino Asn 142 saja yang sama dengan residu asam amino yang berperan penting dalam mengikat ligand pada reseptor 6M2N (Pintilie, 2020). Hal ini menjadikan senyawa *quercetin* kurang potensial dibandingkan senyawa uji lainnya untuk dijadikan anti SARS-CoV-2.

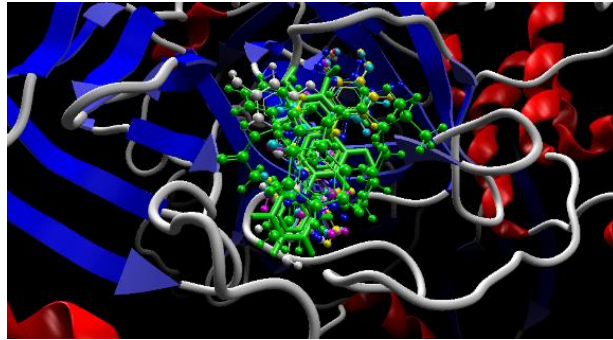
Residu asam amino senyawa *kaempferol* memiliki kesamaan dengan senyawa pembanding (lopinavir) paling mirip dibandingkan dengan senyawa uji lainnya. Selain itu pada senyawa tersebut juga didapatkan residu asam amino Glu 166, Gly 143, Asn 142, Cys 145 dan His 41 yang terbaca pada *ligand map* yang ini menunjukkan kemiripan dengan asam amino senyawa *native ligand* dan memiliki penting dalam mengikat ligand pada reseptor 6M2N (Pintilie, 2020 dan Gogoi, 2021). Selain itu, menurut penelitian Su (2020) situs aktif 6M2N memiliki katalitik Cys-His (Cys145 dan His41). Inhibitor terikat di wilayah inti dari situs pengikatan substrat pada permukaan protease. Senyawa tersebut berikatan dengan reseptor dan memiliki ikatan yang stabil, serta memiliki kemiripan dengan *native ligand* yang menunjukkan bahwa ligan mampu menghambat aktifitas protein target dan berpotensi memiliki fungsi yang sama dengan *native ligand* (Syahputra et al., 2014).

Ikatan hidrogen merupakan ikatan yang terkuat di antara ikatan non-kovalen lainnya namun ikatan hidrogen lebih lemah dibandingkan ikatan ion atau ikatan kovalen, oleh karena itu ikatan hidrogen paling banyak tersebar dalam menghasilkan aktivitas farmakologi, sehingga penting untuk dilakukan analisis terhadap ikatan hidrogen apa saja yang terbentuk (Pratama, 2021). Ikatan hidrogen dari residu asam amino senyawa yang sama dengan lopinavir muncul pada asam amino Asn 142, His 41, dan Glu 16. Asam amino asparagin memiliki gugus amida dalam rantai sampingnya yang biasanya berpartisipasi dalam ikatan hidrogen sedangkan pada ligan atom yang berpartisipasi adalah atom O. Selanjutnya asam amino histidin memiliki gugus imidazol yang bersifat basa dalam rantai sampingnya dan berpartisipasi dalam ligan atom O. Asam amino glutamat memiliki gugus karboksil pada rantai sampingnya serta pada ligan atom yang berpartisipasi adalah atom O (Denise, 2014).

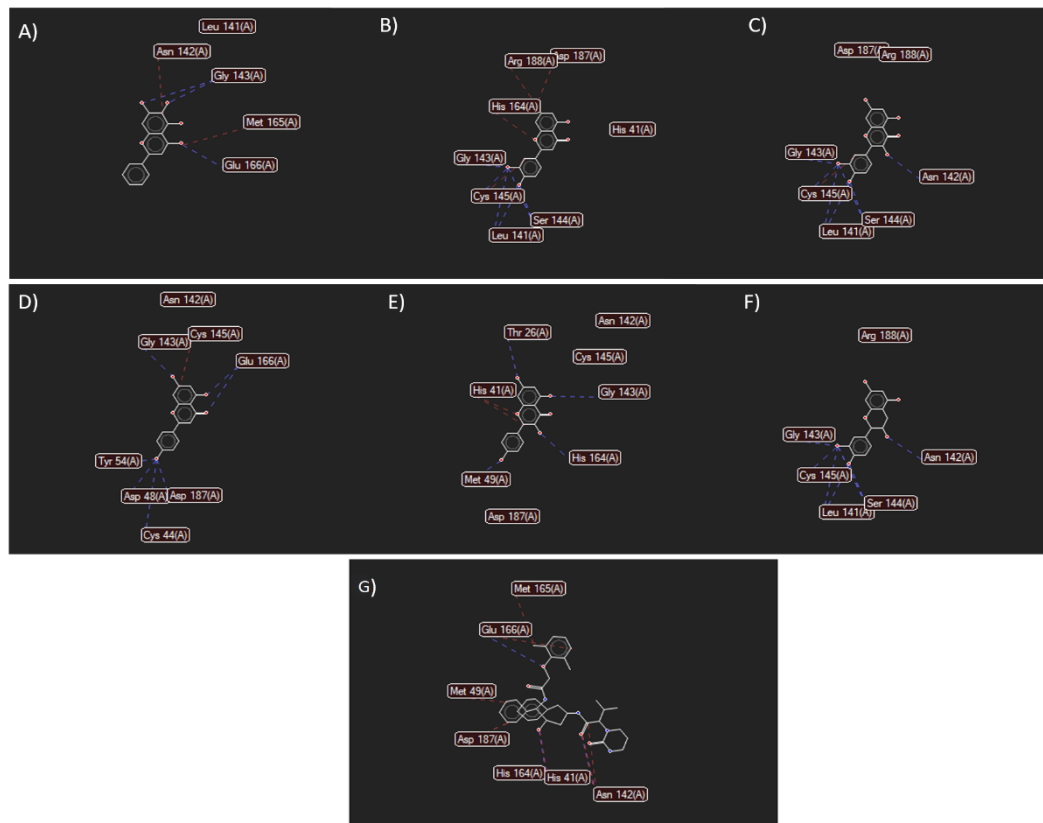
Interaksi sterik terjadi pada beberapa residu asam amino antara senyawa uji dan senyawa pembanding. Ikatan sterik (van der Waals) yaitu kekuatan tarik menarik antara molekul atau atom yang tidak bermuatan, dan letaknya berdekatan atau jaraknya 4-6 Å. Ikatan ini terjadi karena sifat kepolarisasian molekul atau atom. Meskipun secara individu lemah tetapi hasil penjumlahan ikatan sterik merupakan faktor pengikat yang cukup bermakna, terutama untuk senyawa-senyawa yang mempunyai berat molekul tinggi. Ikatan sterik terlibat pada interaksi cincin benzen dengan daerah bidang datar reseptor dan pada interaksi rantai hidrokarbon dengan makromolekul atau reseptor (Siswandono dan Soekardjo, 2000). Ikatan sterik dari residu asam amino senyawa yang sama dengan lopinavir muncul pada asam amino

Asn 142, His 41, His 164, Asp 187, Met 49, Met 165 dan Glu 16. Asam amino asparagin memiliki gugus amida dalam rantai sampingnya yang biasanya berpartisipasi dalam ikatan sterik sedangkan pada ligan atom yang berpartisipasi adalah atom C. Selanjutnya asam amino histidin memiliki gugus imidazol yang bersifat basa dalam rantai sampingnya dan berpartisipasi dalam ikatan sterik pada ligan atom O. Asam amino aspartat dan glutamat memiliki gugus karboksil pada rantai sampingnya serta pada ligan atom yang berpartisipasi dalam ikatan sterik adalah atom C (Denise, 2014).

Hasil visualisasi gambar 5.8 menunjukkan bahwa residu asam amino senyawa *kaempferol* mendekati senyawa pembanding walaupun hanya beberapa asam amino yang dapat berinteraksi pada area *binding site*. Semua senyawa turunan flavonoid memiliki beberapa residu asam amino yang sama dengan obat pembanding lopinavir. Hal ini menandakan adanya kesamaan antara residu senyawa dengan obat pembanding lopinavir yang berpotensi senyawa-senyawa tersebut memiliki aktivitas yang sama. Sehingga dimungkinkan senyawa uji *kaempferol* memiliki aktivitas penghambatan pada reseptor 6M2N yang lebih baik dibandingkan senyawa uji dari turunan flavonoid *Salvia officinalis* L. yang lainnya, meski aktivitas penghambatannya tidak sekuat lopinavir.



Gambar 5.7 Hasil docking senyawa lopinavir (hijau), *catechin* (kuning), *quercetin* (biru muda), *luteolin* (ungu), *kaempferol* (putih), *apigenin* (biru tua), dan *native ligand* (hijau nyala) terhadap reseptor 6M2N (A)



Gambar 5.8 Hasil interaksi asam amino antara reseptor 6M2N dengan (A) *native ligand*, (B) *luteolin*, (C) *apigenin*, (D) *quercetin*, (E) *kaempferol*, (F) *catechin*, (G) *lopinavir*

**Keterangan gambar :**

Garis biru : ikatan hidrogen

Garis merah : ikatan sterik

Gambar 5. 7 merupakan gambar hasil docking senyawa lopinavir dengan senyawa uji lainnya. Gambar 5. 8 menunjukkan interaksi ikatan hidrogen (garis putus warna biru) dan interaksi sterik (garis putus warna merah) antara molekul senyawa uji dengan asam amino dalam *active site* secara 2 dimensi. Visualisasi dan analisis interaksi hasil docking dilakukan untuk melihat hasil penambatan antara ligan pembanding dan ligan uji yang digunakan. Hasil visualisasi ini berupa interaksi residu asam amino dengan ligan. Adanya interaksi asam amino yang terlibat memungkinkan adanya kontak antara ligan dengan reseptor 6M2N sehingga memiliki aktivitas penghambatan replikasi (Sari, *et al.*, 2020).

#### **5. 8.Prediksi Sifat Fisikokimia**

Prediksi *in silico* nilai parameter sifat fisikokimia senyawa turunan flavnoid tanaman *Salvia officinalis* L. dan senyawa pembanding dapat dilihat pada Tabel 5.6. Tahun 1971 Lipinski *et al.* menyimpulkan bahwa senyawa akan sulit diabsorpsi dan permeabilitasnya rendah apabila mempunyai: berat molekulnya lebih besar 500, nilai log koefisien partisi oktanol/air (log P) lebih besar dari 5, ikatan-H donor (HBD), yang dinyatakan dengan jumlah gugus O-H dan N-H, lebih besar 5, dan ikatan-H aseptor (HBA) yang dinyatakan dengan jumlah atom O dan N lebih besar 10 yang kemudian dikenal sebagai hukum lima Lipinski. Berdasarkan aturan Lipinski maka senyawa dari tanaman *Salvia officinalis* L. dan obat pembanding (lopinavir) telah memenuhi kriteria dapat dilihat pada tabel 5.6

Tabel 5.6 Hasil studi pendahuluan prediksi sifat fisikokimia senyawa turunan flavonoid dari tanaman *Salvia officinalis* L. dan obat perbandingan (lopinavir)

Senyawa	Parameter Hukum Lima Lipinski						Penerapan Hukum 5 Lipinski
	BM (g/mol)	Log P	Torsion	HBA	HBD	TPSA (Å <sup>2</sup> )	
<i>Luteolin</i>	286.24	1.73	1	6	4	111.13	Ya, 0 Kesalahan
<i>Apigenin</i>	270.24	2.11	1	5	3	90.90	Ya, 0 Kesalahan
<i>Quercetin</i>	302.24	1.23	1	7	5	131.36	Ya, 0 Kesalahan
<i>Kaempferol</i>	286.24	1.58	1	6	4	111.13	Ya, 0 Kesalahan
<i>Catechin</i>	290.27	0.83	1	6	5	110.38	Ya, 0 Kesalahan
Lopinavir	628.80	4.40	17	5	4	120.00	Ya, 1 Kesalahan

**Keterangan tabel :**

- BM : Berat Molekul <140  
 Log P : Koefisien Partisi <140  
 Torsion : Ikatan H yang dapat berotasi 0-15  
 HBA : Jumlah atom O dan N <10  
 HBD : Jumlah atom OH dan NH <5  
 TPSA : Topological Polar Surface Area <140

Pada tabel 5.6 dapat dianalisis bahwa semua senyawa turunan flavonoid tanaman *Salvia officinalis* L. yang diteliti memenuhi persyaratan hukum lima Lipinski. Sifat fisikokimia suatu ligan dapat ditentukan ketika melintasi membran sel dalam tubuh maka dilakukan uji Lipinski. Berdasarkan hasil paparan tabel 5.6 di atas, hanya senyawa perbandingan (lopinavir) yang memiliki berat molekul lebih dari 500 dan nilai torsion lebih dari 10. Senyawa lainnya lulus skrining memiliki berat molekul  $\leq 500$ ,  $\log P \leq 5$ , jumlah ikatan-H donor  $\leq 5$ , ikatan-H aseptor  $\leq 10$ , nilai torsion  $\leq 10$  dan nilai TPSA  $\leq 140 \text{ \AA}$ . Sehingga senyawa-senyawa tersebut memenuhi Hukum Lima Lipinski dan dapat diprediksi bahwa senyawa tersebut mudah untuk diabsorpsi, memiliki permeabilitas yang baik, dan mempunyai bioavailabilitas oral yang baik, selain senyawa perbandingan (lopinavir).

Senyawa perbandingan (lopinavir) memiliki jumlah yang paling besar yaitu 628.80 g/mol. Sedangkan berat molekul senyawa turunan flavonoid yang memiliki jumlah paling besar adalah *quercetin* dengan nilai sesesar 302.24 g/mol. Berat molekul yang lebih dari 500 g/mol tidak dapat berdifusi menembus membran sel

(Syahputra *et al.*, 2014). Jika berat molekul suatu senyawa  $> 500$ , artinya senyawa tersebut memiliki ukuran yang besar sehingga proses absorpsi akan semakin lama (Adriani, 2018). Hasil tersebut menunjukkan bahwa berat molekul suatu senyawa tergantung pada jumlah atom yang menyusunnya. Semakin banyak atom yang menyusunnya maka berat molekulnya juga semakin besar, dan begitu juga sebaliknya (David, 2002).

Nilai Log-P dari semua senyawa turunan flavonoid dan senyawa pemabanding (lopinavir) tersebut kurang dari 5 dan tidak terlalu negatif sehingga senyawa tersebut mempunyai lipofilitas yang baik. Salah satu faktor suatu senyawa obat cenderung memiliki toksisitas tinggi yaitu nilai Log P yang lebih besar dari 5. Hal ini mengakibatkan selektifitas ikatan obat terhadap enzim target menjadi berkurang dikarenakan obat tersebut tertahan lebih lama pada lipid bilayer dan terdistribusi lebih luas di dalam tubuh. Dan begitu juga sebaliknya apabila nilai Log P yang terlalu negative membuat molekul obat tidak dapat melewati membran lipid bilayer (La Kilo *et al.*, 2019).

Jumlah ikatan yang dapat diputar merupakan hal penting dan harus diperhatikan dalam suatu senyawa. Molekul dengan gaya torsion yang lebih besar akan lebih fleksibel dan memiliki ikatan dengan daerah pengikat dengan baik (Shekhar *et al.*, 2018). Hasil yang tertera dalam tabel diatas menunjukkan nilai torsion terbesar adalah senyawa pemabanding (lopinavir) yaitu sebesar 17. Sedangkan nilai torsion dari senyawa turunan flavonoid sebesar 1.

Nilai *hydrogen bond donor* pada senyawa di atas tidak mengandung senyawa dengan nilai lebih besar dari 5. Sedangkan nilai *hydrogen bond acceptor*

senyawa juga tidak mengandung senyawa dengan nilai lebih besar dari 10. Semakin besar jumlah nilai *hydrogen bond donor* dan *hydrogen bond acceptor*, maka semakin tinggi energi yang dibutuhkan untuk terjadinya absorpsi (Syahputra, 2014). Ini karena nilai nilai *hydrogen bond donor* dan *hydrogen bond acceptor* terkait dengan aktivitas biologis obat. Sifat perubahan suatu senyawa seperti titik didih, titik leleh dan kelarutan dalam air dipengaruhi oleh ikatan hidrogen, perubahan tersebut dapat mempengaruhi aktivitas biologis senyawa tersebut (Narko et al., 2017). Selain itu, jumlah donor dan akseptor hidrogen dalam ligan menentukan fleksibilitas dan kemampuan adaptasi ligan untuk berikatan dengan enzim atau protein target (Jamuna et al., 2018).

Semua senyawa turunan flavonoid dan pembanding (lopinavir) memiliki nilai TPSA kurang dari 140 Å. Hasil ini menunjukkan bahwa semua senyawa memiliki luas permukaan spesifik yang diperlukan untuk mengikat sebagian besar reseptor target. Atom oksigen dan nitrogen di pusat polaritas diperhitungkan untuk perhitungan. TPSA telah terbukti menjadi deskriptor yang sangat baik dari penyerapan obat, termasuk penyerapan usus, bioavailabilitas, permeabilitas, dan penetrasi sawar darah otak (Kumar et al., 2009). Senyawa yang memiliki nilai TPSA lebih dari 140 Å akan cenderung sulit menyerap dalam membran sel (Ertl et al., 2000).

### **5. 9. Predeksi Toksisitas**

Setelah prediksi aktivitas, senyawa turunan flavonoid dari tanaman *Salvia officinalis* L. juga diprediksi sifat toksisitasnya. Meskipun obat tradisional sudah dimanfaatkan sejak lama namun tidak sepenuhnya aman, karena obat tradisional

merupakan senyawa asing bagi tubuh, sehingga sangatlah penting mengetahui potensi ketoksikannya (Nirwanto, 2017). Metode toksikologi *in silico* menunjukkan kegunaan dalam menghasilkan informasi toksisitas suatu senyawa. Prediksi toksisitas melalui situs [https://tox-new.charite.de/prottox\\_II/](https://tox-new.charite.de/prottox_II/) dapat diakses secara bebas dengan menggunakan parameter LD<sub>50</sub> dengan aplikasi *Prottox II Online Tools* yang diakses secara bebas. Klasifikasi kelas toksisitas senyawa didasarkan pada Globally Harmonized System (GHS) yang terbagi dalam 6 kelas.

Tabel 5.7 Prediksi toksisitas menggunakan Prottox Online Tool dan pkCSM Online Tool

Senyawa	Toksistas				
	LD <sub>50</sub> (mg/kg)*	Kelas toksistas*	Uji Mutagenik AMES**	Toksik terhadap hepar**	Sentivitas kulit **
<i>Luteolin</i>	2500mg/kg	5	Tidak	Tidak	Tidak
<i>Apigenin</i>	2500mg/kg	5	Tidak	Tidak	Tidak
<i>Quercetin</i>	159mg/kg	3	Tidak	Tidak	Tidak
<i>Kaempferol</i>	3919mg/kg	5	Tidak	Tidak	Tidak
<i>Catechin</i>	10000mg/kg	6	Tidak	Tidak	Tidak
Lopinavir	5000mg/kg	5	Tidak	Ya	Tidak

Keterangan :

\* Menggunakan *Prottox Online Tool*

\*\* Menggunakan *pkCSM Online Tool*

Kemudian prediksi toksisitas senyawa turunan flavonoid tanaman *Salvia officinalis* L. meliputi prediksi *Ames toxicity*, *Skin sensitization* dan *Hepatotoxicity*.

Uji toksisitas menggunakan situs <https://biosig.unimelb.edu.au/pkcsm/prediction> bertujuan untuk memprediksi resiko yang dapat ditimbulkan dari suatu zat kimia pada tubuh. Hasil prediksi toksisitas senyawa turunan flavonoid dari tanaman *Salvia officinalis* L. dan senyawa pembanding (Lopinavir) ditunjukkan pada tabel 5.7

Penggunaan dari LD<sub>50</sub> merupakan suatu panduan kasar mengenai toksisitas relatif. Dalam menentukan nilai LD<sub>50</sub>, *dosage* diekspresikan dalam mg/kg berat

badan atau mg/cm<sup>2</sup>. Nilai tersebut dapat digunakan dalam menilai potensi toksisitas akut suatu senyawa atau bahan obat. Berdasarkan tabel 5.7 Hasil yang didapatkan senyawa *luteolin* dan *apigenin* memiliki nilai LD<sub>50</sub> sebesar 2500 mg/kg, *kaempferol* sebesar 3919 mg/kg, dan pembanding lopinavir 5000 mg/kg yang keempat senyawa ini tergolong dalam kelas 5 yaitu sedikit berbahaya jika tertelan. Hasil prediksi toksistas tersebut menunjukkan bahwa senyawa *catechin* yang masuk kedalam kelas 6 memiliki toksisitas yang sangat rendah dengan nilai LD<sub>50</sub> sebesar 10000 mg/kg. Hanya senyawa *quercetin* yang masuk kedalam kelas 3, yang sedikit lebih beracun jika tertelan dengan nilai LD<sub>50</sub> 159 mg/kg. Semakin tinggi nilai LD<sub>50</sub> maka semakin rendah pula toksisitasnya (Gadaleta *et al.*, 2019).

Selanjutnya adalah *Ames Toxicity* atau uji mutagenik, merupakan uji skrining primer yang dilakukan untuk mengetahui kemungkinan adanya senyawa yang bersifat mutagen. Metode yang digunakan untuk mendeteksi efek mutagenik adalah metode Ames, berdasarkan sistem mutasi balik. Dari beberapa penelitian, zat yang bersifat mutagenik kemungkinan dapat bersifat karsinogenik (Sulistyaningrum, 2013). Hasil yang didapatkan adalah semua senyawa yang diuji tidak mempunyai potensi mutagenik.

Uji toksisitas berikutnya adalah *hepatotoxicity* dan *skin sensitization*. Berdasarkan tabel 5.7 hanya senyawa pembanding (lopinavir) yang diprediksi toksik terhadap hepar sedangkan semua senyawa turunan flavonoid tanaman *Salvia officinalis* L. yang diuji tidak toksik terhadap hepar. Hasil prediksi toksisitas lopinavir yaitu toksik terhadap hepar. Penggunaan lopinavir dapat menyebabkan disfungsi hati (Sifareina, 2021). Hasil prediksi toksisitas untuk uji *skin sensitization*

atau sensitivitas kulit menunjukkan bahwa semua senyawa turunan flavonoid tanaman *Salvia officinalis* L. dan pembanding (lopinavir) tidak mengiritasi kulit.

#### **5. 10. Analisis Data Statik**

Nilai rerank score yang didapatkan kemudian dianalisis secara statistik menggunakan aplikasi *SPSS Statistics 26.0 for Windows*. Uji Kruskal Wallis adalah uji nonparametrik berbasis peringkat yang tujuannya untuk menentukan adakah perbedaan signifikan secara statistik antara dua atau lebih kelompok variabel independen pada variabel dependen yang berskala data numerik (interval atau rasio) dan skala ordinal (Priyatno, 2013).

##### **5. 10 1. Uji Normalitas**

Uji normal digunakan untuk menguji suatu model regresi apakah suatu variabel bebas dan variabel terikat atau keduanya berdistribusi normal atau tidak. Jika tidak berdistribusi normal maka hasil uji statistik akan menurun. Tes standar yang umum digunakan untuk melakukan analisis data adalah ShapiroWilk dan Kolmogorov Smirnov. Pada penelitian ini memiliki hasil  $< 50$  sampel maka dipilih metode ShapiroWilk untuk menganalisis data. Data dapat dinyatakan normal apabila nilai signifikansi (Sig.)  $> 0,05$  sedangkan data dapat dinyatakan tidak terdistribusi normal apabila nilai signifikansi (Sig.)  $< 0,05$  (Narita, *et al.*, 2020).

Tabel 5.8. Hasil uji normalitas *Shapiro-Wilk* rerank score senyawa monoterpen Peppermint pada reseptor 6M2N

Senyawa	Sig.
<i>Luteolin</i>	,062
<i>Apigenin</i>	,004
<i>Quercetin</i>	,820
<i>Kempherol</i>	,929
<i>Catechin</i>	,726
Lopinavir	,591

Signifikasi dari senyawa *luteolin*, *quercetin*, *kaempherol*, *catechin* dan lopinavir memiliki nilai  $\geq 0,05$  sedangkan senyawa *apigenin* memiliki nilai  $\leq 0,05$ . Hasil ini menunjukkan bahwa data ini tidak terdistribusi secara normal. Data yang dihasilkan tidak terdistribusi secara normal dan tidak memiliki varian yang homogen maka dilakukan perlakuan untuk uji Kruskall-Wallis (Purnomo dan Syamsul, 2017).

#### 5. 10 2. Uji Kruskall-Wallis

Uji Kruskal-Wallis merupakan uji statistik nonparametrik yang dapat digunakan untuk menguji ada tidaknya perbedaan yang signifikan antara Uji Kruskal-Wallis merupakan uji statistik nonparametrik yang dapat digunakan untuk menguji ada tidaknya perbedaan yang signifikan antara sekelompok variabel bebas dan variabel terikat. Nilai signifikasi yang dinyatakan  $\geq 0,05$  menandakan data tersebut tidak memiliki perbedaan rerata yang bermakna. Sebaliknya, apabila nilai signifikasi  $\leq 0,05$  maka dapat dikatakan bahwa data memiliki perbedaan rata-rata yang bermakna (Purnomo dan Syamsul, 2017). Hasil dari uji Kruskall-Wallis rerank score senyawa turunan flavonoid tanaman *Salvia officinlais* L. pada reseptor Mpro (6M2N) dapat dilihat pada tabel 5.9.

Tabel 5.9. Hasil uji Kruskal-Wallis rerank score senyawa turunan flavonoid tanaman *Salvia officinalis* L. pada reseptor 6M2N

Mpro (6M2N)	Sig.
	,080

Setelah dilakukan uji didapatkan hasil yang tertera pada tabel 5.9. Signifikasi yang didapatkan lebih dari 0,05 hal tersebut menandakan tidak adanya perbedaan rerata dari rerank score yang bermakna pada senyawa turunan flavonoid tanaman *Salvia officinlais* L. pada reseptor 6M2N.

## BAB VI

### PENUTUP

#### 6. 1. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat ditarik kesimpulan yaitu :

1. Kelima senyawa turunan flavonoid tanaman *Salvia officinalis* L. memenuhi Hukum Lima Lipinski yaitu *luteolin*, *quercetin*, *apigenin*, *kaempferol*, dan *catechin*.
2. Senyawa turunan flavonoid tanaman *Salvia officinalis* L. menurut Globally Harmonized System (GHS) yang tergolong pada kelas 6 ( $LD50 > 5000$  mg/kg) adalah senyawa *catechin*. Senyawa *luteolin*, *apigenin*, dan *kaempferol* masuk pada kelas 5 ( $2000 < LD50 \leq 5000$  mg/kg). Untuk *quercetin* tergolong pada kelas 3 ( $50 < LD50 \leq 300$  mg/kg).
3. Semua senyawa turunan golongan flavonoid pada tanaman *Salvia officinalis* L. memiliki interaksi dengan reseptor Mpro PDB ID 6M2N pada *cavity* 4 yang berpotensi mampu menghambat replikasi reseptor Mpro SARS-CoV-2. Dari kelima senyawa tersebut senyawa *kaempferol* direkomendasikan sebagai obat antivirus karena memiliki ikatan hydrogen, ikatan sterik dan residu asam amino hampir mirip dengan senyawa pembanding dan *native ligand* terhadap reseptor Mpro (6M2N).

## 6. 2. Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka peneliti memberikan saran kepada peneliti selanjutnya yaitu :

1. Mencoba melakukan mdocking antara senyawa lain yang terkandung dalam tanaman *Salvia officinalis* L. dengan reseptor COVID-19 agar informasi terkait antivirus pada tanaman *Salvia officinalis* L. dapat bertambah.
2. Perlu dilakukan studi penelitian lebih lanjut secara in vitro dan in vivo dari senyawa turunan flavonoid tanamana *Salvia officinalis* L untuk mengetahui adanya potensi antivirus

## DAFTAR PUSTAKA

- [BBC] BBC. 2020. Haji Dan Protokol Kesehatan Ketat Untuk Jemaah. URL <https://www.bbc.com/indonesia> (accessed 17.12.20).
- [WHO] World Health Organization. 2020. Novel Coronavirus (2019-nCoV) Advice for the Public. Switzerland : WHO.
- 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*. Vol. 1 No. 1
- 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*. Vol. 1 No. 1
- Agarwal, S and Ranjana, M. 2016. An Overview of Molecular Docking. *JSM Chemistry*. Vol 4. No 2.
- Altindal, Demet dan Altindal Nuket. 2016. *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*. London: Elsevier.
- Ang, *et al.* 2020. Herbal Medicine for the Treatment of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Journal of Clinical Medicine*. Vol 9. No 5.
- Arifin, Bustanul. 2018. Struktur, Bioaktivitas Dan Antioksidan Flavonoid. *Jurnal Zarah*. Vol. 6 No. 1
- Benet, Leslie Z., *et al.* 2016. BDDCS, the Rule of 5 and Drugability. *Adv Drug Deliv Review*. Vol. 101. Hal 89–98.
- Bintari, Yoni Rina. 2018. STUDI IN SILICO POTENSI EKSTRAK LIPIDA *Tetraselmis chuii* Sebagai Antioksidan. *Jurnal Ketahan Pangan*. Vol 2. No 1 Hal. 76-81
- Boopathi, S., *et al.* 2020. Novel 2019 Coronavirus Structure, Mechanism Of Action, Antiviral Drug Promises And Rule Out Against Its Treatment. *Journal of Biomolecular Structure & Dynamics*. ISSN 0739-1102.
- Daiana, A., *et al.* 2017. SwissADME: A free Web Tool To Evaluate Pharmacokinetics, Drug-Likeness And Medicinal Chemistry Friendliness Of Small Molecules. *Scientific Reports*. Vol 7. Hal 42717.

- Darwish, M., *et al.* 2013. Essential Oil of Common Sage (*Salvia Officinalis* L.) from Jordan: Assessment of Safety in Mammalian Cells and Its Antifungal and Anti-Inflammatory Potential. *BioMed Research International*. Vol 23. Hal 1-9.
- David, E.G. 2002. Kimia untuk pemula. Jakarta : Erlangga.
- Denise, R. Ferrier, PhD. 2014. *Biokimia Jilid Satu Edisi Keenam*. Tangerang : Binarupa Aksara Publisher
- Dias, Raquel, *et al.* 2008. Molecular Docking Algorithms. *Review Current Drug Targets*. Vol 9. Hal 1040-1047
- Donatus, I.A., 2005, Toksikologi Dasar Edisi 2. Rasmedia Grafika. Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada: Yogyakarta.
- El din, *et al.* 2016. Molecular docking based screening of compounds against VP40 from Ebola virus. *Journal Bioinformation*. Vol. 12. No. 3
- El-Feky, Amal M. Dan Wael M. Aboulthana. 2016. Phytochemical and Biochemical Studies of Sage (*Salvia officinalis* L.). *UK Journal of Pharmaceutical Biosciences*. Vol 4. No 5.
- Ertl, P., Rohde, B., and Selzer, P. 2000. Fast Calculation of Molecular Polar Surface Area as a Sum of Fragment-Based Contributions and Its Application to The Prediction of Drug Transport Properties. *Journal of medicinal chemistry*. Vol. 43, No. 20 : 3714-3717.
- Fakih, Taufik Muhammad dan Dewi Mentari Luthfika. 2020. Identifikasi Protease Utama (Mpro) Sebagai Makromolekul Target Dalam Pengembangan Kandidat Inhibitor Novel Coronavirus 2019 (SARS-CoV-2) Secara In Silico. *Jurnal Ilmiah Farmasi Farmasyifa*. Vol 3. No 2.
- Fauzan, M. 2019. Studi Molecular Docking, Molecular Dynamic, Dan Prediksi Toksisitas Senyawa Turunan Alkaloid Naftiridin Sebagai Inhibitor Protein Kasein Kinase 2-A Pada Kanker Leukemia. *Pharmacoscript Journal*. Vol 2 Hal 49-64.
- Fauzi, Muhammad., *et al.* 2021. Prediksi Senyawa Eucalyptus Sebagai Inhibitor Potensial Covid-19 Main Protease (Mpro) Secara Molecular Docking. *Al Ulum Jurnal Sains Dan Teknologi*. Vol 6. No 2.
- Filgueira, Walter de Azevedo. 2019. Docking Screens for Drugs Discovery. United Kingdom: Humana Press.
- Gadaleta, Domenico, *et al.* 2019. SAR and QSAR modeling of a large collection of LD50 rat acute oral toxicity data. *Journal of Cheminformatics*. Vol 11 : 58

- Ganeshpurkar, Aditya dan Ajay K. Saluja. 2017. The Pharmacological Potential of Rutin. *Saudi Pharmaceutical Journal : SPJ*. Vol 25. No 2.
- Geldenhuys, Werner, *et al.* 2006. Optimizing The Use Of Open-Source Software Applications In Drug Discovery. *Drug Discovery Today*. Vol 11. Hal. 127-132
- Ghorbani, Ahmad dan Mahdi Esmaeilizadeh. 2017. Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*. Vol 7. No 4.
- Gogoi, Neelutpal, *et al.* 2021. Computational Guided Identification Of A Citrus Flavonoid As Potential Inhibitor of SARS-CoV-2 Main Protease. *Molecular Diversity*. Vol 25 Page 1745-1759
- Hamidpour, M., *et al.* 2014. Chemistry, Pharmacology, and Medicinal Property of Sage (*Salvia*) to Prevent and Cure Illnesses such as Obesity, Diabetes, Depression, Dementia, Lupus, Autism, Heart Disease, and Cancer. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*. Vol 4. No 2.
- Hamrouni-Sellami, I., *et al.* 2013. Total Phenolics, Flavonoids, and Antioxidant Activity of Sage (*Salvia officinalis* L.) Plants as Affected by Different Drying Methods. *Food and Bioprocess Technology*. Vol 6. No 3.
- Handayani, Diah, *et al.* 2020. Corona Virus Disease 2019. *Jurnal Respiriologi Indonesia*. Vol 40. No 2
- Hanif, Atika Umi, *et al.* 2020. Pengaruh Minimisasi Energi MMFF94 dengan MarvinSketch dan Open Babel PyRx pada Penambatan Molekular Turunan Oksindola Tersubstitusi. *Alchemy : Journal of Chemistry*. Vol 8. No 2. Hal 33-40
- Herawati, Azizah. 2015. Kontekstualisasi Konsep Ulul Albab di Era Sekarang. *Jurn Ilmu Aqidah dan Studi Keagamaan*. Vol. 3 No. 1
- Hestina, Niken Ayu. 2020. Wabah Penyakit Menular (Covid 19) Dan Perumpamaan Dalam Al-Quran. *Mumtaz: Jurnal Studi Al-Quran dan Keislaman*. Vol 4. No 2.
- Jamuna, Sankar, *et al.* 2018. In silico approach to study the metabolism and biological activities of oligomeric proanthocyanidin complexes. *Indian Journal of Pharmacology*. Vol 50. No 5 : 242 - 250
- Jensen, F. 2007. *Introduction to Computational Chemistry*, 2nd Ed. Denmark: Odense.

- Jiang, S., Du, L., Shi, Z. 2020. An Emerging Coronavirus Causing Pneumonia Outbreak in Wuhan, China : Calling for Developing Therapeutic and Prophylactic Strategies. *Emerg. Microbes Infect.* Vol 9 : 275-277.
- Jin, Z., Du, X., Xu, Y., Deng, Y., Liu, M., Zhao, Y., and Duan, Y. 2020. Structure of Mpro from SARS-CoV-2 and Discovery of Its Inhibitors. *Nature*. 1-5.
- Jo, S., Suwon, K., Dong Hae, S., Mi Sun, K. 2020. Inhibition of SARS-CoV 3CL protease by flavonoids. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. Vol 35. No 1.
- Kesuma, Dini, *et al.*, 2018. Uji in silico Aktivitas Sitotoksik dan Toksisitas Senyawa Turunan N-(Benzoil)-N'- feniltiourea Sebagai Calon Obat Antikanker. *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*. Vol 3. No. 1
- Kumar, B. P., Soni, M., Bhikhalal, U. B., Kakkot, I. R., Jagadeesh, M., Bommu, P., and Nanjan, M. J. 2009. Analysis of physicochemical properties for drugs from nature. *Medicinal chemistry research*. Vol. 19, No. 8 : 984-992.
- La Kilo, A., Aman, L. A., Sabihi, I. dan La Kilo, J. 2019. Studi Potensi Pirazolin Tersubstitusi 1-N dari Tiosemikarbazon Sebagai Agen Antiamuba Melalui Uji In Silico. *Indo. J. Chem. Res.* Volume 7, Nomor 1: 9-24.
- Lan, J., Ge, J., Yu, J., Shan, S., Zhou, H., Fan, S., Zhang, Q., Shi, X., Wang, Q., Zhan., L., Wang., X. 2020. Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor. *Nature Journal*. Vol 581. No 7807.
- Lipinski, C.A., Lombardo., Dominy, B.W and Feeney, F.J. 1997. Experimental Computational Approaches to Estimate Solubility and Permeability in Drug Discovery and Development Settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*. Volume 23 : 3-5.
- Liskova, Alena, *et al.* 2021. Flavonoids against the SARS-CoV-2 induced inflammatory storm. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. Vol. 38. Hal 111430
- Lu, Y., dn Foo L. 2002. Polyphenolics of Salvia — A Review. *Phytochemistry*. Vol 59.
- Matthias, 2013. Torsion Fingerprints As a New Measure To Compare Small Molecule Conformations. *J. Chem. Inf. Model*. Vol.
- Meini, Simone, *et al.* 2020. Role of Lopinavir/Ritonavir in the Treatment of Covid-19: A Review of Current Evidence, Guideline Recommendations, and Perspectives. *Journal of Clinical Medicine*. Vol 9. No. 7

- Narita, Shintya Shasha dan Vidyarto Nugroho. 2014. Faktor – Faktor yang Mempengaruhi Income Smoothing Pada Perusahaan Industri Perbankan yang Terdaftar di BEI. *Jurnal Multiparadigma Akuntansi Tarumanagara*. Vol 2. No 1
- Narko, T., Permana, B., Prasetiawati, R., Soni, D., dan Khairiyah, F. 2019. Studi Penambatan Molekul Senyawa dari Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine Palmifolia* (L) Merr.) Sebagai Obat Antikanker Serviks. *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*. Vol. 8, No. 2 : 1-14.
- Nasution, Nurul Hidayah. 2021. Gambaran Pengetahuan Masyarakat Tentang Pencegahan COVID-19 Di Kecamatan Padangsidempuan Batunadua, Kota Padangsidempuan. *Jurnal Kesehatan Ilmiah Indonesia*. Vol 6 No 1
- Nguyen, T., Hye Jin, W., Hee Kyoung, K., Nguyen, V., Young Min, K., Do Won, K., Sul Ah A., Yongmei X., Doman K. 2012. Flavonoid-mediated inhibition of SARS coronavirus 3C-like protease expressed in *Pichia pastoris*. *Biotechnology Letters*. Vol 34. No 5.
- Parwanto, Edy. 2021. Virus Corona (SARS-CoV-2) Penyebab COVID-19 Kini Telah Bermutasi. *Jurnal Biomedika dan Kesehatan*. Vol 4. No 2.
- Pintilie, L., Constain, T and Ranjan, K.M. 2020. Molecular Docking Studies on Synthetic Therapeutic Agents for COVID-19. *Chemistry proceedings*. Vol. 3 No. 46.
- Pintilie, L., Constain, T and Ranjan, K.M. 2020. Molecular Docking Studies on Synthetic Therapeutic Agents for COVID-19. *Chemistry proceedings*. Vol. 3 No. 46.
- Pires, D.E., Tom, L.B and David, B.A. 2015. pkCSM : Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity Properties Using Graph-Based Signatures. *J. Med.Chem*. Vol 58.
- Polansky, H dan Gillad Lori. 2020. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): first indication of efficacy of Gene-Eden-VIR/Novirin in SARS-CoV-2 infection. *International Journal of Antimicrobial Agents*. Vol 55. No 6.
- Pranoto, 2013. *Ikatan Hidrogen*. Universitas Brawijaya, Malang.
- Prassana, S. 2009. Topological Polar Surface Area: A Useful Descriptor in 2D-QSAR. *Current medicinal chemistry*. Vol. 16 No. 1
- Pratama, Rizki Hadi, dkk. 2021. Studi Penambatan Molekular Docking Senyawa Flavonoid Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) Terhadap SARS-CoV-2 3CL protease. *Journal Medical Sains*. Vol 6. No 1

- Pratoko, Dwi Koko. 2012. Molecular Docking Turunan Kalkon Terhadap Reseptor Estrogen B (ER- B) Sebagai Antikanker Payudara. *Jurnal Kimia Terapan Indonesia*. Vol 14. No 1
- Priyanto. 2010. *Toksikologi Ed: 2*. Depok: Leskonfi Lembaga Studi dan Konsultasi Farmakologi.
- Priyatno. 2013. *Analisis data dengan SPSS*. Jakarta: Media Kom.
- PubChem. 2021. PubChem [WWW Document]. URL <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/22311> (accessed 1.10.21).
- Purnomo, H dan Syamsul, E.S. 2017. *Statistika Farmasi (Aplikasi Praktis dengan SPSS)*. Yogyakarta : CV. Grafika Indah.
- Purwaniati, Purwaniati dan Asnawi Aiyi. Target Kerja Obat Covid – 19 : Review. *Jurnal Biomedika dan Kesehatan*. Vol 4. No 2.
- Rahman, A.O. 2018. Efek Hepatotoksik Jus Pinang Muda (*Arecha catecha*) pada Tikus. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. Vol 30, No 2 : 1-6.
- Raj, Resal. 2021. Analysis of non-structural proteins, NSPs of SARS-CoV-2 as targets for computational drug designing. *Biochem Biophys Report*. Vol 25. Hal 100847
- Rastogi, Meghana, *et al.*, 2020. SARS coronavirus 2: from genome to infectome. *Respiratory Research*. Vol. 21 No.1
- Rathnayake, A., *et al.* 2020. 3C-like protease inhibitors block coronavirus replication in vitro and improve survival in MERS-CoV–infected mice. *Science Translational Medicine*. Vol 12. No 557.
- Ritna, Agus, *et al.* 2016. Identifikasi Senyawa Flavonoid Pada Fraksi Etil Asetat Benalu Batu(*Begonia sp.*) Asal Kabupaten Morowali Utara. *Galenika Journal of Pharmacy*. Vol. 2 No. 2
- Roby, M., Khaled, A., Khalel, I., Mohamed, A. 2013. Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris L.*), sage (*Salvia officinalis L.*), and marjoram (*Origanum majorana L.*) extract. *Industrial crops and products*. Vol 43 Hal 827 – 831.
- Rosyadi, Dudi, dkk. 2008. *Tafsir Al-Qurthubi terjemahan Al-Jami' Li Akhaam Al-Qur'an*. Jakarta : Pustaka Azzam
- Ryu, Y., Joeng, H., Kim, J., Kim, Y., Park, J., Kim, D., Nguyen, T., Park, S., Chang, J., Park, K., Rho, M, dan Lee Woo Song. 2010. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): first indication of efficacy of Gene-Eden-VIR/Novirin in

SARS-CoV-2 infection. *International Journal of Antimicrobial Agents*. Vol 55. No 6.

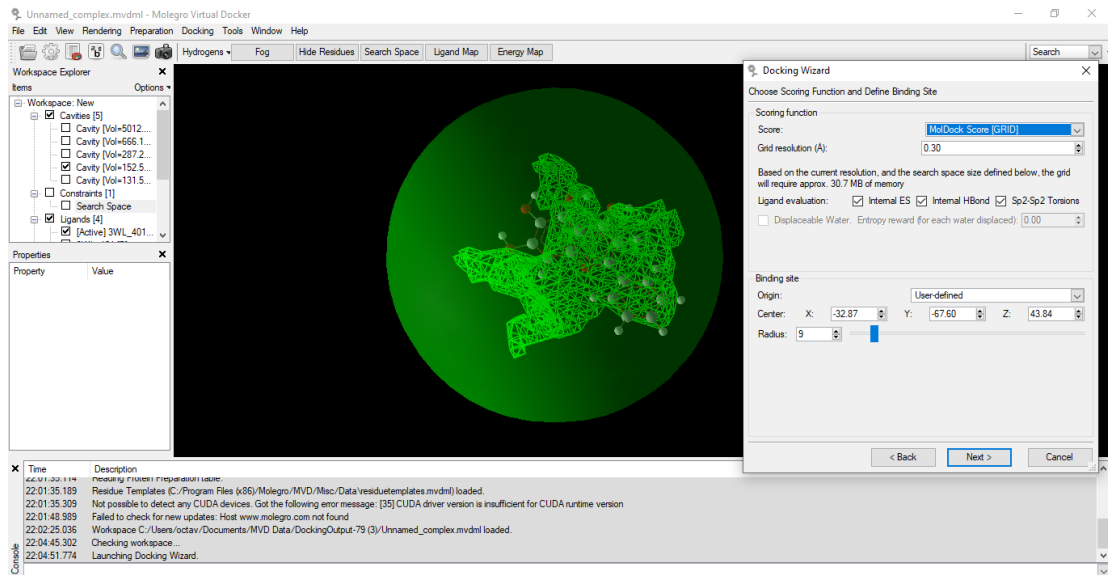
- Saifuddin, A., Siswandono, dan Prajogo, B.E.W. 2014. Studi In Silico Gendarusin A, B, C, D, Dan E Untuk Prediksi Absorpsi Dan Aktivitas Terhadap Hialuronidase. *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*. Volume 1, Nomor 2: 42-47.
- Santoyo, S., *et al.* 2014. Antiviral Properties of Supercritical CO<sub>2</sub> Extracts from Oregano and Sage. *International Journal of Food Properties*. Vol 17. No 5.
- Sari, I.P dan Sriwidodo. 2020. Perkembangan Teknologi Terkini dalam Mempercepat Produksi Vaksin Covid-19. *Majalah Farmasetika*. Vol. 5 No. 5.
- Sharma, Y., *et al.* 2020. In vitro Screening for Acetylcholinesterase Inhibition and Antioxidant Potential in Different Extracts of Sage (*Salvia officinalis* L.) and Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Journal of Biologically Active Products from Nature*. Vol 10. No 1.
- Shereen, M., *et al.* 2020. COVID-19 infection: Origin, transmission, and characteristics of human coronaviruses. *Journal of Advanced Research*. Vol 24. Hal 91-98.
- Shihab, Muhammad Quraish. 2002. *Tafsir Al-Mishbah Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an, Volume 10 (Surah Asy-Syu'ara, An-Naml, Al-Qasabash, Al-Ankabut)*. Jakarta : Lentera Hati.
- Sifareina, *et al.* 2021. Studi Farmakovigilans Pada Pasien COVID-19. *Pharmacoscript*. Vol 4. No 2
- Silva, J.K., Pablo, L.B., Kendall, G.B., and William, N.S. 2020. Essential Oils and Antiviral Agents, Potential of Essential Oils to Treat SARS-CoV-2 Infection : An In Silico Investigation. *International Journal of Molecular Sciences*. 21 (10)
- Siswandono dan Soekardjo, B. 2000. *Kimia Medisinal*, Edisi 2. Surabaya : Airlangga University Press.
- Siswandono, dan Soekardjo, B. 2008. *Kimia Medisinal*. Surabaya : Airlangga University Press (AUP)
- Siswandono. 2020. *Kimia Medisinal I*. Surabaya : Airlangga University Press (AUP)
- Sliplanata, M., *et al.* 2016. Potensi Ekstrak Daun Sage (*Salvia Officinalis* L.) sebagai anti-*Streptococcus suis* Penyebab Zoonotik Meningitis Sage. *Journal Sain Veteriner*. Vol 34. No 2.

- Su, Hai Xia, *et al.* 2020. Anti-SARS-CoV-2 Activities In Vitro Of Shuanghuanglian Preparations And Bioactive Ingredients. *Acta Pharmacol Sin.* Vol 41. No 9
- Suhadi, A., Rizarullah, R., dan Feriyani, F. 2019. Simulasi Docking Senyawa Aktif Daun Binahong Sebagai Inhibitor Enzyme Aldose Reductase. *Sel Jurnal Penelitian Kesehatan.* Vol. 6 No.2. 55-65.
- Suhud, Farida. 2015. Uji Aktivitas In-silico Senyawa Baru 1-Benzil-3-benzoilurea Induk dan Tersubstitusi sebagai Agen Antiproliferatif. *Jurnal Farmasi Indonesia.* Vol 7. No 4
- Sulistyaningrum, Novi, *et al.* 2013. Uji Mutagenik Ames untuk Melengkapi Data Keamanan Ekstrak Gambir (*Uncaria gambir* Roxb.). *Jurnal Kefarmasian Indonesia.* Vol 3. No 1. Hal 36-45
- Susilo, Adityo, *et al.* 2020. Coronavirus Disease 2019: Tinjauan Literatur Terkini. *Jurnal Penyakit Dalam Indonesia.* Vol 7. No 1.
- SwissADME. 2021. SwissADME[WWW Document]. URL <http://swissadme.ch/>. (accessed 1.10.21).
- Syahputra, G., *et al.* 2011. Simulasi Docking Kurkumin Enol, Bisdemetoksikurkumin dan Analognya sebagai Inhibitor Enzim12-Lipoksigenase. *Jurnal Biofisika.* Vol. 10. No. 1
- Syahputra, Gita. 2014. Simulasi Docking Kurkumin Enol, Bisdemetoksikurkumin dan Analognya Sebagai Inhibitor Enzim12-Lipoksigenase. *Jurnal Biofisika.* Vol. 10, No. 1. Tallei, T.E., Sefren, G.T., Nurdjannah
- Thomsen, R., & Christensen, M. H. 2006. MolDock: A New Technique for HighAccuracy Molecular Docking. *Journal of medicinal chemistry.* Vol. 49. No. 11 : 3315-3321.
- Vaezi, Morteza, *et al.* 2020. Thermodynamic, kinetic and docking studies of some unsaturated fatty acids-quercetin derivatives as inhibitors of mushroom tyrosinase. *Journal AIMS Biophysics.* Volume 7, Nomor 4 : 393 - 410
- Velickovic, D., *et al.* 2007. Extraction of Flavonoids from Garden (*Salvia officinalis* L.) and glutinous (*Salvia glutinosa* L.) Sage By Ultrasonic And Classical Maceration. *Journal of the Serbian Chemical Society.* Vol 72.
- Vijayakumar, B., *et al.* 2020. In silico pharmacokinetic and molecular docking studies of natural flavonoids and synthetic indole chalcones against essential proteins of SARS-CoV-2. *European Journal of Pharmacology.* Vol 886.

- Wu, Canrong et al.2020. Analysis of therapeutic targets for SARS-CoV-2and discovery of *potential drugs by computational methods*. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 10(5):766 – 788.
- Xue, et al. 2007. Production of Authentic SARS-CoV Mpro with Enhanced Activity: Application as a Novel Tag-cleavage Endopeptidase for Protein Overproduction. *Journal of Molecular Biology*. Vol. 3. No. 965–975
- Yadav, R. et al. 2021. Role of Structural and Non-Structural Proteins and Therapeutic Targets of SARS-CoV-2 for COVID-19. *Cell MDPI*. Vol 10. No 4.
- Yi, L., et al. 2004. Small molecules blocking the entry of severe acute respiratory syndrome coronavirus into host cells. *Journal of Virology*. Vol 78 No 20.
- Yuningsih, Rahmi. 2020. Uji Klinik Coronavac Dan Rencana Vaksinasi Covid-19 Massal Di Indonesia. *Bidang Kesejahteraan Sosial*. Vol 12. No 16.
- Zaidan, S., Syamsudin., Deni, R dan Ratna, D. 2019. Aktivitas Senyawa Sargassum Sp Sebagai Anti-Aterosklerosis dengan Perbandingan Ligan-Reseptor Hmg-Coa-Reduktase Simvastatin (1HW9) dan Uji Toksisitas Secara In Silico. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. Vol. 17. No.1.
- Zhang, Linlin, et al. 2020. Crystal structure of SARS-CoV-2 main protease provides a basis for design of improved  $\alpha$ -ketoamide inhibitors. *Report Science*. Vol. 368. Hal. 409-412
- Zirconia, Aisyah, et al. 2015. Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Daun Kembang Bulan (*Tithonia Diversifolia*) dengan Metode Pereaksi Geser. *Jurnal Ilmu Kimia dan Terapan*. Vol. 2. No. 1

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Cavity Receptor



### Lampiran 2. Hasil Validasi Reseptor

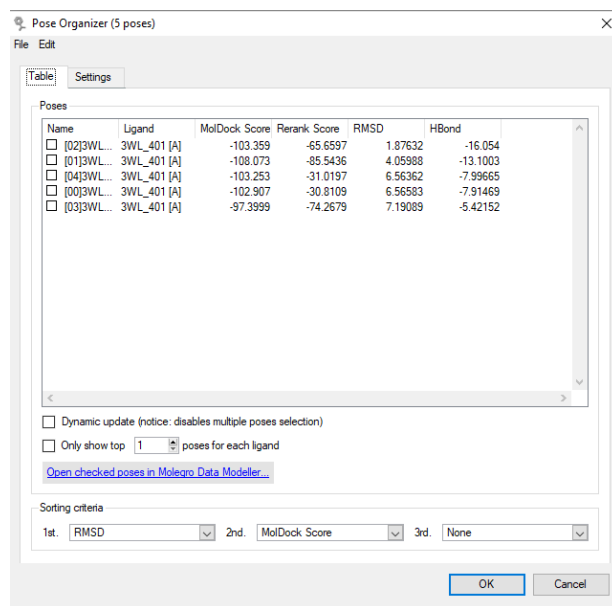
#### Replikasi 1

The screenshot shows the 'Pose Organizer (5 poses)' dialog box. It contains a table with the following data:

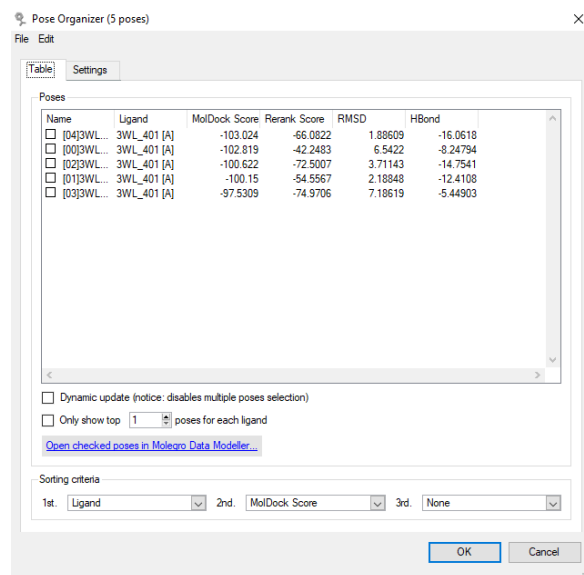
Name	Ligand	MolDock Score	Rerank Score	RMSD	HBond
[01]3WL...	3WL_401 [A]	-103.217	-64.9884	1.89031	-16.0642
[03]3WL...	3WL_401 [A]	-103.011	-33.4227	6.5532	-8.00545
[03]3WL...	3WL_401 [A]	-98.884	-63.9956	7.05497	-11.3028
[04]3WL...	3WL_401 [A]	-98.2528	-77.8375	6.52624	-5.85967
[02]3WL...	3WL_401 [A]	-97.5142	-75.3344	7.18064	-5.46911

Below the table, there are checkboxes for 'Dynamic update (notice: disables multiple poses selection)' and 'Only show top 1 poses for each ligand'. A link 'Open checked poses in Molegro Data Modeller...' is also present. The 'Sorting criteria' section shows: 1st. Ligand, 2nd. MolDock Score, 3rd. None. The dialog has 'OK' and 'Cancel' buttons at the bottom.

## Replikasi 2



## Replikasi 3



## Lampiran 3. Hasil Docking

### Replikasi 1

Pose Organizer (30 poses)

File Edit

Table Settings

Poses

Name	Ligand	MolDock Score	Rerank Score	HBond
<input type="checkbox"/> [02]opin...	lopinavir minimalisasi	-191.303	-99.781	-1.77908
<input type="checkbox"/> [00]opin...	lopinavir minimalisasi	-163.575	-97.5855	-0.367945
<input type="checkbox"/> [00]catec...	catechin min 1	-112.033	-95.8801	-12.1181
<input type="checkbox"/> [00]querc...	quercetin min 1	-117.264	-94.2052	-11.8226
<input type="checkbox"/> [00]luteol...	luteolin min 1	-114.47	-92.2857	-10.4164
<input type="checkbox"/> [01]opin...	lopinavir minimalisasi	-175.177	-89.5803	-4.13128
<input type="checkbox"/> [03]opin...	lopinavir minimalisasi	-163.318	-88.2947	-0.794627
<input type="checkbox"/> [01]apige...	apigenin min 1	-104.181	-88.2498	-11.0912
<input type="checkbox"/> [02]luteol...	luteolin min 1	-111.407	-87.9933	-11.8064
<input type="checkbox"/> [03]querc...	quercetin min 1	-106.599	-86.0644	-9.73191
<input type="checkbox"/> [03]kaem...	kaempferol min 1	-100.802	-85.0375	-9.61166
<input type="checkbox"/> [04]apige...	apigenin min 1	-100.057	-84.9697	-4.35795
<input type="checkbox"/> [02]catec...	catechin min 1	-104.808	-84.1174	-8.42405
<input type="checkbox"/> [03]catec...	catechin min 1	-107.856	-83.6807	-8.29264
<input type="checkbox"/> [03]apige...	apigenin min 1	-94.5663	-79.6289	-6.49803
<input type="checkbox"/> [01]catec...	catechin min 1	-108.44	-79.555	-9.39128
<input type="checkbox"/> [04]catec...	catechin min 1	-98.8061	-77.3558	-6.39618
<input type="checkbox"/> [01]querc...	quercetin min 1	-115.73	-77.2385	-10.2445
<input type="checkbox"/> [01]luteol...	luteolin min 1	-111.524	-76.7156	-10.3424
<input type="checkbox"/> [04]kaem...	kaempferol min 1	-108.502	-75.0202	-10.6879
<input type="checkbox"/> [00]kaem...	kaempferol min 1	-107.203	-74.141	-10.222

Dynamic update (notice: disables multiple poses selection)

Only show top 1 poses for each ligand

[Open checked poses in Molegro Data Modeller...](#)

Sorting criteria

1st. Rerank Score 2nd. MolDock Score 3rd. None

OK Cancel

### Replikasi 2

Pose Organizer (30 poses)

File Edit

Table Settings

Poses

Name	Ligand	MolDock Score	Rerank Score	HBond
<input type="checkbox"/> [00]opin...	lopinavir minimalisasi	-167.802	-103.797	-1.77307
<input type="checkbox"/> [03]opin...	lopinavir minimalisasi	-182.752	-96.1649	-2.45398
<input type="checkbox"/> [00]catec...	catechin min 1	-112.028	-95.8889	-12.1137
<input type="checkbox"/> [02]opin...	lopinavir minimalisasi	-175.835	-95.2053	-7.49766
<input type="checkbox"/> [03]querc...	quercetin min 1	-117.15	-94.0749	-11.8327
<input type="checkbox"/> [00]querc...	quercetin min 1	-117.228	-93.4726	-11.8838
<input type="checkbox"/> [04]luteol...	luteolin min 1	-114.699	-92.7873	-10.4896
<input type="checkbox"/> [00]luteol...	luteolin min 1	-114.39	-92.105	-10.5014
<input type="checkbox"/> [04]opin...	lopinavir minimalisasi	-164.709	-88.2403	-5.36815
<input type="checkbox"/> [01]querc...	quercetin min 1	-106.715	-86.214	-9.76109
<input type="checkbox"/> [03]luteol...	luteolin min 1	-104.735	-85.3125	-8.69244
<input type="checkbox"/> [03]kaem...	kaempferol min 1	-100.875	-85.2683	-9.77017
<input type="checkbox"/> [04]catec...	catechin min 1	-103.042	-85.0119	-10.262
<input type="checkbox"/> [02]catec...	catechin min 1	-104.952	-84.4098	-8.46685
<input type="checkbox"/> [03]catec...	catechin min 1	-107.639	-82.3027	-8.13902
<input type="checkbox"/> [04]querc...	quercetin min 1	-109.731	-81.3574	-10.8336
<input type="checkbox"/> [01]catec...	catechin min 1	-108.418	-80.3237	-9.42729
<input type="checkbox"/> [01]apige...	apigenin min 1	-103.62	-79.771	-10.9001
<input type="checkbox"/> [04]apige...	apigenin min 1	-102.771	-78.4172	-10.903

Dynamic update (notice: disables multiple poses selection)

Only show top 1 poses for each ligand

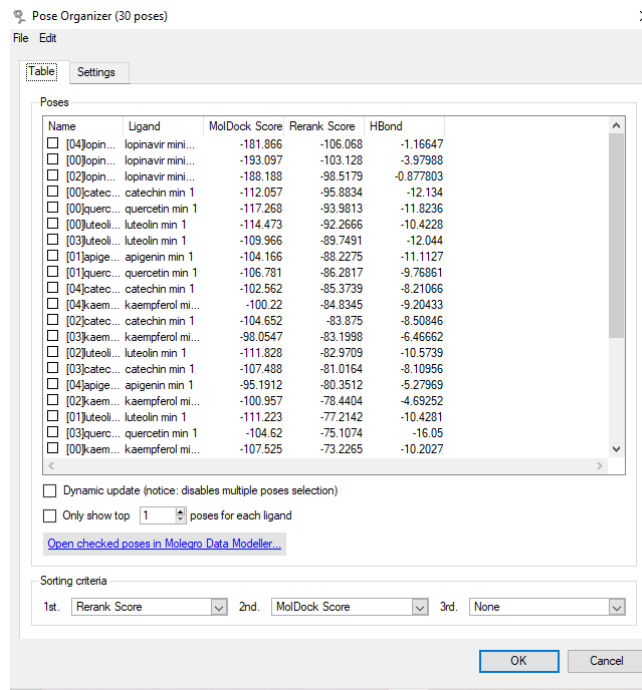
[Open checked poses in Molegro Data Modeller...](#)

Sorting criteria

1st. Rerank Score 2nd. MolDock Score 3rd. None

OK Cancel

### Replikasi 3



### Lampiran 4. Tabel Residu dan Jarak Asam amino

#### Ikatan Hidrogen

Senyawa	Asam Amino	Jarak (Å)	Gugus Ligan
<i>Native Ligand</i>	Leu 141	3,41	O No. 18
	Gly 143	3,1	O No. 18
	Gly 143	2,97	O No. 17
	Glu 166	3,11	O No. 9
<i>Luteolin</i>	Cys 145	3,1	O No.16
	Gly 143	2,94	O No. 16
	Ser 144	2,86	O No.16
	Ser 144	2,63	O No.18
	Leu 141	2,74	O No.16
	Leu 141	2,64	O No.18
<i>Apigenin</i>	Tyr 54	3,1	O No. 17
	Cys 44	3,11	O No 17
	Gly 143	3,07	O No 9
	Glu 166	3,1	O No 6
	Glu 166	3,1	O No 3
<i>Quercetin</i>	Cys 145	2,81	C No. 8
	Asn 142	3,08	O No. 2
	Gly 143	2,95	O No.17
	Cys 145	3,13	O No.17
	Ser 144	2,64	O No. 17
	Ser 144	3,03	O No. 19

	Leu 141	2,62	O No. 17
	Leu 141	2,77	O No. 19
<i>Kaempferol*</i>	His 164	3,17	O No. 2
	Met 49	2,79	O No. 18
	Thr 26	2,92	O No 10
	Gly 143	3,10	O No 7
<i>Catechin</i>	Cys 145	2,99	O No. 16
	Gly 143	3,09	O No. 16
	Asn 142	3,01	O No. 2
	Ser 144	2,70	O No. 18
	Ser 144	2,72	O No. 16
	Leu 141	2,72	O No. 18
	Leu 141	2,85	O No. 16
Lopinavir	Glu 166	2,94	O No. 36
	His 41	2,80	O No. 24
	Asn 142	1,87	O No. 13

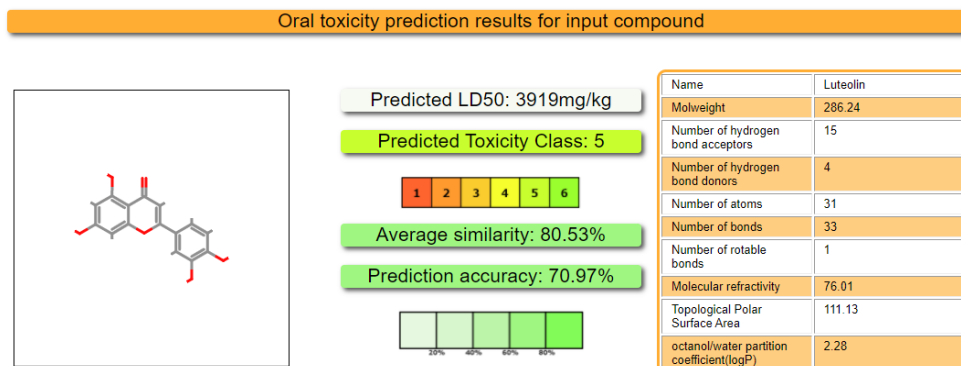
### Ikatan Sterik

Senyawa	Asam Amino	Jarak (Å)	Gugus Ligan
<i>Native Ligand</i>	Asn 142	3,15	C No. 12
	Met 165	3,12	O No. 9
<i>Luteolin</i>	Arg 188	3,03	O No 9
	Asp 187	3,18	O No 9
	His 164	3,16	O No 12
	Leu 141	-	C No. 14
	His 41	-	O No 3
	Leu 141	-	O No 18
	Ser 144	-	O No 18
	Gly 143	-	O No 18
	Cys 145	2,97	O No 18
	<i>Apigenin</i>	Cys 145	3,13
Asn 142		-	O No 9
Gly 143		-	O No 9
Glu 166		-	O No 6
Tyr 54		-	O No 17
Cys 44		-	O No 17
Asp 187		-	O No 17
Asp 48		-	O No 17
<i>Quercetin</i>	Cys 145	2,98	C No 15
	Cys 145	-	O No 17
	Gly 143	-	O No 17
	Ser 144	-	O No 17
	Leu 141	-	O No 17
	Asn 142	-	O No 2
	Arg 188	-	O No 10
	Ser 144	-	O No 19
	Leu 141	-	O No 19
	Asp 187	-	O No 10
<i>Kaempferol*</i>	Thr 26	-	O No 10
	Gly 143	-	O No 7
	His 41	3,02	O No 13

	His 41	3,16	C No 0
	Cys 145	-	O No 7
	Asn 142	-	O No 7
	His 164	-	O No 2
	Asp 187	-	O No 18
	Met 49	-	O No 18
	Cys 145	-	O No 18
<i>Catechin</i>	Arg 188	-	O No. 9
	Asn 142	-	O No. 2
	Ser 144	-	O No 18
	Ser 144	-	O No 16
	Leu 141	-	O No 16
	Leu 141	-	O No 18
	Cys 145	-	O No 16
Lopinavir	Gly 143	-	O No 16
	Asn 142	2,85	C No 8
	Asn 142	3,10	O No. 13
	His 41	2,50	O No 24
	His 164	-	O No 24
	Asp 187	3,18	C No 31
	Met 49	3,14	C No 3
	Glu 166	3,19	C No 43
Met 165	3,19	C No 36	

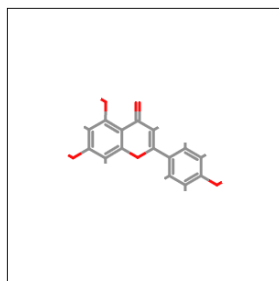
## Lampiran 5. Hasil Prediksi Toksisitas

### *Luteolin*



## Apigenin

Oral toxicity prediction results for input compound



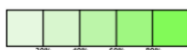
Predicted LD50: 2500mg/kg

Predicted Toxicity Class: 5



Average similarity: 81.24%

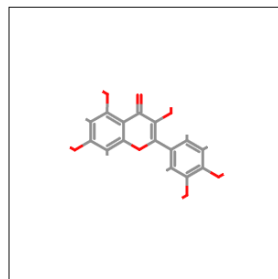
Prediction accuracy: 70.97%



Name	Apigenin
Molweight	270.24
Number of hydrogen bond acceptors	14
Number of hydrogen bond donors	3
Number of atoms	30
Number of bonds	32
Number of rotatable bonds	1
Molecular refractivity	73.99
Topological Polar Surface Area	90.9
octanol/water partition coefficient(logP)	2.58

## Quercetin

Oral toxicity prediction results for input compound



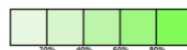
Predicted LD50: 159mg/kg

Predicted Toxicity Class: 3



Average similarity: 100%

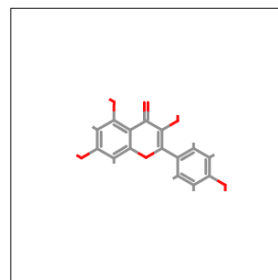
Prediction accuracy: 100%



Name	Quercetin
Molweight	302.24
Number of hydrogen bond acceptors	16
Number of hydrogen bond donors	5
Number of atoms	32
Number of bonds	34
Number of rotatable bonds	1
Molecular refractivity	78.04
Topological Polar Surface Area	131.36
octanol/water partition coefficient(logP)	1.99

## Kaempherol

Oral toxicity prediction results for input compound



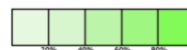
Predicted LD50: 3919mg/kg

Predicted Toxicity Class: 5



Average similarity: 82.46%

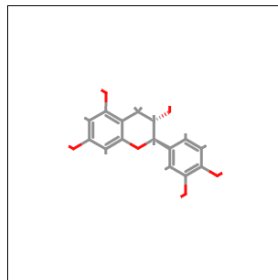
Prediction accuracy: 70.97%



Name	Kaempherol
Molweight	286.24
Number of hydrogen bond acceptors	15
Number of hydrogen bond donors	4
Number of atoms	31
Number of bonds	33
Number of rotatable bonds	1
Molecular refractivity	76.01
Topological Polar Surface Area	111.13
octanol/water partition coefficient(logP)	2.28

## Catechin

Oral toxicity prediction results for input compound



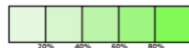
Predicted LD50: 10000mg/kg

Predicted Toxicity Class: 6



Average similarity: 100%

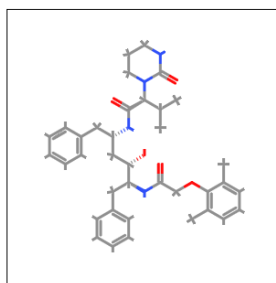
Prediction accuracy: 100%



Name	catechin
Molweight	290.27
Number of hydrogen bond acceptors	20
Number of hydrogen bond donors	5
Number of atoms	35
Number of bonds	37
Number of rotatable bonds	1
Molecular refractivity	74.33
Topological Polar Surface Area	110.38
octanol/water partition coefficient(logP)	1.55

## Lopinavir

Oral toxicity prediction results for input compound



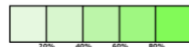
Predicted LD50: 5000mg/kg

Predicted Toxicity Class: 5



Average similarity: 59.88%

Prediction accuracy: 67.38%



Name	lopinavir
Molweight	628.8
Number of hydrogen bond acceptors	57
Number of hydrogen bond donors	4
Number of atoms	94
Number of bonds	97
Number of rotatable bonds	17
Molecular refractivity	187.92
Topological Polar Surface Area	120
octanol/water partition coefficient(logP)	5.38

## Lampiran 6. Hasil Uji Normalitas *Shapiro-Wilk Rerank Score* Senyawa Turunan Flavonoid Tanaman *Salvia officinalis* L. pada Reseptor 6M2N

### Tests of Normality

	Senyawa	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Rerank Score	Luteolin	.374	3	.	.777	3	.062
	Apigenin	.384	3	.	.752	3	.004
	Quercetin	.210	3	.	.991	3	.820
	Kaempferol	.184	3	.	.999	3	.929
	Catechin	.232	3	.	.980	3	.726
	Lopinavir	.384	3	.	.752	3	.004

a. Lilliefors Significance Correction

**Lampiran 7. Hasil Uji *Kruskal-Wallis Rerank Score* Senyawa Turunan  
Flavonoid Tanaman *Salvia officinalis* L. pada Reseptor 6M2N**

**Test Statistics<sup>a,b</sup>**

	Rerank Score
Kruskal-Wallis	9.842
H	
df	5
Asymp. Sig.	.080

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

Senyawa