

Saeful Amin
Lutfi Aulia Aliansyah
Salsabila Adlina
Andri Prasetyo

PENCARIAN KANDIDAT OBAT BARU SEBAGAI INHIBITOR MAIN PROTEASE SARS-CoV-2

Dari Senyawa Aktif Tanaman
Andrographis Paniculata:
Studi in-Silico



PENCARIAN KANDIDAT OBAT BARU SEBAGAI INHIBITOR *MAIN PROTEASE* SARS-CoV-2

Dari Senyawa Aktif Tanaman
Andrographis Paniculata:
Studi in-Silico

Saeful Amin
Lutfi Aulia Aliansyah
Salsabila Adlina
Andri Prasetiyo

**Pencarian Kandidat Obat Baru sebagai Inhibitor Main
Protease SARS-CoV-2 dari Senyawa Aktif Tanaman
*Andrographis Paniculata: Studi in-Silico***

Ditulis oleh:

**Saeful Amin
Lutfi Aulia Aliansyah
Salsabila Adlina
Andri Prasetyo**

Diterbitkan, dicetak, dan didistribusikan oleh
PT. Literasi Nusantara Abadi Grup
Perumahan Puncak Joyo Agung Residence Kav. B11 Merjosari
Kecamatan Lowokwaru Kota Malang 65144
Telp : +6285887254603, +6285841411519
Email: literasinusantaraofficial@gmail.com
Web: www.penerbitlitnus.co.id
Anggota IKAPI No. 340/JTI/2022



Hak Cipta dilindungi oleh undang-undang. Dilarang mengutip
atau memperbanyak baik sebagian ataupun keseluruhan isi buku
dengan cara apa pun tanpa izin tertulis dari penerbit.

Cetakan I, Juni 2024

Perancang sampul: Bagus Aji Saputra
Penata letak: Bagus Aji Saputra

ISBN : 978-623-114-835-3

vi + 124 hlm. ; 15,5x23 cm.

©Juni 2024



KATA PENGANTAR

Alhamdulillah puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, yang telah melimpahkan rahmat, karunia dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan buku ini. Pandemi COVID-19 merupakan permasalahan yang berawal dari aspek kesehatan yang kemudian meluas dan menyebar ke berbagai aspek kehidupan lainnya. Sampai saat ini, berbagai penelitian mengenai pencarian dan pengembangan obat baru sebagai kandidat anti SARS-CoV-2 masih sangat dibutuhkan.

Awal tahun 2020, *World Health Organization* (WHO) secara resmi mengumumkan COVID-19 merupakan penyakit baru yang disebabkan oleh virus *Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2* (SARS-CoV-2). Penyebaran COVID-19 yang sangat cepat, mendorong WHO menetapkan COVID-19 sebagai status pandemi atau epidemi global pada 11 Maret 2020 yang menyebabkan terjadinya darurat internasional dan permasalahan di berbagai penjuru dunia. Selain penggunaan obat antivirus spektrum luas, vaksin masih menjadi salah satu pilihan utama dalam pengendalian dan pencegahan pandemi COVID-19.

Studi *in silico* merupakan salah satu cara dalam penemuan obat baru melalui pendekatan komputasi untuk menemukan senyawa terbaik yang potensial dijadikan sebagai kandidat obat baru melalui berbagai rangkaian proses skrining dan prediksi seperti prediksi *druglikeness*, studi ADMET, *molecular docking*, dan simulasi *molecular dynamic*. Pendekatan komputasi banyak dipilih dan digunakan karena dapat menghemat biaya

dan mengefisiensikan waktu dalam penemuan dan pengembangan obat baru.

Penulis haturkan terimakasih kepada semua pihak yang telah memberikan do'a, dukungan, dan bimbingan serta bantuan baik moril maupun materil kepada penulis sehingga buku ini dapat selesai dan sampai kepada pembaca. Selayaknya kalimat yang menyatakan bahwa tidak ada sesuatu yang sempurna, penulis menyadari dalam penulisan dan penyusunan buku ini masih banyak kesalahan dan kekurangan, sehingga penulis mengharapkan masukan berupa kritik dan saran yang konstruktif dalam upaya menyempurnakan buku ini.

Tasikmalaya, Mei 2024

Penulis



DAFTAR ISI

Kata Pengantar.....	iii
Daftar Isi.....	v
BAB I PENDAHULUAN.....	1
BAB II SARS-CoV-2.....	3
BAB III SAMBILOTO (<i>Andrographis Paniculata</i>, Nees.)	7
BAB IV STUDI <i>IN SILICO</i>.....	11
BAB V PROGRAM KOMPUTASI.....	15
BAB VI PENELITIAN.....	23
BAB VII HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	33
BAB VIII KESIMPULAN DAN ALUR PENELITIAN SELANJUTNYA	115
Daftar Pustaka	117



BAB I

PENDAHULUAN

Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) merupakan penyakit baru yang pertama kali ditemukan di Wuhan, China pada akhir 2019 disebabkan oleh varian baru dari *coronavirus*, yaitu *Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2* (SARS-CoV-2). (WHO, 2020) Penyakit ini menyerang sistem pernafasan manusia yang awalnya diduga sebagai pneumonia. (Gorbalenya *et al.*, 2020) Setelah kasus mencapai 1,5 juta dengan lebih dari 85.000 kematian di seluruh dunia, WHO secara resmi pada 11 Maret 2020, menetapkan COVID-19 sebagai status pandemi atau epidemi global yang menyebabkan terjadinya darurat internasional. (Cavasotto and Di Filippo, 2021)

SARS-CoV-2 termasuk dalam genus beta-CoV dengan genom RNA untai tunggal linier yang bermutasi secara spontan selama proses replikasi dan dapat menyebabkan terjadinya peningkatan keparahan infeksi. (Cosar *et al.*, 2020) *Main protease* (M^{pro}) dikenal juga *3C-like protease* (3CLpro) merupakan salah satu target kerja penting dalam mendesain obat antivirus SARS-CoV-2 karena berperan dalam kelangsungan hidup, proses replikasi dan transkripsi protein-protein yang terdapat pada virus SARS-CoV-2. (Purwaniati and Asnawi, 2020) Secara global, WHO melaporkan sampai pertengahan Februari 2022, ditemukan 416.614.051 kasus COVID-19 yang dikonfirmasi, termasuk 5.844.097 kematian. (WHO, 2022)

Saat ini, belum ditemukan obat spesifik untuk melawan infeksi COVID-19 yang dapat digunakan sebagai terapi potensial pada manusia.

(Rothan and Byrareddy, 2020) Selain penggunaan obat antivirus spektrum luas, vaksin masih menjadi salah satu pilihan utama dalam pengendalian dan pencegahan pandemi COVID-19 sehingga pengembangan obat baru sebagai anti SARS-CoV-2 masih perlu dilakukan.

Obat herbal tradisional dianggap sebagai salah satu pendekatan alternatif dalam mengobati dan menangani berbagai penyakit sejak zaman dahulu, termasuk dalam penanganan COVID-19. Sambiloto (*Andrographis paniculata*) merupakan salah satu tanaman Indonesia yang biasanya digunakan sebagai campuran ramuan obat herbal tradisional yang mempunyai berbagai aktivitas biologis. (Syamsu, Nuryanti and Jamal, 2021) *Andrographolide* merupakan salah satu senyawa aktif yang terkandung dalam sambiloto dilaporkan memiliki aktivitas antivirus terhadap virus influenza, HIV, *denguevirus*, dan virus chikungunya. (Adiguna *et al.*, 2021) Penelitian terbaru melalui pemodelan komputasi rasional menunjukkan bahwa *andrographolide* dan *neonandrographolide* dapat menjadi inhibitor yang baik terhadap SARS-CoV-2. (Murugan, Pandian and Jeyakanthan, 2021)

Studi *in silico* merupakan salah satu cara dalam penemuan obat baru melalui pendekatan komputasi. Pendekatan komputasi banyak digunakan karena dapat menghemat biaya dan mengefisiensikan waktu dalam penemuan dan pengembangan obat baru. (Vardhan and Sahoo, 2020) Penelitian ini dilakukan untuk mencari potensi senyawa aktif dari tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*) sebagai kandidat anti SARS-CoV-2 menggunakan metode *in silico*. Diharapkan, dengan dilakukannya penelitian ini dapat memberikan informasi ilmiah terkait pembuatan obat baru sebagai anti-SARS-CoV-2 dari pemanfaatan bahan alam.



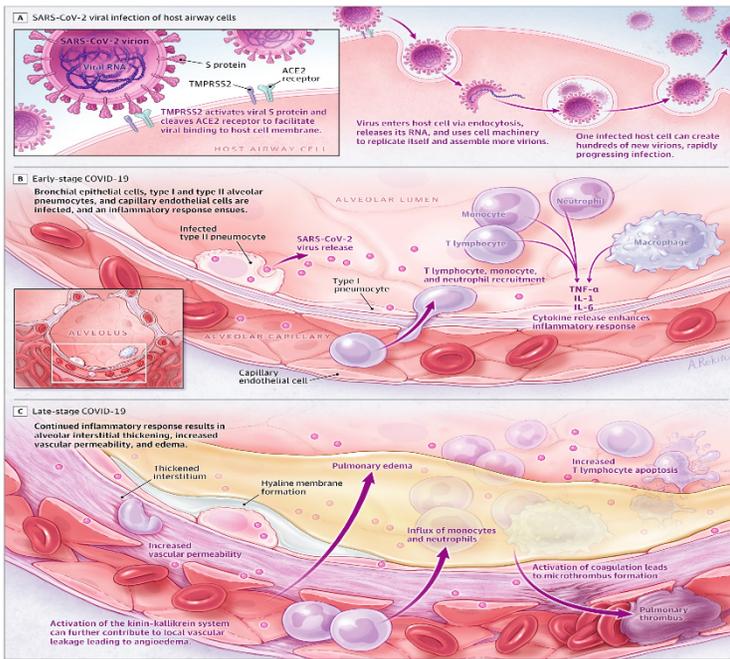
BAB II

SARS-COV-2

SARS-CoV-2 (*Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*) merupakan virus yang menyebabkan terjadinya sindrom pernafasan akut parah atau dikenal dengan penyakit COVID-19. COVID-19 telah menjadi masalah kesehatan utama karena telah menyebar dengan cepat ke seluruh dunia sejak pertama kali diidentifikasi di Wuhan, Cina, pada Desember 2019. Seiring dengan berjalannya waktu, insiden dan mutasi dari COVID-19 terus meningkat dan bervariasi. (Wu *et al.*, 2020) Gejala umum seseorang yang terinfeksi virus corona antara lain gejala pernapasan, demam, batuk, sesak napas, dan *dispnea*. Pada kasus yang lebih parah, infeksi dapat menyebabkan pneumonia, sindrom pernafasan akut parah, gagal ginjal, dan bahkan kematian. Saat ini belum ditemukan obat atau pengobatan khusus untuk penyakit yang disebabkan oleh SARS-CoV-2. (Ouassou *et al.*, 2020) Mutasi SARS-CoV-2 terbaru yang dilaporkan oleh WHO yaitu jenis *Omicron* pada akhir November 2021 di Afrika Selatan dan Botswana sebagai varian dominan karena telah terdeteksi di lebih dari 90 negara dan 46 negara bagian AS. (Del Rio C, Omer SB, 2022) Secara global, WHO melaporkan sampai pertengahan Februari 2022, ditemukan 416.614.051 kasus COVID-19 yang dikonfirmasi, termasuk 5.844.097 kematian. (WHO, 2022)

SARS-CoV-2 atau agen penyebab COVID-19 merupakan virus RNA *positif-sense* beruntai tunggal yang diklasifikasikan dalam genus *betacoronavirus*. Genomnya terdiri dari gen protein non-struktural

(nsp) yang dikodekan di ujung 5' dan gen protein struktural di ujung 3'. Protein non-struktural bertanggung jawab atas fungsi vital virus seperti replikasi virus, transkripsi, produksi pemrosesan RNA, dan modifikasi enzim. Protein struktural tersebut yaitu protein *spike* (S), membran (M), dan *envelope* (E) yang diekspresikan pada *envelope virion*, dan protein nukleokapsid (N) yang membentuk struktur *ribonukleokapsid heliks* dengan mengikat RNA genomik di dalam virion. Protein S terletak pada permukaan virus, membentuk struktur trimerik. (Kantarcioğlu *et al.*, 2021) caused by severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2



Gambar II. 1 Immunopatogenesis dari COVID-19 (Wiersinga *et al.*, 2020)

Pada awal infeksi, SARS-CoV-2 menargetkan sel, seperti sel epitel hidung dan bronkial dan pneumosit, melalui protein *spike* (S) yang mengikat reseptor *angiotensin converting enzyme 2* (ACE2). Protein *spike* (S) merupakan glikoprotein fusi yang dibagi menjadi 2 bagian berbeda secara fungsional yaitu S1 dan S2. S1 terletak di permukaan virus dan berisi *receptor-binding domain* (RBD) yang secara khusus mengikat reseptor

sel inang. Domain S2 transmembran berisi peptida fusi, yang memediasi fusi membran virus dan seluler. *Protein transmembrane protease serin 2* (TMPRSS2) yang ada di sel inang, mendorong pengambilan virus dengan membelah ACE2 dan mengaktifkan protein SARS-CoV-2 S yang memediasi masuknya virus corona ke dalam sel inang. Setelah masuknya SARS-CoV-2 ke dalam sel inang, proses ekspresi dan replikasi RNA genomik dimulai untuk menghasilkan salinan lengkap yang digabungkan ke dalam partikel virus yang baru diproduksi. ACE2 dan TMPRSS2 diekspresikan dalam sel target inang, khususnya sel epitel alveolar tipe II. Pada tahap awal, jumlah salinan virus bisa tinggi di saluran pernapasan bagian bawah. Molekul sinyal inflamasi dilepaskan oleh sel yang terinfeksi dan makrofag alveolar selain limfosit T yang direkrut, monosit, dan neutrofil. Pada stadium lanjut, edema paru dapat mengisi rongga alveolus dengan pembentukan membran hialin, sesuai dengan sindrom gangguan pernapasan akut fase awal. (Wiersinga *et al.*, 2020).

Begitu SARS-CoV-2 memasuki sel target, infeksi umumnya bermanifestasi sebagai penyakit saluran pernapasan atas yang asimtomatik atau ringan, tetapi juga dapat bermanifestasi sebagai penyakit parah seperti gagal napas parah, ARDS dan MOF. (Kantarcioglu *et al.*, 2021).

BAB III

SAMBILOTO (*ANDROGRAPHIS PANICULATA*, NEES.)

Sambiloto (*Andrographis paniculata*, Nees.) merupakan tanaman yang diduga berasal dari kawasan Asia Tropik. Sambiloto ditemukan pertama kali di Pulau Jawa pada abad ke-19 tepatnya sekitar pertengahan dasawarsa kedua. Selain di Indonesia, tanaman ini banyak juga ditemukan di Malaysia, Filipina, Sri Lanka, dan India. Di berbagai daerah, sambiloto dikenal dengan berbagai nama atau sebutan seperti papaitan, ki oray, ki peurat, takilo, bidara, sadilata, sambilata, samiroto, takila, ampadu, dan sambiloto. Selain itu, sambiloto dikenal juga dalam berbagai nama asing seperti *chuan xin lian*, *yi jian xi* (Cina), *kalmegh kirayat* (India), *green chiretta* dan *king of bitter* (Inggris). (Prapanza, E. & Mariantio, 2003) Sambiloto termasuk dalam genus *Andrographis* dan merupakan tanaman yang banyak ditemukan tumbuh secara liar. (KEMENKES, 2016)

A. Taksonomi Tumbuhan



Gambar III. 1 Tanaman sambiloto (KEMENKES, 2016)

Secara taksonomi, sambiloto dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Divisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledonae

Subkelas : Gamopetalae

Ordo : Personales

Famili : Acanthaceae

Subfamili : Acanthoidae

Genus : *Andrographis*

Spesies : *Andrographis paniculata*, Nees.(Prapanza, E. & Marianto, 2003)

B. Morfologi Tumbuhan

Sambiloto (*Andrographis paniculata*, Nees.) termasuk tanaman golongan jenis perdu atau semak yang hidup di tempat terbuka, teduh dan agak lembab seperti kebun, tepi sungai atau pekarangan. Tanaman ini memiliki tinggi yang bervariasi antara 30-100 cm dengan banyak cabang tergantung cara penanaman, tempat penanaman, cara perawatan dan media tanam yang digunakan. Sambiloto memiliki rasa yang pathit, bunga berwarna putih keunguan, dengan daun yang kecil berbentuk lanset, ujung runcing, tangkai pendek, tepi rata dan letaknya saling berhadapan. Daun sambiloto mempunyai panjang 2-8 cm dan lebar 1-3 cm dengan permukaan atas daun berwarna hijau tua dan permukaan bawahnya berwarna hijau muda. Selain itu, sambiloto mempunyai buah berbentuk bulat panjang (jorong) dengan pangkal dan ujungnya yang tajam. Panjang buah sambiloto yaitu sekitar 2 cm dimana setiap buah terdiri dari dua rongga dengan setiap rongga berisi 3-7 biji kecil berwarna cokelat muda yang bentuknya gepeng. Sambiloto dapat dibudidayakan pada ketinggian 1-700 mdpl di tekstur tanah berpasir dengan suhu optimum 25-32°C dimana dapat diperbanyak dengan stek batang atau menggunakan biji.(Prapanza, E. & Marianto, 2003), (KEMENKES, 2016)

C. Kandungan Senyawa dan Aktivitas Farmakologis

Berbagai penelitian mengenai studi fitokimia yang telah dilakukan menunjukkan bahwa kandungan senyawa kimia pada daun dan percabangan tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*, Nees.) mengandung *lactone* yang terdiri dari *andrografolid* (zat pahit), *deoksiandrografolid*, *neoandrografolid*, *14-deoksi-11,12-didehidroandrografolid*, dan *homoandrografolid*. *Andrographolide* (C₂₀H₃₀O₅) merupakan diterpenoid utama dari *Andrographis paniculata*. Selain itu, terdapat juga flavonoid, alkane, keton, aldehid, mineral meliputi kalium, kalsium, natrium, asam kersik dan damar yang banyak diisolasi dari bagian akar yaitu polimetoksiflavon, andrografin, panikulin, mono-0-metilwithin, dan apigenin-7,4-dimetileter. (Setiawan Dalimartha, 1999) Kandungan senyawa kimia lain dari hasil pengujian fraksi larut etil asetat dan ekstrak etanol atau methanol pada sambiloto yaitu *5-hidroksi-7,8-dimetoksiflavon*, *5-hidroksi-7,8,2,5-tetrametoksiflavon*, *5-hidroksi-7,8,2,3-tetramethoxyflavone*, *5-hydroxy-7,8,2-trimethoxyflavone*, *7-O-methylwogonin* dan *2-methyl ether* diisolasi sebagai flavonoid utama. (Chao and Lin, 2010)

Secara tradisional, *Andrographis paniculata* digunakan untuk mengobati gigitan ular dan sengatan beracun serangga, demam (seperti malaria, demam berdarah), diare, flu, penyakit kulit dan infeksi saluran pernapasan atas, dll. Ekstrak kasar *Andrographis paniculata* telah dilaporkan untuk berbagai aktivitas farmakologis, seperti analgesik, antikanker, antidiabetik, antifertilitas, antiinflamasi, antimalaria, antimikroba, antioksidan, antipiretik, antiretroviral, antivenom, kardioprotektif, hepatoprotektif dan imunomodulator. (Kumar, Singh and Bajpai, 2021)

Andrographolide dan turunannya dalam *Andrographis paniculata*, Nees. telah dilaporkan memiliki aktivitas antivirus yang kuat terhadap berbagai kelompok virus seperti virus influenza A (H1N1), Hepatitis B virus (HBV), virus Hepatitis C (HCV), virus herpes simpleks (HSV-1), virus Chikungunya (CHV), *human immunodeficiency virus* (HIV), *human papillomavirus* (HPV) dan *eppstein-barr virus* (EBV). Penelitian terbaru melalui pemodelan komputasi rasional dari empat fitokimia pada

Andrographis paniculata, Nees. AGP3 telah menunjukkan hasil yang menjanjikan mengikat afinitas terhadap keempat target yaitu, 3CLpro, PLpro, RdRp, dan protein *spike* dengan pengikatan yang tepat terhadap situs katalitik yang diperlukan untuk menghambat target untuk mengobati infeksi COVID-19 .(Murugan, Pandian and Jeyakanthan, 2021)



BAB IV

STUDI *IN SILICO*

Penemuan dan pengembangan sebuah obat baru merupakan rangkaian proses yang sangat kompleks sehingga memerlukan waktu cukup lama dan sumber daya yang besar. Seiring dengan berkembangnya teknologi, pendekatan desain obat berbasis komputer (*computer aided drug design/ CADD*) saat ini banyak digunakan, karena dapat meningkatkan efisiensi dalam penemuan dan pengembangan obat baru. Proses penemuan dan pengembangan obat baru bertujuan untuk mendapatkan sebuah obat baru yang memiliki aktivitas lebih baik dan mempunyai toksisitas lebih rendah melalui berbagai proses modifikasi struktur. Adanya perubahan atau modifikasi struktur dari suatu senyawa akan berpengaruh terhadap sifat fisikokimia dari senyawa, termasuk sifat lipofilik, elektronik dan sterik sehingga akan menyebabkan perubahan aktivitas biologis senyawa. Tahapan dalam proses penemuan obat yaitu meliputi identifikasi target, identifikasi kandidat obat dan optimasi, serta simulasi pada uji praklinik yang dapat dilakukan secara komputasi terhadap berbagai parameter yang tidak cukup menggunakan salah satu metode sehingga dibutuhkan data pendukung agar data tersebut valid (Khaerunnisa, Suhartati and Awaluddin, 2020).

Pada umumnya, pendekatan penelitian eksperimental terbagi menjadi tiga yaitu *in vivo* (dalam sebuah kehidupan), *in vitro* (dalam sebuah objek kaca) dan *in silico* (melalui simulasi komputer). Dalam penemuan dan pengembangan obat baru, saat ini mengarah pada pendekatan rasional

melalui komputasi atau berbasis *in silico*. *In silico* merupakan istilah yang pertama kali digunakan pada tahun 1989 dalam kegiatan *workshop* «*Cellular Automata: Theory and Application*» di Los Alamos, New Mexico oleh Pedro Miramontes yang menyebutkan «*in silico*» sebagai istilah dalam mengkarakterisasi penelitian biologi yang sepenuhnya menggunakan komputer. (Khaerunnisa, Suhartati and Awaluddin, 2020)

In silico merupakan pendekatan penelitian menggunakan metode berbasis komputer dalam perancangan obat sebagai komplemen dari *in vitro* dan *in vivo*. *Computer Aided Drug Discovery* (CADD) merupakan istilah dalam kimia komputasi mengenai pendekatan desain obat terbantuan komputer yang dikombinasikan dengan model matematika. CADD bertujuan untuk merancang molekul kecil yang mempunyai efek terapi secara efektif dan efisien. Metode yang sering digunakan untuk menemukan senyawa pemandu dalam CADD yaitu *structure-based drug design* (SBDD) dan *ligand-based drug design* (LBDD). (Mughtaridi *et al.*, 2018)

A. Penambatan Molekuler (*Molecular Docking*)

Penambatan molekuler (*molecular docking*) merupakan salah satu pengaplikasian dalam pendekatan SBDD dengan struktur target dan *ligand* yang sudah diketahui untuk menemukan pasangan terbaik antara reseptor dan *ligand* yang melibatkan prediksi konformasi *ligand* dan orientasi (*posing*) dalam suatu ikatan serta upaya untuk menempatkan *ligand* pada konfigurasi dan konformasi yang tepat (*binding site*) sehingga dapat berinteraksi dengan reseptor. Pada proses *docking*, molekul yang terlibat dapat dianggap sebagai atom, permukaan atau grid yang dapat mewakili molekul tersebut. Proses *docking* diawali dengan penerapan *docking algorithm* dimana *ligand* diposisikan pada sisi aktif dengan konformasi dan urutan pencarian konformasi tertentu. Tahapan selanjutnya yaitu *scoring function* yang dapat melengkapi *docking algorithm* dalam mengevaluasi konformasi dengan melakukan perhitungan berdasarkan sifat fisikokimia untuk mendapatkan struktur yang optimal. Penambatan

molekuler (*molecular docking*) merupakan salah satu metode tahap awal dalam mengidentifikasi senyawa aktif yang berpotensi sebagai kandidat obat. Hasil *molecular docking* dapat mengindikasikan bahwa senyawa aktif tersebut mempunyai afinitas terhadap protein target. Tetapi, data tersebut perlu didukung dengan data lainnya pada tahap *lead identification and sprimitation* meliputi analisis farmakofor atau gugus senyawa yang berperan pada efek farmakologi, analisis dinamika molekuler (*molecular dynamic*) sampai tahap *in silico preclinical test* sebagai bentuk simulasi terhadap aspek farmakokinetik dan toksisitas pada hewan uji. (Mughtaridi *et al.*, 2018)

B. Dinamika Molekuler (*Molecular Dynamic*)

Dinamika molekuler (*molecular dynamic*) merupakan suatu metode simulasi komputer yang diperkenalkan pertama kali oleh Alder dan Wainwright pada tahun 1957 dari gas sederhana. *Molecular dynamic* dapat digunakan untuk menginterpretasikan interaksi antara molekul-molekul atom pada rentang waktu tertentu. (Astuti and Mutiara, 2011), (Scott A. Hollingsworth and Ron O. Dror, 2018)

Simulasi dinamika molekuler (MD) digunakan untuk memprediksi terkait pergerakan setiap atom dalam protein atau sistem molekuler lainnya seiring dengan waktu berdasarkan model umum fisika yang mengatur interaksi antar atom. Simulasi dinamika molekuler (MD) dapat menangkap berbagai macam proses biomolekuler penting seperti perubahan konformasi, pengikatan *ligand*, dan pelipatan protein, serta mengungkapkan posisi semua atom pada resolusi temporal *femtosecond*. Selain itu, simulasi MD ini dapat juga dilakukan untuk memprediksi respons biomolekul pada tingkat atom terhadap berbagai gangguan seperti mutasi, fosforilasi, protonasi, dan penambahan atau penghilangan *ligand*. Penggunaan simulasi MD sering dikombinasikan dengan berbagai teknik biologi struktural eksperimental lainnya, seperti kristalografi sinar-x, mikroskop krio-elektron (cryo-EM), transfer energi resonansi forster

(FRET), resonansi magnetik inti (NMR), dan resonansi paramagnetik elektron (EPR). (Scott A. Hollingsworth and Ron O. Dror, 2018)

Fleksibilitas situs pengikatan target merupakan aspek penting dalam *molecular docking*. Enzim dan reseptor dapat mengalami perubahan konformasi selama proses pengenalan molekul. Simulasi dinamika molekuler dapat menghasilkan keadaan konformasi alternatif yang sesuai dengan struktur yang diinduksi *ligand*. Selain itu, ketika tidak terdapat struktur kristalografi yang cocok untuk target molekul tertentu yang tersedia, simulasi MD dapat digunakan untuk menghasilkan satu set struktur yang cocok untuk proses *docking*. Simulasi dinamika molekuler menerapkan persamaan gerak Newton, dimana gaya dapat dihitung menggunakan model medan gaya mekanika molekuler (*force-field*) yang sesuai dengan hasil perhitungan mekanika kuantum dan biasanya untuk pengukuran eksperimental tertentu. Dalam simulasi dinamika molekuler, jenis medan gaya (*force-field*) yang banyak digunakan yaitu AMBER, CHARMM dan GROMOS. (Scott A. Hollingsworth and Ron O. Dror, 2018), (Ferreira *et al.*, 2015)



BAB V

PROGRAM KOMPUTASI

Pada penelitian ini digunakan berbagai *software* dan program komputasi yang tersedia pada situs *online*. *Software* yang digunakan yaitu meliputi *Discovery Studio Visualizer*, *MarvinSketch Version 17.2.13*, *Autodock Tools*, *Autodock Vina* YASARA *Open Babel* GUI. Sedangkan untuk situs *online* seperti *Protein Data Bank* (PDB) (<https://www.rcsb.org/>), *PubChem* (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>), *PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances) Online* (<http://way2drug.com/passonline/predict.php>), *KNAPsACK* (<http://www.knapsackfamily.com/KNAPsAcK/>), *STITCH* (<http://stitch.embl.de/>), *PreADMET* (<http://preadmet.bmdrc.org/>), *google colab*, *google drive*, dan *Lipinski's Rule of Five*.

A. *Protein Data Bank* (PDB)

Protein Data Bank (PDB) merupakan sumber daya digital akses terbuka pertama dalam biologi yang menyediakan *database* atau kumpulan data eksperimen terkait makromolekul biologis dalam bentuk struktur 3D yang dapat diakses melalui *website* (<https://www.rcsb.org/>). PDB didirikan pada tahun 1971 dengan 7 struktur, dan telah berkembang secara eksponensial untuk menyediakan akses ke lebih dari 113.000 entri makromolekul alami dan yang dirancang (protein, asam nukleat, dan karbohidrat) dengan lebih dari 84.000 di antaranya dikomplekskan dengan komponen kimia kecil (molekul pelarut, ion, kofaktor, inhibitor, dan obat). Data yang diperoleh merupakan hasil dari kristalografi sinar-x dan

spektroskopi NMR hasil penelitian ahli biologi dan biokimia di seluruh dunia. RCSB PDB bertujuan untuk meningkatkan terobosan dalam penyelidikan ilmiah, kedokteran, penemuan obat, dan teknologi dengan menawarkan *tools* yang menjelaskan pandangan struktural dari molekul dan sistem biologis. *Website* RCSB PDB menyediakan *tools* untuk mencari, memvisualisasikan, dan menganalisis data PDB, termasuk eksplorasi mudah mengenai interaksi kimia yang menstabilkan makromolekul dan memainkan peran penting dalam interaksi dan fungsinya. (Burley, 2016)

B. Pubchem

Pubchem merupakan sumber informasi berisi *database* molekul kimia dan aktivitasnya yang dapat diakses melalui *website* (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Sistem ini dikelola oleh *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) yang merupakan komponen pada *National Library of Medicine* bagian dari *National Institutes of Health* (NIH) Amerika Serikat. Sejak diluncurkan pada tahun 2004, PubChem telah berkembang menjadi basis pengetahuan utama yang melayani komunitas penelitian biomedis di banyak bidang, termasuk kimia, biologi kimia, kimia obat, dan penemuan obat. *PubChem* mengatur datanya ke dalam tiga *database* yang saling terkait yaitu *Substance*, *Compound*, dan *BioAssay*. Basis data *substance* mengarsipkan deskripsi zat kimia yang disumbangkan oleh penyimpan. Basis data *compound* menyimpan struktur kimia unik yang diekstraksi dari basis data *substance* melalui standarisasi struktur. Basis data *BioAssay* berisi deskripsi dan hasil percobaan pengujian biologis. (Kim *et al.*, 2019)

C. Discovery Studio Visualizer

Discovery Studio Visualizer merupakan rangkaian *software* komprehensif yang digunakan untuk menganalisis dan memodelkan struktur molekul, *sequence*, serta data lain yang relevan dalam penelitian *life-science*. *Discovery Studio Visualizer* dapat digunakan untuk membuka data yang dihasilkan oleh *software* lain yang termasuk rangkaian *software Discovery*

Studio. Selain itu, *software* ini dirancang untuk melihat dan mengedit struktur molekul, *sequence*, data refleksi sinar-X, skrip, data lainnya, dan menampilkan plot serta representasi grafis data lainnya. (Discovery, 2022)

D. Autodock Tools

Autodock merupakan program *molecular docking* otomatis yang dirancang untuk memprediksi bagaimana molekul kecil, seperti substrat atau kandidat obat dapat mengikat reseptor struktur 3D yang diketahui. *AutoDock* merupakan program *docking* pertama yang memodelkan *ligand* dengan fleksibilitas konformasi penuh yang terdiri dari dua program yang diterapkan secara berurutan yaitu *autogrid* dan *autodock*. *Autogrid* digunakan untuk menghitung energi nonkovalen interaksi antara bagian kaku dari reseptor dan atom *probe* yang terletak di berbagai titik kisi-kisi untuk menetapkan batasan ruang yang akan digunakan. Selanjutnya, *autogrid* menghasilkan peta grid potensial elektrostatik dan peta desolvasi. Set lengkap peta grid dan bagian fleksibel dari reseptor digunakan oleh *autodock* untuk memandu proses docking *ligand* yang dipilih. (M. Michael Gromiha, 2010), (Avada, 2022)

E. Autodock Vina

Autodock Vina merupakan program *open-source* untuk melakukan *docking molekuler* yang awalnya dirancang dan diimplementasikan oleh Dr. Oleg Trott di *Molecular Graphics Lab* (sekarang CCSB) *The Scripps Research Institute* untuk meningkatkan akurasi dalam analisa dan efisiensi waktu pengerjaan. *Autodock vina* secara signifikan meningkatkan akurasi rata-rata prediksi mode pengikatan dibandingkan dengan *autodock*. (Avada, 2022)

F. PASS-Online

PASS-Online merupakan *website* yang dapat digunakan untuk memprediksi lebih dari 4000 jenis aktivitas biologis, termasuk efek farmakologis, mekanisme kerja, efek toksik dan merugikan, interaksi dengan enzim

metabolik dan transporter, serta pengaruh pada ekspresi gen. Untuk mendapatkan profil aktivitas biologis yang diprediksi untuk senyawa yang akan dianalisis dilakukan dengan menggunakan formula struktural yang diperlukan. Kemungkinan prediksi juga bisa dilakukan struktur virtual yang baru dirancang di komputer tetapi belum disintesis.(Way2Drug, 2022).

G. Marvin Sketch

Marvin sketch merupakan *software* kimia berbasis java yang dikembangkan oleh *ChemAxon* dengan tujuan untuk penggambaran senyawa kimia, reaksi, struktur markush, dan molekul kueri yang cepat dan akurat. *Marvin sketch* memungkinkan untuk membuat dan mengedit molekul dalam berbagai format file termasuk MDL mol, *Compressed mol*, *unique SMILES*, SMARTS, Sybyl mol, PDB, CML, XYZ, POV-Ray.(ChemAxon, 2022)

H. KNApSAcK

KNApSAcK merupakan situs web berisi *database* yang menjelaskan hubungan antara spesies dan metabolitnya dengan menargetkan analisis sistematis sejumlah besar senyawa organik dengan struktur yang diketahui atau tidak diketahui dalam metabolomik melalui *website* (<http://www.knapsackfamily.com/KNApSAcK/>). KNApSAcK Core DB berisi 101.500 hubungan spesies-metabolit yang mencakup 20.741 spesies dan 50.048 metabolit dengan memungkinkan pencarian metabolit berdasarkan massa akurat, rumus molekul, nama metabolit, dan/atau spektrum massa yang diperoleh dalam beberapa mode ionisasi.(Afendi *et al.*, 2012), (KNApSAcK, 2022)

I. YASARA

YASARA (*Yet Another Scientific Artificial Reality Aplication*) merupakan program grafik molekuler, pemodelan dan program simulasi yang telah dikembangkan sejak 1993 untuk sistem operasi Windows, Linux dan MacOS. YASARA digunakan dalam tahap preparasi *ligandd* maupun

reseptor juga visualisasi dari hasil penambatan molekuler (*molecular docking*). YASARA didukung oleh PVL (*Portable Vector Language*), yang memungkinkan untuk melakukan visualisasi bahkan protein terbesar dan memungkinkan simulasi *real-time* interaktif yang sebenarnya dengan medan gaya yang sangat akurat pada PC standar dengan memanfaatkan GPU jika tersedia. Metode yang diperkenalkan oleh YASARA yaitu meliputi YASARA *View* yang bisa diakses secara gratis, sedangkan tahap yang lebih tinggi seperti model YASARA, YASARA *Dynamics*, dan YASARA *Structure* memerlukan biaya lisensi untuk menjamin perkembangan baru, pembaruan.(YASARA, 2022)

J. STITCH

STITCH merupakan situs *online* berisi *database* mencakup 9.643.763 protein dari 2.031 organisme yang dapat digunakan dalam memprediksi interaksi antara senyawa kimia dengan protein meliputi interaksi asosiasi langsung (fisik) dan tidak langsung (fungsional) yang dapat diakses melalui *website* (<http://stitch.embl.de/>). Interaksi tersebut berasal dari prediksi komputasi, transfer pengetahuan antar organisme, dan dari interaksi yang dikumpulkan dari *database* utama lainnya. Interaksi yang terjadi dalam STITCH berasal dari lima sumber utama yaitu prediksi konteks genom, eksperimen lab dengan *throughput* tinggi, pengetahuan sebelumnya dalam basis data, (*conserved*) *co-expression* dan *automated textmining*.(STITCH, 2022)

K. Google Colab (Google Colab)

Google colab atau *Google colabatory* merupakan *tools* yang dikeluarkan oleh Google dengan media penyimpanan berupa *Google Drive* berbentuk *cloud*. *Google colab* ini dapat digunakan untuk membuat, menyimpan dan membagikan sebuah program yang sudah ditulis melalui *Google Drive*. Selain itu, *google colab* dapat digunakan untuk mengolah data menggunakan *machine learning* atau *deep learning* dengan keterbatasan perangkat yang disediakan yaitu layanan GPU gratis yang bisa digunakan

dalam 12 jam sebagai *backend* komputasi. *Google colab* hampir sama dengan *Jupyter Notebook* tetapi berbeda dari segi media penyimpanannya. (Imam Digimi, 2018)

L. OpenMM

OpenMM merupakan *toolkit* atau perangkat yang digunakan untuk simulasi molekuler dengan aplikasi yang berdiri sendiri dalam menjalankan simulasinya. *OpenMM* juga berfungsi sebagai *database* atau *library* yang dapat memanggil kode perintah (*script*) yang telah dibuat. Hal tersebut memberikan keunggulan kombinasi fleksibilitas yang tinggi melalui kekuatan kustom dan integrator, keterbukaan, dan kinerja tinggi dengan menggunakan GPU terbaru. (OpenMM, 2022)

M. Open Babel GUI

Open Babel GUI merupakan sebuah *software* yang berasal dari versi OELib dirilis sebagai perangkat lunak sumber terbuka oleh *OpenEye Scientific* dibawah GPU (*GNU Public License*) dalam bidang kimia. Sejak tahun 2001 *Open Babel* telah dikembangkan dan diperluas secara substansial sebagai solusi untuk proliferasi atau pengubahan berbagai format file kimia. *Open Babel* menyediakan berbagai *tools* yang berguna dalam pencarian konformer dan penggambaran 2D, pemfilteran, konversi *batch*, dan pencarian substruktur dan kesamaan. *Open Babel* dapat digunakan sebagai perpustakaan pemrograman dalam menangani data kimia di berbagai bidang seperti kimia organik, desain obat, ilmu material, dan kimia komputasi yang tersedia secara bebas dibawah lisensi sumber terbuka (<https://openbabel.org/>). (O'Boyle *et al.*, 2011) Chemical Markup Language

N. Lipinski's Rule Of Five

Lipinski's rule of five merupakan lima aturan yang dapat digunakan untuk memprediksi kemiripan obat dari senyawa kimia dengan aktivitas biologis tertentu yang dirancang untuk rute pemberian oral, dimana dapat diakses

melalui *website* (<http://www.scfbio-iitd.res.in/software/drugdesign/lipinski.jsp>). Molekul obat yang ideal akan mematuhi pedoman sifat fisikokimia dari *lipinski's rule of five*. Parameter yang harus diperhatikan dalam *lipinski's rule of five* yaitu meliputi berat molekul (BM) <500 Da, nilai Log P <5, mempunyai <5 donor ikatan hidrogen dan <10 akseptor. (SCFBio, 2022)

O. Pre-ADMET

Pre-ADMET merupakan situs *online* untuk memprediksi sifat farmakokinetik, toksisitas dan kemiripan obat dari suatu senyawa yang dapat diakses melalui *website* (<http://preadmet.bmdrc.org/>). Prediksi sifat farmakokinetik meliputi berbagai parameter yaitu sel CaCO₂ yang digunakan sebagai model *in vitro* untuk memprediksi penyerapan (absorpsi) obat manusia; HIA (*Human Intestinal Absorption*) merupakan model *in silico* yang menunjukkan penyerapan usus manusia dan model permeabilitas kulit untuk memprediksi dan mengidentifikasi obat potensial yang diberikan dalam rute oral atau transdermal. Sedangkan PPB (*Protein Plasma Binding*) merupakan parameter dari prediksi distribusi berdasarkan keterikatan dengan protein plasma. Prediksi toksisitas dilakukan dengan melihat sifat karsinogenik, mutagenik yang meliputi ambang batas dari adanya paparan yang terjadi pada manusia suatu senyawa uji di dalam tubuh. (PreADMET, 2022)



BAB VI

PENELITIAN

A. Alat

Alat atau perangkat uji yang digunakan dalam penelitian ini yaitu meliputi perangkat keras (*hardware*) dan perangkat lunak (*software*) serta beberapa situs *online*. Perangkat keras (*hardware*) yang digunakan berupa laptop ASUS X454Y dengan spesifikasi *processor* AMD Quad Core A8-7410 up to 2,5 GHz *x4 Radeon Graphics*, RAM 4.00GB dan HDD 500GB dengan sistem operasi *Windows 10 Pro 64-bit* yang ditunjang koneksi internet untuk menjalankan beberapa *software* dan situs *online*.

Software yang digunakan yaitu meliputi *Discovery Studio Visualizer*, *MarvinSketch Version 17.2.13*, *Autodock Tools*, *Autodock Vina* YASARA, *Open Babel* GUI. Sedangkan untuk situs *online* seperti *Protein Data Bank* (PDB) (<https://www.rscb.org/>), *PubChem* (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>), *PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances) Online* (<http://way2drug.com/passonline/predict.php>), *KNapSACk* (<http://www.knapsackfamily.com/KNAPSAcK/>), *STITCH* (<http://stitch.embl.de/>), *PreADMET* (<http://preadmet.bmdrc.org/>), *google colab*, *google drive*, dan *Lipinski's Rule of Five* (<http://www.scfbio-iitd.res.in/software/drugdesign/lipinski.jsp>).

B. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu meliputi struktur 3D reseptor target SARS CoV-2 jenis *main protease* dengan kode ID PDB 7SI9, 7RN4, 7NG6, dan 7DPU yang terkompleks dengan obat dan ligand alami (*native ligand*) yang diunduh melalui situs *online Protein Data Bank* (PDB) dalam struktur 3D yang disimpan dalam format (.pdb). Dasar pemilihan reseptor yang digunakan yaitu berdasarkan nilai resolusi yang $<2 \text{ \AA}$ dan sifat non mutagenik dari reseptor.

Bahan lainnya yang digunakan yaitu 46 struktur 2D dan 3D dari senyawa aktif tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*, Nees) sebagai senyawa uji yang terdiri dari *Andrographolide*, *Neoandrographolide*, *Ninandrographolide*, *Dihydroskullcap flavone I*, *5-Hydroxy-7,2,6-trimethoxyflavone*, *Paniculide C*, *Paniculide B*, *Paniculide A*, *Andrographidin A*, *Andrographiside*, *Andropanolide*, *Isoandrographolide*, *Bisandrographolide C*, *Bisandrographolide B*, *14-Acetylandrographolide*, *5,7,2,3-Tetramethoxyflavanone*, *14-Deoxy-17-hydroxyandrographolide*, *7S-Hydroxy-14-deoxyandrographolide*, *7R-Hydroxy-14-deoxyandrographolide*, *12R,13R-Hydroxyandrographolide*, *5-Hydroxy-3,7,8,2-tetramethoxyflavone*, *5-Hydroxy-7,8-dimethoxyflavanone*, *5,4-Dihidroxy-7,8,2,3-tetramethoxyflavone*, *Caffeic acid*, *Apigenin 7,4-dimethyl ether*, *3-O-Caffeoylquinic acid*, *Ferulic acid*, *beta-Sitosterol*, *7-O-Methylwogonin*, *Wogonin 5-glucoside*, *5-Hydroxy-7,8-dimethoxyflavone 5-glucoside*, *5-Hydroxy-7,8,2-trimethoxyflavone 5-glucoside*, *5,2,3-Trihydroxy-7,8-dimethoxyflavone 3-glucoside*, *5-Hydroxy-7,8,2,3-tetramethoxyflavone 5-glucoside*, *5,4-Dihidroxy-7,8,2,3-tetramethoxy flavone 5-glucoside*, *Skullcapflavone I 2'-O-glucoside*, *14-Acetyl-3,19-isopropylideneandrographolide*, *14-Deoxy-11,14-didehydroandrographolide*, *14-Deoxy-11-oxoandrographolide*, *Andrographic acid*, *Cinnamic acid*, *3-O-beta-D-Glucopyranosylandrographolide*, *14-Deoxyandrographolide*, *Andrograpanin*, *12S,13S-Hydroxyandrographolide*, *12S-Hydroxyandrographolide*. Selain itu, digunakan juga struktur ligand pembanding berupa obat antivirus

oral terbaru yang digunakan untuk COVID-19 yaitu Molnupiravir dan Nirmatlevir (PF-07321332) + Ritonavir (Paxlovid™). Struktur senyawa uji dan ligand pembandingan diunduh melalui situs *online Pubchem* (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>).

C. Prosedur Penelitian

1. Prediksi Aktivitas Antivirus

Prediksi aktivitas antivirus dilakukan melalui *PASS Online* (<http://way2drug.com/passonline/predict.php>) terhadap senyawa aktif tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*) hasil pencarian menggunakan struktur senyawa dalam bentuk *canonical SMILE* yang diunduh dari *pubchem*, lalu disalin (*paste*) pada kolom di situs *PASS Online-Way2Drug* dan *submit*. Kemudian akan muncul hasil *screening* berupa tabel yang menunjukkan berbagai aktivitas biologis dari senyawa tersebut, lalu dilakukan analisis dengan melihat parameter nilai P_a dan P_i .

2. Penambatan Molekuler (Molecular Docking)

a. Penyiapan dan Preparasi Reseptor

Penyiapan dan preparasi reseptor diawali dengan melakukan pengunduhan struktur 3D makromolekul kompleks melalui situs *online Protein Data Bank* (PDB) yang disimpan dengan format file (.pdb). Reseptor terpilih yang telah diunduh dalam format (.pdb) kemudian dipreparasi menggunakan *software Autodock Tools*. Proses preparasi ini dilakukan untuk memisahkan reseptor dengan *native ligand* nya, menghilangkan molekul air serta residu yang bertujuan agar proses *docking* tidak terganggu sehingga didapatkan hasil preparasi berupa reseptor murni dan *native ligand* yang disimpan dalam format file (.pdb). Setelah itu, kemudian dilakukan proses preparasi yang kedua menggunakan *software Autodock Tools* terhadap reseptor murni dan ligand hasil preparasi pertama. Pada reseptor murni dilakukan penambahan muatan *kollman* dan atom hidrogen polar sedangkan pada ligand

dilakukan penambahan muatan *gastaiger* dan atom hidrogen serta pengaturan torsi. Hasil preparasi yang kedua disimpan dalam format file (.pdbqt) untuk selanjutnya dilakukan pengaturan *grid box* dan proses *docking*. Setelah dilakukan proses preparasi, kemudian dilakukan pengaturan *grid box* dengan memasukkan kembali file reseptor dan ligand ke dalam *software Autodock Tools* dengan format file (.pdbqt) sehingga dihasilkan *output* berupa file *grid.txt* yang berisi informasi mengenai *grid box*.

Selain itu, dilakukan juga pembuatan file *config.txt* yang di dalamnya berisi informasi mengenai nama file reseptor dan ligan hasil preparasi, ukuran *grid box*, nama file hasil *output docking* yang akan tersimpan dalam format file (.pdbqt) dan (.txt), serta parameter untuk proses *docking* yang meliputi nilai *number of modes* untuk menentukan jumlah konformasi yang diinginkan dalam satu kali proses *running* dan *exhaustiveness* yang berpengaruh terhadap keakuratan dari proses *docking* dengan nilai yang dicantumkan berupa kelipatan 8. Semakin besar nilai *exhaustiveness* maka semakin akurat. Pembuatan file *config.txt* bertujuan untuk membuat proses *docking* menggunakan *software Autodock Vina* dapat berjalan dan terbaca oleh cmd (*command prompt*).

b. Validasi Metode *Docking (re-docking)*

Proses validasi metode *docking (re-docking)* dilakukan dengan cara menambatkan kembali antara reseptor yang dengan *native ligand* hasil preparasi menggunakan *Autodock Vina* dengan bantuan cmd (*command prompt*). Validasi metode *docking* dapat dilakukan jika semua file yang dibutuhkan sudah tersimpan dalam satu folder khusus yang meliputi file reseptor dan ligand dalam format (.pdbqt), file *grid.txt*, *config.txt* dan file dari *software Autodock Vina* seperti *vina_licence*, *vina_split* dan *vina.exe* serta cmd (*command prompt*) sebagai tempat *running docking Autodock Vina*.

Setelah semua file yang dibutuhkan tersimpan dalam satu folder khusus, proses validasi metode *docking* dapat dilakukan dengan membuka file cmd (*command prompt*) untuk membuka *software Autodock Vina*. Di dalam cmd (*command prompt*) dilakukan pemanggilan *software Autodock Vina* dengan mengetikkan perintah “vina.exe —config config.txt” lalu menekan tombol *enter* sehingga akan terjadi proses *docking* secara otomatis pada sistem *command prompt* sesuai dengan parameter yang sebelumnya sudah tersimpan pada file config.txt dengan hasil *docking* yang akan tersimpan dalam file log.txt. Hasil *docking* memuat nilai RMSD dan afinitas (ΔG) dari setiap konformasi. Dipilih satu konformasi dengan nilai afinitas (ΔG) paling rendah kemudian dilakukan pemisahan setiap konformasi yang didapatkan dari hasil *docking* dengan mengetikkan perintah pada sistem cmd (*command prompt*) “vina_split.exe —input hasil.pdbqt” lalu menekan tombol *enter* dan akan didapatkan hasil *docking* dari berbagai konformasi secara terpisah. Penentuan nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*) yang sebenarnya dilakukan menggunakan *software YASARA* dari satu konformasi terpilih dengan nilai afinitas (ΔG) terendah. Validasi *docking* dikatakan valid jika nilai RMSD $< 2 \text{ \AA}$ dimana menunjukkan bahwa parameter *docking* yang digunakan telah valid sehingga metode *docking* dapat digunakan untuk *docking* senyawa uji. (Muchtaridi *et al.*, 2018)

c. Preparasi Senyawa Uji dan Ligand Pemanding

Proses preparasi senyawa uji dan ligand pemanding diawali dengan menyalin *canonical SMILES* melalui *website Pubchem* (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) lalu di *paste* pada *software MarvinSketch Version 17.2.13*, dilakukan proses optimasi dengan *mimimized energy*. Selanjutnya senyawa uji atau ligand yang sudah dioptimasi, dilakukan proses protonasi dengan cara mengkondisikan senyawa uji pada pH tubuh yaitu pH 7,4 sehingga dihasilkan ligand uji yang disimpan dalam format file

(.mol2). Ligand uji dalam format file (.mol2) kemudian diubah ke dalam format file (.pdbqt) menggunakan *software Open Babel GUI* yang bertujuan agar proses *docking* dapat dilakukan.

d. Simulasi *Molecular Docking*

Proses penambatan molekuler (*molecular docking*) antara reseptor dengan ligand uji dilakukan menggunakan *Autodock Vina* dengan bantuan cmd (*command prompt*). Proses ini diawali dengan membuat folder khusus untuk proses *docking* senyawa uji yang di dalamnya terdiri dari folder lig yang berisi ligand uji dalam format file (.pdbqt), file reseptor dengan format file (.pdbqt), config.txt, *vina.exe*, dan file *vina_run.bat* berisi perintah khusus untuk menjalankan proses *docking* dengan cmd (*command prompt*) dengan isi perintahnya yaitu :

```
vina.exe» —ligand «%%a» —config config.txt)
```

pause

Proses *docking* dimulai setelah semua file siap dengan mengklik folder lig yang diikuti dengan mengklik juga file reseptor. pdbqt dan file *vina.batch* untuk menjalankan proses *docking* sehingga akan muncul tampilan *screen* bahwa proses *running docking* sedang berlangsung. Proses ini akan berjalan sesuai dengan data yang telah dibuat sebelumnya dan lamanya proses ini tergantung juga dengan kemampuan *tools* yang digunakan. Hasil *docking* otomatis akan tersimpan dalam folder lig sesuai dengan format nama ligand uji sebelumnya yang ditandai dengan akhiran nama file (_out) yang memuat nilai ΔG pada setiap posisi penambatan. Kemudian dilakukan proses analisis terhadap hasil *docking* dengan membandingkan nilai ΔG yang didapatkan.

e. Visualisasi Hasil *Docking*

Proses analisis hasil *docking* selain dilakukan perbandingan terhadap nilai ΔG , juga dilakukan proses visualisasi hasil *docking* menggunakan *software Discovery Studio Visualizer*. Visualisasi hasil *docking* dilakukan untuk mengetahui jenis interaksi yang

terjadi, jarak interaksi yang terjadi antara reseptor dan ligand, serta visualisasi residu asam amino yang berinteraksi. Analisis hasil *docking* dilakukan terhadap semua hasil proses validasi metode, simulasi *molecular docking* senyawa uji dan ligand pembandingan.

3. Pencarian dan Penambatan Molekuler (Molecular Docking) Senyawa Similar

Pencarian senyawa similar dilakukan berdasarkan nilai kedekatan atau similaritas dari senyawa terpilih hasil docking dengan menggunakan website STITCH (<http://stitch.embl.de/>) yang bertujuan untuk mencari terkait adanya potensi aktivitas yang sama atau lebih baik antara senyawa utama dengan senyawa similar ketika dilakukan docking terhadap reseptor yang sama. Proses ini diawali dengan menginput *canonical SMILES* dari senyawa uji terpilih hasil *docking* pada laman *STITCH* dan akan didapatkan hasil berupa senyawa yang ditampilkan dan diurutkan berdasarkan nilai kedekatan atau similaritas terhadap senyawa uji. Diambil beberapa senyawa hasil pencarian berdasarkan pendekatan kemiripan struktur yang memiliki nilai similaritas paling tinggi.

Senyawa terpilih hasil pencarian, kemudian dilakukan prediksi untuk mengetahui aktivitas antivirusnya, lalu dipreparasi dengan prosedur yang sama seperti senyawa uji sebelumnya yang meliputi proses penghilangan molekul air, penambahan muatan dan hidrogen, proses optimasi dan protonasi yang disimpan dalam bentuk format file (.mol2) yang selanjutnya diubah menjadi format file (.pdbqt) menggunakan *software Open Babel GUI*. Kemudian dilakukan proses *docking* dengan prosedur yang sama seperti pada proses *docking* senyawa uji sebelumnya menggunakan *Autodock Vina*. Digunakan *gridbox* sesuai dengan proses *docking* sebelumnya. Hasil *docking* dianalisis dengan membandingkan nilai afinitas (ΔG) dan dilakukan visualisasi menggunakan *software Discovery Studio Visualizer*.

4. Simulasi Dinamika Molekuler (*Molecular Dynamic*)

Simulasi dinamika molekuler (*molecular dynamic*) dilakukan untuk mengamati kestabilan interaksi yang terjadi antara reseptor dengan ligand uji pada kondisi fisiologis tubuh dalam rentang waktu tertentu. (Muttaqin, 2019) Proses simulasi *molecular dynamics* ini dilakukan pada GPU *online* menggunakan *software Open MM* dengan bantuan *Google colab* yang sudah ditautkan dengan *Google drive* terhadap senyawa terbaik hasil *docking*, *native ligand*, dan *ligand* pembanding dengan reseptor target hasil preparasi *docking* sebelumnya.

Simulasi dinamika molekuler (MD) diawali dengan mengubah *runtime* yang akan digunakan pada simulasi dinamika molekuler (MD) menjadi GPU dengan cara mengklik *runtime* kemudian pilih *runtime type* dan pilih GPU lalu *save* pada *google colab*. Setelah itu, lakukan instalasi *packages* atau aplikasi utama yang dibutuhkan pada proses simulasi MD ini dengan memasukkan perintah pada sel kode *google colab*. Kemudian dilakukan pengintegrasian antara *google colab* dengan *google drive* agar terhubung dan lakukan pengecekan sistem dengan memasukan perintah pada kolom kode sel di *google colab*. Lalu, buat folder khusus dan *upload* protein serta ligan yang akan digunakan untuk simulasi MD di *google drive* sehingga proses MD dapat berlangsung dan hasil proses nantinya akan tersimpan otomatis pada folder tersebut.

Tahapan selanjutnya yaitu pembuatan topologi dengan memberikan medan gaya (*force field*) *ff19sb* pada ligand uji dan GAFF2 (*General Amber Force Field 2*). Setelah itu, pada tahap solvasi dilakukan dengan melarutkan kompleks ligand – reseptor dalam model TIP3 dan pada tahap netralisasi dilakukan penambahan Na^+ dengan konsentrasi 0,15 agar sistem kompleks ligand – reseptor menjadi netral. Sebelum dilakukan tahap produksi, terlebih dahulu dilakukan tahap equilibrasi yang bertujuan untuk menstabilkan sistem sehingga dalam keadaan konstan dengan mengatur suhu (T) pada 310K atau 36,8°C selama 1ns atau 1000ps dan dilakukan *running* tahap produksi.

Setelah proses *running* tahap produksi selesai, kemudian dilakukan analisis terhadap hasil simulasi dinamika molekuler yang meliputi parameter RMSD (*Root Mean Square Deviation*) dan RMSF (*Root Mean Square Fluctuation*) dengan membandingkan antara hasil simulasi dinamika molekuler senyawa uji, *native ligand*, dan ligand pembanding yang digunakan.

5. Prediksi *Druglikeness* (*Lipinski's Rule of Five*)

Prediksi *druglikeness* atau analisis fisikokimia dilakukan secara *online* melalui *website* (<http://scfbio-iitd.res.in>) untuk melihat berbagai parameter berdasarkan kesesuaian senyawa uji dengan aturan *Lipinski's Rule of Five*. Prediksi *druglikeness*, dilakukan menggunakan file senyawa uji hasil proses optimasi dalam format file (.mol2) yang diupload pada web *Lipinski's Rule of Five* (<http://www.scfbio-iitd.res.in/software/drugdesign/lipinski.jsp>). Parameter yang digunakan pada prediksi *druglikeness* diantaranya yaitu meliputi bobot molekul senyawa <500 g/mol, donor ikatan hidrogen <5, akseptor ikatan hidrogen <10 dan nilai koefisien partisi (Log P) <5.

6. Prediksi Profil Farmakokinetik dan Toksisitas

Proses prediksi profil farmakokinetik dan toksisitas dilakukan melalui situs *online Pre-ADMET* dengan mengunduh senyawa uji dalam format file (.SDF) dan dibuka menggunakan *notepad* lalu disalin isi file yang terdapat dalam *notepad*. Setelah itu, ditempel pada website *Pre-ADMET* (<http://preadmet.bmdrc.org/>) kemudian disubmit dan akan menghasilkan berbagai parameter untuk melihat pengujian absorpsi berdasarkan parameter nilai permeabilitas *Human Intestinal Absorption* (HIA) dan sel *Human colon adenocarcinoma* (Caco-2), pengujian distribusi berdasarkan parameter nilai *Protein Plasma Binding*, dan pengujian metabolisme (substrat CYP2D6) serta prediksi toksisitas dengan melihat *ames toxicity* yang menjelaskan ambang batas paparan pada manusia dan *carsinogenity* atau sifat karsinogenik juga mutagenik dari senyawa.



BAB VII

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Prediksi Aktivitas Antivirus

Prediksi aktivitas antivirus bertujuan untuk melakukan prediksi awal terkait aktivitas biologis yang dihasilkan sebelum dilakukan sintesis kimia dan pengujian biologis, terutama aktivitas antivirus dari senyawa uji. (Fitriana, Rahayu Lestari and Lukiati, 2018) Meskipun hasil yang didapatkan tidak spesifik menunjukkan antivirus terhadap SARS-CoV-2, tetapi hasil tersebut dapat memberikan gambaran terkait kemungkinan senyawa uji dalam menghasilkan aktivitas antivirus yang sama terhadap SARS-CoV-2.

Prediksi aktivitas antivirus dilakukan melalui situs *PASS Online* (<http://way2drug.com/passonline/predict.php>) terhadap 46 senyawa aktif tanaman sambiloto hasil pencarian sebelumnya. Parameter yang digunakan dalam hasil prediksi *PASS Online* yaitu *Activity*, meliputi nilai P_a (*Probability activity*) dan P_i (*Probability inactivity*) yang menunjukkan nilai probabilitas atau peluang senyawa uji dalam menghasilkan aktivitas biologis yang diharapkan. (Kusumawati RD, Yuniastuti A, Susanti WH, 2021) Prediksi besarnya peluang senyawa uji dalam menghasilkan suatu aktivitas biologis yaitu didasarkan pada perbandingan nilai P_a dan P_i dengan nilai keakuratan hasil prediksi sebesar 95% hasil penilaian *Leave-One-Out Cross Validation* (LOO CV). (Fitriana, Rahayu Lestari and Lukiati, 2018)

Interpretasi dari hasil prediksi PASS *Online* yaitu jika nilai P_a lebih besar dari nilai P_i ($P_a > P_i$) maka kemungkinan senyawa uji tersebut menunjukkan aktivitas biologis yang diinginkan. Selain itu, interpretasi hasil lainnya yaitu jika nilai P_a lebih dari 0,7 ($P_a > 0,7$) maka kemungkinan senyawa tersebut secara eksperimental mempunyai aktivitas biologi tinggi dan memiliki tingkat kemiripan yang tinggi dengan senyawa obat pada kondisi bioaktivitas sama. Jika nilai P_a lebih dari 0,5 dan kurang dari 0,7 ($0,5 < P_a < 0,7$) maka kemungkinan senyawa tersebut secara eksperimental mempunyai aktivitas biologis yang cukup tinggi, tetapi memiliki tingkat keimipiran yang rendah sehingga substansinya cenderung berbeda dari obat yang sudah ada, sedangkan jika nilai P_a kurang dari 0,5 ($P_a < 0,5$) maka kemungkinan senyawa tersebut memiliki aktivitas yang sangat rendah. (Kusumawati RD, Yuniastuti A, Susanti WH, 2021)

Hasil prediksi aktivitas antivirus melalui PASS *Online* terhadap 46 senyawa aktif tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*), menunjukkan hasil bahwa semua senyawa aktif memiliki nilai P_a lebih dari nilai P_i ($P_a > P_i$) dengan berbagai aktivitas antivirus terhadap virus HIV, hepatitis B, herpes, influenza A, influenza, rhinovirus, CMV, picornavirus, poxvirus, rhinovirus, hepatitis C, trachoma, hepatitis, parainfluenza dan adenovirus. Senyawa yang memiliki nilai P_a lebih dari 0,7 ($P_a > 0,7$) terdiri dari 4 senyawa yaitu *Neoandrographolide*, *Ninandrographolide*, *Andrographidin A*, dan *14-Deoxy-17-hydroxyandrographolide* yang memiliki aktivitas antivirus terhadap virus influenza. Untuk senyawa yang memiliki nilai P_a lebih dari 0,5 dan kurang dari 0,7 ($0,5 < P_a < 0,7$) terdiri dari 26 senyawa yaitu *Dihydroskullcap flavone I*, *paniculide C*, *paniculide B*, *paniculide A*, *andrographiside*, *5,7,2,3-Tetramethoxyflavanone*, *7S-Hydroxy-14-deoxyandrographolide*, *7S-Hydroxy-14-deoxyandrographolide*, *7R-Hydroxy-14-deoxyandrographolide*, *12R,13R-Hydroxyandrographolide*, *5-Hydroxy-7,8-dimethoxyflavanone*, *caffeic acid*, *3-O-Caffeoylquinic acid*, *ferulic acid*, *beta-sitosterol*, *wogonin 5-glucoside*, *5-Hydroxy-7,8-dimethoxyflavone 5-glucoside*, *5-Hydroxy-7,8,2-trimethoxyflavone 5-glucoside*, *5,2,3-Trihydroxy-7,8-dimethoxyflavone 3-glucoside*, *5-Hydroxy-7,8,2,3-tetramethoxyflavone 5-glucoside*, *5,4-Dihidroxy-7,8,2,3-tetramethoxy*

flavone 5-glucoside, Skullcapflavone 1 2'-O-glucoside , Cinnamic acid, 3-O-beta-D-Glucopyranosylandrographolide, 14-Deoxyandrographolide, 12S-Hydroxyandrographolide yang memiliki aktivitas antivirus terhadap picornavirus, herpes, influenza, dan rhinovirus. Sedangkan untuk senyawa yang memiliki nilai Pa kurang dari 0,5 ($Pa < 0,5$) yaitu terdiri dari 16 senyawa.

Pada prediksi aktivitas antivirus terhadap 40 senyawa similar didapatkan hasil semua senyawa similar memiliki nilai Pa lebih dari nilai Pi ($Pa > Pi$), sebanyak 16 senyawa memiliki nilai Pa lebih dari 0,7 ($Pa > 0,7$) dengan aktivitas antivirus terhadap virus influenza, dan senyawa similar yang memiliki nilai Pa lebih dari 0,5 dan kurang dari 0,7 ($0,5 < Pa < 0,7$) terdiri dari 23 senyawa dengan aktivitas antivirus terhadap influenza, herpes, hepatitis, pcornavirus, dan rhinovirus. Sedangkan untuk senyawa yang memiliki nilai Pa kurang dari 0,5 ($Pa < 0,5$) yaitu terdiri dari 14 senyawa. Dari hasil pengujian *screening* aktivitas antivirus tersebut, senyawa aktif dari tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*) dan senyawa similarnya secara umum bisa digunakan dalam pendekatan proses pencarian kandidat anti SARS-CoV-2.

Tabel VII.1 Hasil prediksi aktivitas antivirus senyawa aktif tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*) menggunakan PASS online

No.	Senyawa	Pa	Pi	Aktivitas Antivirus
1	<i>Neoandrographolide</i>	0,337	0,025	Hepatitis B
		0,372	0,048	Herpes
		0,701	0,005	Influenza
		0,288	0,279	Rhinovirus
2	<i>Ninandrographolide</i>	0,132	0,09	HIV
		0,333	0,026	Hepatitis B
		0,396	0,037	Herpes
		0,238	0,121	Influenza A
		0,712	0,005	Influenza
		0,288	0,279	Rhinovirus

Tabel VII.1 Lanjutan

No.	Senyawa	Pa	Pi	Aktivitas Antivirus
3	<i>Andrographidin A</i>	0,5 0,099 0,146 0,533 0,753 0,463 0,078	0,004 0,063 0,037 0,007 0,004 0,041 0,077	Hepatitis B Hepatitis C Hepatitis Herpes Influenza Rhinovirus Trachoma
4	<i>14-Deoxy-17-hydroxyandrographolide</i>	0,182 0,218 0,424 0,262 0,702 0,368	0,39 0,07 0,026 0,08 0,005 0,132	HIV Hepatitis B Herpes Influenza A Influenza Rhinovirus)

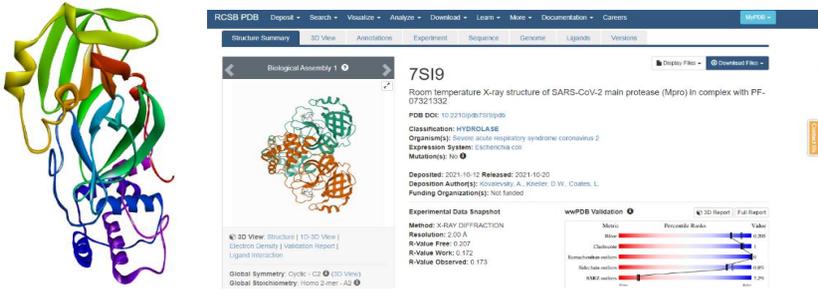
Penambatan Molekuler (*Molecular Docking*)

Penambatan molekuler (*molecular docking*) merupakan salah satu metode *in silico* yang dilakukan untuk menemukan pasangan terbaik antara reseptor dan *ligand* melibatkan prediksi konformasi *ligand* dan orientasi (*posing*) dalam suatu ikatan serta upaya untuk menempatkan *ligand* pada konfigurasi dan konformasi yang tepat (*binding site*) sehingga dapat berinteraksi dengan reseptor. (Muchtaridi *et al.*, 2018)

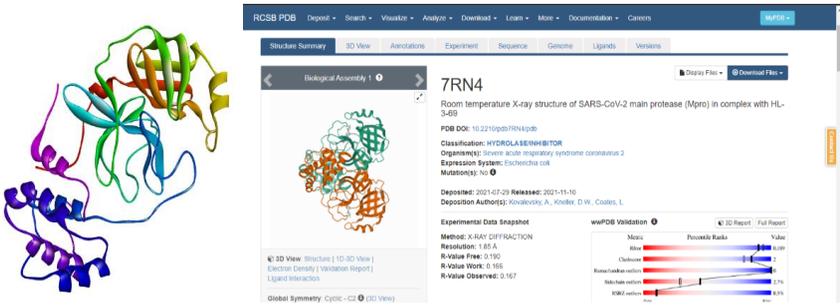
Pada penelitian ini dilakukan penambatan molekuler (*docking*) senyawa aktif tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*) sebagai senyawa uji terhadap reseptor target jenis *main protease* SARS-CoV-2. Diawali dengan melakukan pengunduhan struktur 3D makromolekul atau reseptor kompleks melalui situs *online Protein Data Bank* (PDB) (<https://www.rcsb.org/>) yang disimpan dengan format file (.pdb) untuk dilakukan proses preparasi. Dasar pemilihan makromolekul atau reseptor yang akan digunakan yaitu berdasarkan berbagai parameter seperti nilai resolusi <2 Å, tidak bermutasi dan berkompleks dengan *native ligand*.

Reseptor terpilih yang diunduh dan digunakan pada penelitian ini yaitu jenis *main protease* SARS-CoV-2 yang merupakan salah satu target kerja penting karena berperan dalam proses replikasi dan transkripsi

protein-protein yang terdapat pada virus SARS-CoV-2, dengan kode ID PDB 7SI9, 7RN4, 7NG6, dan 7DPU.



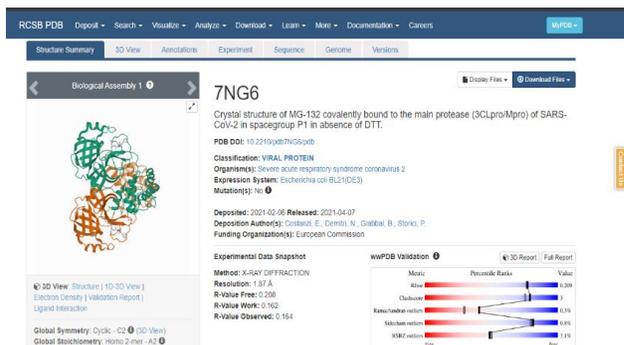
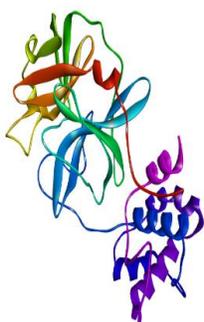
Gambar VII. 1 Struktur 3D reseptor main protease ID PDB 7SI9



Gambar VII. 2 Struktur 3D reseptor main protease ID PDB 7RN4



Gambar VII. 3 Struktur 3D reseptor main protease ID PDB 7NG6



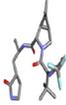
Gambar VII. 4 Struktur 3D reseptor main protease ID PDB 7DPU

Makromolekul atau reseptor tersebut membentuk kompleks dengan masing-masing *native ligand* nya yaitu diantaranya reseptor dengan ID PDB 7SI9 membentuk kompleks dengan *native ligand* 2-oxopyrrolidin-3-yl]propan-2-yl]-6,6-dimethyl-3-[3-methyl-N(trifluoroacetyl)-L-valyl]-3-azabicyclo[3.1.0]hexane-2-carboxamide memiliki nilai resolusi 2,00 Å. Reseptor dengan kode ID PDB 7RN4 memiliki nilai resolusi 1,85 Å dan membentuk kompleks dengan *native ligand* 6-[4-(3,4-dichlorophenyl)piperidine-1-carbonyl]pyrimidine-2,4(1H,3H)-dione. Untuk reseptor dengan kode ID PDB 7NG6 membentuk kompleks dengan *N-[(benzyloxy)carbonyl]-L-leucyl-N-[(2S)-1-hydroxy-4-methylpentan-2-yl]-L-leucinamide* dan memiliki nilai resolusi 1,87 Å. Reseptor dengan kode ID PDB 7DPU berkompleks dengan *native ligand* 7-methoxy-3,5-bis(oxidanyl)-2-[3,4,5-tris(oxidanyl)phenyl]chromen-4-one dan memiliki nilai resolusi 1,75 Å.

Struktur 3D makromolekul atau reseptor yang telah diunduh dalam format (.pdb) kemudian dipreparasi menggunakan *software Autodock Tools*. Proses preparasi ini dilakukan untuk memisahkan reseptor dengan *native ligand* nya, menghilangkan molekul air serta residu yang bertujuan agar proses *docking* tidak terganggu sehingga didapatkan hasil preparasi berupa reseptor murni dan *native ligand* yang disimpan dalam format file (.pdb). Setelah itu, kemudian dilakukan proses preparasi selanjutnya menggunakan *software Autodock Tools* terhadap reseptor murni dengan melakukan penambahan muatan *kollman* dan atom hidrogen polar yang bertujuan untuk menyesuaikan dengan suasana lingkungan *docking*

sehingga dapat dilakukan perhitungan dengan akurat.(Fatimah *et al.*, 2020) Sedangkan pada ligand dilakukan penambahan muatan *gasteiger* dan atom hidrogen serta pengaturan torsi agar sesuai dengan lingkungan *docking*.(Rena, Nurhidayah and Rustan, 2022) Selain itu, pada preparasi ligand dilakukan juga pengaturan *merge non polar* yang bertujuan agar hanya atom H polar saja yang akan berikatan dengan residu protein.(Indah Wulan Sari, Junaidin, 2020) Hasil preparasi disimpan dalam format file (.pdbqt) untuk selanjutnya dilakukan pengaturan *grid box* dan proses *docking*.

Tabel VII. 2 Hasil Preparasi Makromolekul Kompleks

ID PDB	Makromolekul Kompleks	Reseptor	<i>Native Ligand</i>
7SI9			
7RN4			
7NG6			

Tabel VII.2 Lanjutan

ID PDB	Makromolekul Kompleks	Reseptor	<i>Native Ligand</i>
7DPU			

Setelah dilakukan proses preparasi, kemudian dilakukan pengaturan *grid box* yang bertujuan untuk memberikan pilihan alternatif terkait pencarian ligan pada sisi aktif reseptor dengan *grid center* (titik pencarian) terhadap posisi x, y, dan z menggunakan *software Autodock Tools* dan dihasilkan *output* berupa file *grid.txt* yang berisi informasi mengenai *grid box*. Pada reseptor dengan kode ID PDB 7SI9 diatur volume *grid* 28×28×26 dengan *spacing* 0,375 dan *grid-center* posisi x = -10,685, y = 39,899 dan z = -17,503. Reseptor dengan kode ID PDB 7RN4 diatur volume *grid* 32×28×28 dengan *spacing* 0,375 dan *grid-center* posisi x = 10,722, y = 1,757 dan z = 17,289. Pada reseptor dengan kode ID PDB 7NG6 diatur volume *grid* 20×36×24 dengan *spacing* 0,375 dan *grid-center* posisi x = -21,415, y = -8,656 dan z = -8,575. Pada reseptor dengan kode ID PDB 7DPU diatur volume *grid* 18×18×20 dengan *spacing* 0,500 dan *grid-center* posisi x = 14,790, y = 12,203 dan z = 43,118.

The image shows two Notepad windows side-by-side. The left window, titled 'grid - Notepad', contains the following text:
reseptor
spacing 0.375
npts 28 28 26
center -10.685 39.899 -17.503

The right window, titled 'conf - Notepad', contains the following text:
reseptor = reseptor.pdbqt
ligand = ligand.pdbqt

center_x = -10.685
center_y = 39.898
center_z = -17.503

size_x = 28
size_y = 28
size_z = 26

num_modes = 10
exhaustiveness = 16

out = hasil.pdbqt
log = log.txt

Gambar VII. 5 Grid-box dan file conf.txt pada reseptor ID PDB 7SI9

The image shows two Notepad windows side-by-side. The left window, titled 'grid - Notepad', contains the following text:
reseptor
spacing 0.375
npts 32 28 28
center 10.722 -1.757 17.289

The right window, titled 'conf - Notepad', contains the following text:
reseptor = reseptor.pdbqt
ligand = ligand.pdbqt

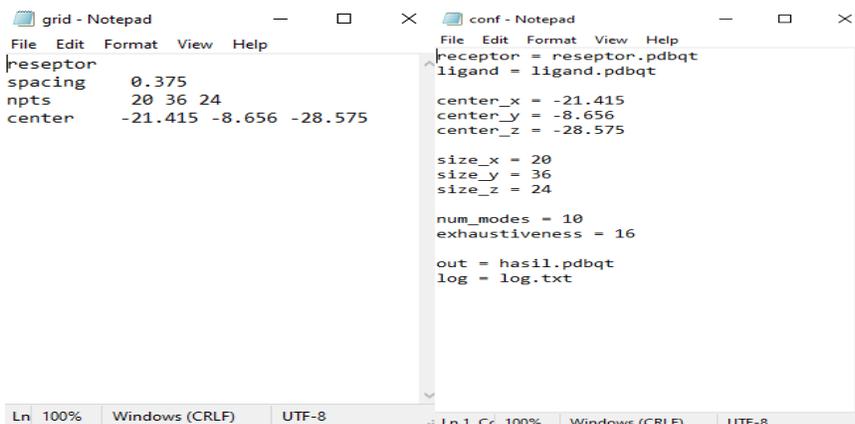
center_x = 10.722
center_y = -1.757
center_z = 17.289

size_x = 32
size_y = 28
size_z = 28

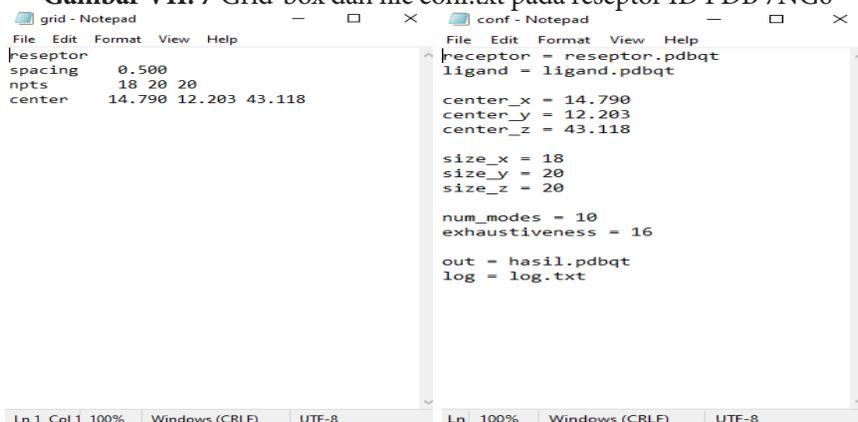
num_modes = 10
exhaustiveness = 16

out = hasil.pdbqt
log = log.txt

Gambar VII. 6 Grid-box dan file conf.txt pada reseptor ID PDB 7RN4



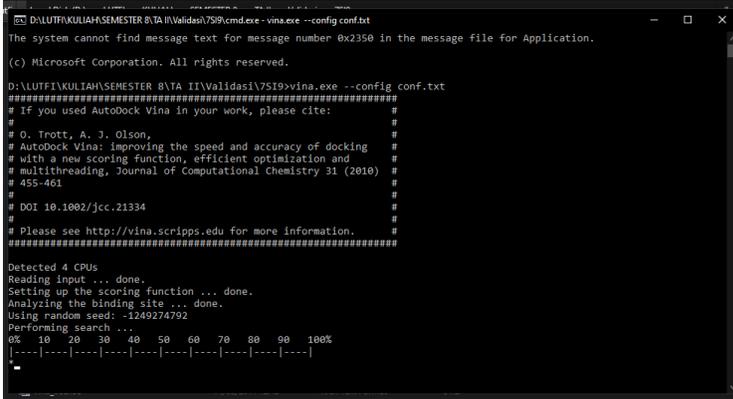
Gambar VII. 7 Grid-box dan file conf.txt pada reseptor ID PDB 7NG6



Gambar VII. 8 Grid-box dan file conf.txt pada reseptor ID PDB 7DPU

Selain itu, dilakukan juga pembuatan file conf.txt yang di dalamnya berisi informasi mengenai nama file reseptor dan ligand hasil preparasi, ukuran *grid box*, nama file hasil *output docking* yang akan tersimpan dalam format file (.pdbqt) dan (.txt), serta parameter untuk proses *docking* yang meliputi nilai *number of modes* untuk menentukan jumlah konformasi yang diinginkan dalam satu kali proses *running* dan *exhaustiveness* yang berpengaruh terhadap keakuratan dari proses *docking* dengan nilai yang dicantumkan berupa kelipatan 8. Semakin besar nilai *exhaustiveness* maka semakin akurat. Pembuatan file config.txt bertujuan untuk membuat

proses *docking* menggunakan *software Autodock Vina* dapat berjalan dan terbaca oleh cmd (*command prompt*). Disiapkan juga file lain seperti *vina_licence*, *vina_split* dan *vina.exe* dimana semua file dibuat menjadi satu folder khusus sebelum proses validasi metode *docking* dilakukan.



```
D:\LUTFI\KULIAH\SEMESTER 8\TA II\Validasi\7S19\cmd.exe - vina.exe --config conf.txt
The system cannot find message text for message number 0x2350 in the message file for Application.
(c) Microsoft Corporation. All rights reserved.
D:\LUTFI\KULIAH\SEMESTER 8\TA II\Validasi\7S19\vina.exe --config conf.txt
#####
# If you used AutoDock Vina in your work, please cite:
#
# O. Trott, A. J. Olson,
# AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking
# with a new scoring function, efficient optimization and
# multithreading, Journal of Computational Chemistry 31 (2010)
# 455-461
# DOI 10.1002/jcc.21334
# Please see http://vina.scripps.edu for more information.
#####
Detected 4 CPUs
Reading input ... done.
Setting up the scoring function ... done.
Analyzing the binding site ... done.
Using random seeds: -1249274792
Performing search ...
0% 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100%
|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
```

Gambar VII. 9 Tampilan proses *running* validasi metode *docking* menggunakan *autodock vina*

Proses validasi metode *docking* (*re-docking*) dilakukan dengan cara menambatkan kembali antara reseptor dengan *native ligand* hasil preparasi makromolekul. Validasi metode ini bertujuan untuk memastikan bahwa metode yang digunakan sudah memenuhi persyaratan. Validasi *docking* dikatakan valid jika nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*) $< 2 \text{ \AA}$ yang menunjukkan bahwa parameter *docking* yang digunakan telah valid sehingga metode *docking* dapat digunakan untuk *docking* senyawa uji. (Muchtaridi *et al.*, 2018) Nilai RMSD menunjukkan besarnya tingkat penyimpangan antara struktur konformasi hasil *docking* dengan ligand asli hasil kristalografi dalam *binding site* yang sama. Nilai RMSD yang besar menunjukkan besarnya tingkat penyimpangan yang terjadi dan berpengaruh terhadap semakin besarnya juga tingkat kesalahan dalam prediksi interaksi antara protein dengan ligand. Semakin kecil nilai RMSD yang didapatkan, menunjukkan bahwa semakin kecil pula tingkat penyimpangan dan tingkat kesalahan dalam prediksi interaksi antara protein dan ligand dengan dihasilkannya konformasi yang semakin baik

karena posisi ligand hasil *redocking* yang mendekati posisi ligand asli hasil kristalografi. (Dewi, 2019)

Validasi metode *docking* dapat dilakukan setelah semua file yang diperlukan siap, dengan melakukan pemanggilan *software AutoDock Vina* dalam cmd (*command prompt*) dengan mengetikkan perintah “vina.exe — config config.txt” lalu menekan tombol *enter* sehingga akan terjadi proses *docking* secara otomatis pada sistem *command prompt* sesuai dengan parameter yang sebelumnya sudah tersimpan pada file config.txt. *Output* hasil *docking* akan tersimpan dalam file log.txt. dan file hasil.pdbqt yang tersimpan dalam folder khusus untuk setiap reseptor.



```
log - Notepad
File Edit Format View Help
#####
# If you used AutoDock Vina in your work, please cite:
#
# O. Trott, A. J. Olson,
# AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking
# with a new scoring function, efficient optimization and
# multithreading, Journal of Computational Chemistry 31 (2010)
# 455-461
# DOI 10.1002/jcc.21334
# Please see http://vina.scripps.edu for more information.
#####
Detected 4 CPUs
Reading input ... done.
Setting up the scoring function ... done.
Analyzing the binding site ... done.
Using random seed: -1476464880
Performing search ... done.
Refining results ... done.

mode | affinity | dist from best mode
      | (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----|-----|-----|-----
1     | -8.3      | 0.000    | 0.000
2     | -8.0      | 1.158    | 1.503
3     | -7.5      | 3.316    | 2.776
4     | -7.5      | 2.027    | 2.804
5     | -7.5      | 1.535    | 2.917
6     | -7.4      | 3.255    | 5.725
7     | -7.3      | 4.442    | 8.522
8     | -7.0      | 2.961    | 5.853
9     | -6.9      | 3.079    | 5.004
10    | -6.8      | 4.344    | 7.786
Writing output ... done.
```

Gambar VII. 10 Hasil running validasi metode docking ID PDB 7SI9



```
log - Notepad
File Edit Format View Help
#####
# If you used AutoDock Vina in your work, please cite:
#
# O. Trott, A. J. Olson,
# AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking
# with a new scoring function, efficient optimization and
# multithreading, Journal of Computational Chemistry 31 (2010)
# 455-461
# DOI 10.1002/jcc.21334
# Please see http://vina.scripps.edu for more information.
#####
Detected 4 CPUs
Reading input ... done.
Setting up the scoring function ... done.
Analyzing the binding site ... done.
Using random seed: -1935803880
Performing search ... done.
Refining results ... done.

mode | affinity | dist from best mode
      | (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----|-----|-----|-----
1     | -6.0      | 0.000    | 0.000
2     | -5.9      | 2.383    | 6.005
3     | -5.9      | 2.127    | 5.282
4     | -5.8      | 2.160    | 4.988
5     | -5.8      | 1.617    | 8.529
6     | -5.8      | 1.427    | 1.768
7     | -5.7      | 2.230    | 7.743
8     | -5.7      | 2.244    | 7.528
9     | -5.6      | 2.273    | 8.028
10    | -5.6      | 2.029    | 4.799
Writing output ... done.
```

Gambar VII. 11 Hasil running validasi metode docking ID PDB 7RN4

```

log - Notepad
File Edit Format View Help
=====
# If you used AutoDock Vina in your work, please cite:
#
# O. Trott, A. J. Olson,
# AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking
# with a new scoring function, efficient optimization and
# multithreading, Journal of Computational Chemistry 31 (2010)
# 455-461
# DOI 10.1002/jcc.21334
# Please see http://vina.scripps.edu for more information.
=====
Detected 4 CPUs
Reading input ... done.
Setting up the scoring function ... done.
Analyzing the binding site ... done.
Using random seed: 1935803898
Performing search ... done.
Refining results ... done.

mode | affinity | dist from best mode
      | (kcal/mol) | resd l.b. | resd u.b.
-----|-----|-----|-----
1      -6.0      0.000      0.000
2      -5.9      2.383      6.685
3      -5.9      2.127      5.282
4      -5.8      2.160      4.908
5      -5.8      1.617      8.529
6      -5.8      1.427      3.768
7      -5.7      2.230      7.743
8      -5.7      2.244      7.528
9      -5.6      2.273      8.028
10     -5.6      2.029      4.799
Writing output ... done.
Ln 1, Col 1      100% Windows (CRLF) UTF-8

```

Gambar VII. 12 Hasil running validasi metode docking ID PDB 7NG6

```

log - Notepad
File Edit Format View Help
=====
# If you used AutoDock Vina in your work, please cite:
#
# O. Trott, A. J. Olson,
# AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking
# with a new scoring function, efficient optimization and
# multithreading, Journal of Computational Chemistry 31 (2010)
# 455-461
# DOI 10.1002/jcc.21334
# Please see http://vina.scripps.edu for more information.
=====
Detected 4 CPUs
Reading input ... done.
Setting up the scoring function ... done.
Analyzing the binding site ... done.
Using random seed: 1000519032
Performing search ... done.
Refining results ... done.

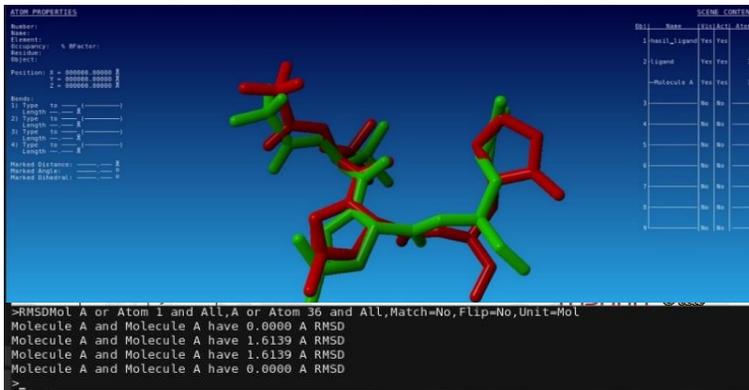
mode | affinity | dist from best mode
      | (kcal/mol) | resd l.b. | resd u.b.
-----|-----|-----|-----
1      -7.8      0.000      0.000
2      -7.6      0.160      1.691
3      -6.9      1.337      1.489
4      -6.7      2.284      8.169
5      -6.6      1.717      3.886
6      -6.6      2.540      4.359
7      -6.5      4.245      7.622
8      -6.5      2.271      4.566
9      -6.5      4.219      7.849
10     -6.5      2.329      7.255
Writing output ... done.
Ln 19, Col 30   100% Windows (CRLF) UTF-8

```

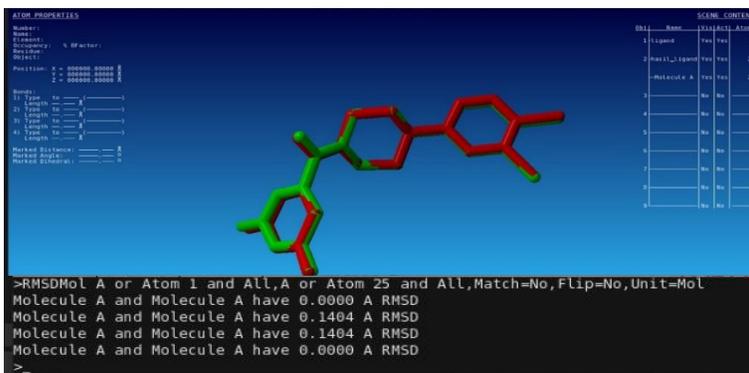
Gambar VII. 13 Hasil running validasi metode docking ID PDB 7DPD

Hasil validasi yang dilakukan menggunakan *software Autodock Vina* menghasilkan *output* akhir berupa nilai energi bebas gibbs (ΔG) yang menggambarkan prediksi reaksi yang terjadi, apakah reaksi tersebut dapat berjalan secara spontan atau tidak. Nilai $\Delta G < 0$ menunjukkan reaksi berlangsung secara spontan, $\Delta G = 0$ menandakan bahwa reaksi berada dalam kesetimbangan, dan jika nilai $\Delta G > 0$ menunjukkan bahwa reaksi berjalan secara tidak spontan. (Putra, Fauzana and Lucida, 2020) Oleh

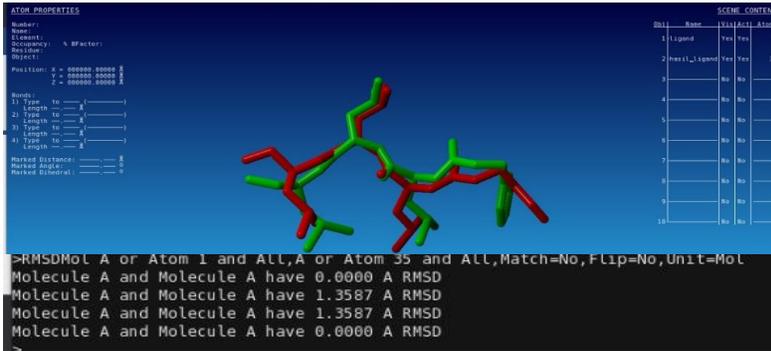
karena itu, perlu dilakukan analisis lebih lanjut terhadap hasil *output* tersebut untuk menganalisis nilai RMSD sebagai parameter proses validasi metode *docking*. Nilai RMSD didapatkan dari hasil jarak penyimpangan yang dihitung dalam posisi tumpang tindih antara ligand hasil sebelum dan sesudah proses *redocking*. Hasil posisi tumpang tindih yang semakin mirip antara ligand sebelum dan sesudah proses *redocking* menunjukkan bahwa semakin valid metode *docking* yang digunakan. Dalam penelitian ini, nilai RMSD dianalisis menggunakan *software* YASARA dengan cara menginput *native* ligand sebelum *didocking* kan dalam format (.pdbqt) dengan ligan hasil *docking* pada konformasi ligan terbaik yang memiliki nilai afinitas (ΔG) paling rendah dengan format (.pdbqt).



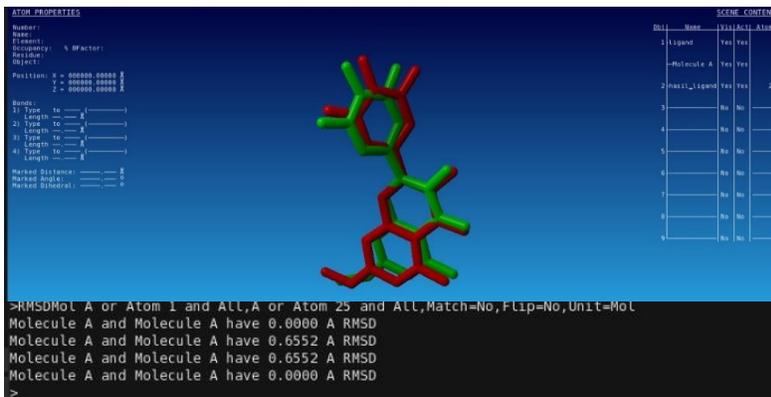
Gambar VII. 14 Visualisasi tumpang tindih hasil validasi metode docking dan nilai RMSD ID PDB 7SI9



Gambar VII. 15 Visualisasi validasi metode docking dan nilai RMSD 7RN4



Gambar VII. 16 Visualisasi validasi metode docking dan nilai RMSD 7NG6



Gambar VII. 17 Visualisasi validasi metode docking dan nilai RMSD 7DPU

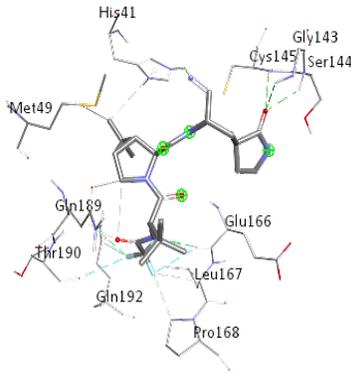
Berdasarkan hasil validasi metode *docking* yang sudah dilakukan terhadap makromolekul yang digunakan, menunjukkan hasil bahwa metode *docking* dinyatakan valid karena nilai RMSD <2 Å dimana hasil tersebut telah memenuhi persyaratan dalam parameter validasi metode *docking*. Makromolekul dengan ID PDB 7SI9 menunjukkan hasil nilai RMSD 1,6139 Å dan nilai ΔG -8,3 kkal/mol. Makromolekul 7RN4 memiliki nilai RMSD 0,1404 Å dan nilai ΔG sebesar -7,3 kkal/mol. Makromolekul dengan ID PDB 7NG6 memiliki nilai RMSD 1,3587 Å dengan nilai ΔG sebesar -6,0 kkal/mol Makromolekul dengan ID PDB 7DPU memiliki nilai RMSD 0,6552 Å dan ΔG sebesar -7,8 kkal/mol. Hasil analisis nilai RMSD yang sudah dilakukan menunjukkan hasil bahwa posisi tumpang

tindih pada masing-masing ligand sebelum dan sesudah proses *redocking* tidak memperlihatkan perbedaan posisi yang signifikan.

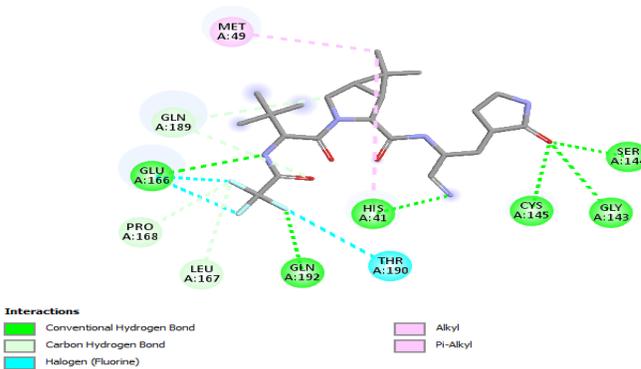
Hasil validasi metode *docking* terhadap keempat makromolekul, selain dilakukan analisis nilai ΔG dan RMSD, dilakukan juga visualisasi residu asam amino dan analisis interaksi ikatan kimia menggunakan *software Discovery Studio Visualizer*.

Tabel VII. 3 Hasil Molecular Docking Native Ligand Terhadap Reseptor Pada Validasi Metode Menggunakan Autodock Vina

ID PDB	Native Ligand	Nilai RMSD	ΔG (kkal/mol)
7SI9	(1R,2S,5S)-N-[(1E,2S)-1-imino-3-[(3S)-2-oxopyrrolidin-3-yl]propan-2-yl]-6,6-dimethyl-3-[3-methyl-N-(trifluoroacetyl)-L-valyl]-3-azabicyclo[3.1.0]hexane-2-carboxamide	1,6139 Å	-8,3
7RN4	6-[4-(3,4-dichlorophenyl)piperidine-1-carbonyl]pyrimidine-1(2,4H,3H)-dione	0,1404 Å	-7,3
7NG6	N-[(benzyloxy)carbonyl]-L-leucyl-N-[(2S)-1-hydroxy-4-methylpentan-2-yl]-L-leucinamide	1,3587 Å	-6,0
7DPU	7-methoxy-3,5-bis(oxidanyl)-2-[3,4,5-tris(oxidanyl)phenyl]chromen-4-one	0,6552 Å	-7,8



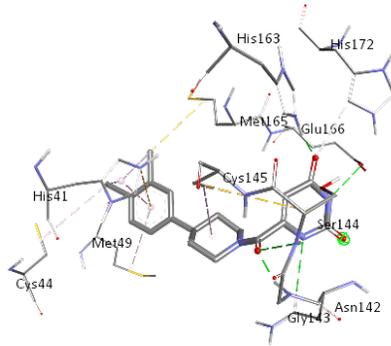
Gambar VII. 18 Visualisasi struktur 3D residu asam amino serta interaksi ikatan kimia pada penambatan native ligand terhadap reseptor ID PDB 7SI9



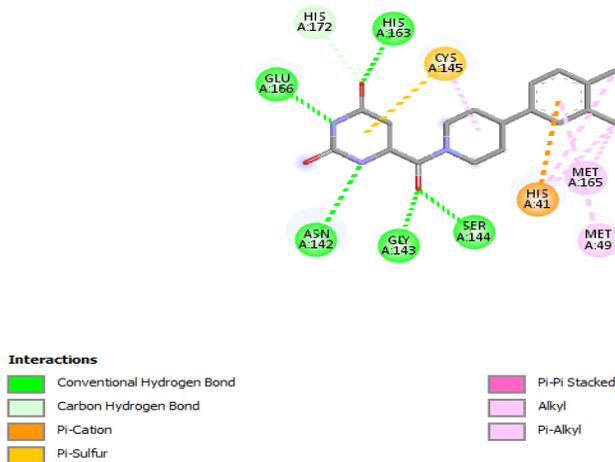
Gambar VII. 19 Visualisasi struktur 2D residu asam amino serta interaksi ikatan kimia pada penambatan native ligand terhadap reseptor ID PDB 7SI9

Interaksi ikatan kimia dan residu asam amino yang dihasilkan pada *native ligand* (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*E*,2*S*)-1-*imino*-3-[(3*S*)-2-oxopyrrolidin-3-yl]propan-2-yl}-6,6-dimethyl-3-[3-methyl*N*(trifluoroacetyl)-*L*-valyl]-3 azabicyclo[3.1.0]hexane-2-carboxamide yang ditambatkan terhadap

reseptor ID PDB 7SI9 yaitu ikatan hidrogen konvensional (SER 144, GLY 143, CYS 145, HIS 41, GLN 192, GLU 166), ikatan hidrogen karbon (GLN 189, PRO 168, LEU 167), ikatan halogen (THR 190), dan interaksi hidrofobik yang meliputi ikatan Pi-alkyl serta ikatan Alkyl (MET 49, HIS 41).

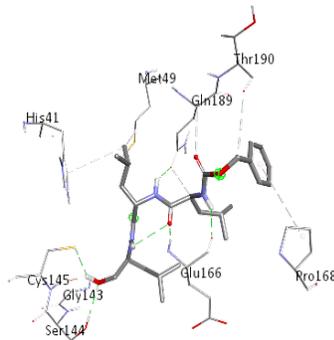


Gambar VII. 20 Visualisasi struktur 2D residu asam amino serta interaksi ikatan kimia pada penambatan native ligand terhadap reseptor ID PDB 7RN4

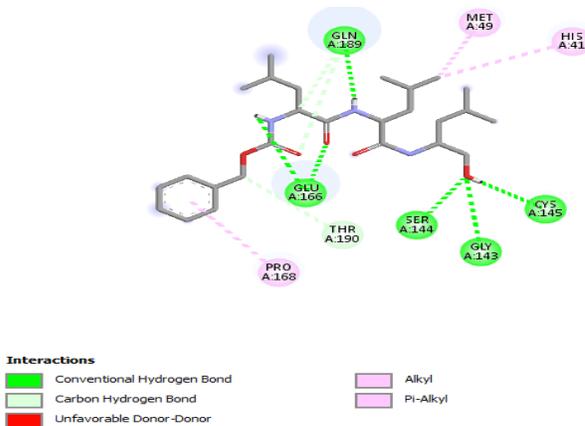


Gambar VII. 21 Visualisasi struktur 2D residu asam amino serta interaksi ikatan kimia pada penambatan native ligand terhadap reseptor ID PDB 7RN4

Pada penambatan *native ligand* 6-[4-(3,4-dichlorophenyl)piperidine-1-carbonyl]pyrimidine-2,4(1H,3H)-dione terhadap reseptor ID PDB 7RN4 menghasilkan interaksi ikatan kimia dan residu asam amino meliputi interaksi hidrofobik meliputi ikatan hydrogen konvensional (SER 144, GLY 143, ASN 142, GLU 166, HIS 163), ikatan hydrogen karbon (HIS 172), ikatan Pi-cation (HIS41), ikatan Pi-sulfur (CYS 145), ikatan Pi-alkyl (MET 165, CYS 44) dan alkyl (MET 49).

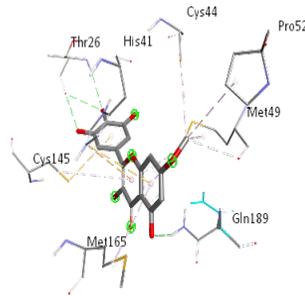


Gambar VII. 22 Visualisasi struktur 3D residu asam amino serta interaksi ikatan kimia pada penambatan *native ligand* terhadap reseptor ID PDB 7NG6

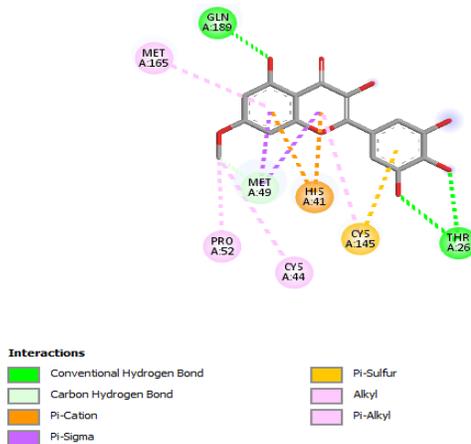


Gambar VII. 23 Visualisasi struktur 2D residu asam amino serta interaksi ikatan kimia pada penambatan *native ligand* terhadap reseptor ID PDB 7NG6

Interaksi ikatan kimia dan residu asam amino yang dihasilkan pada *native ligand N-[(benzyloxy)carbonyl]-L-leucyl-N-[(2S)-1-hydroxy-4-methylpentan-2-yl]-L-leucinamide* yang ditambatkan terhadap reseptor ID PDB 7NG6 yaitu ikatan hidrogen konvensional (CYS 145, GLY 143, SER 144, GLU 166, GLN 189), ikatan hidrogen karbon (THR 190), dan interaksi hidrofobik yang meliputi ikatan Pi-alkyl (PRO 168) serta Alkyl (HIS 41, MET 49).



Gambar VII. 24 Visualisasi struktur 3D residu asam amino serta interaksi ikatan kimia pada penambatan *native ligand* terhadap reseptor ID PDB 7DPU



Gambar VII. 25 Visualisasi struktur 2D residu asam amino serta interaksi ikatan kimia pada penambatan *native ligand* terhadap reseptor ID PDB 7DPU

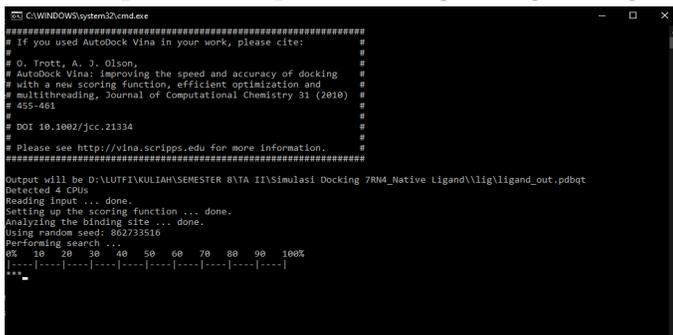
Interaksi ikatan kimia dan residu asam amino yang dihasilkan pada *native ligand 7-methoxy-3,5-bis(oxidanyl)-2-[3,4,5-tris(oxidanyl)phenyl]chromen-4-one* yang ditambatkan terhadap reseptor ID PDB 7DPU yaitu ikatan hidrogen konvensional (GLN 189, THR 26), ikatan hidrogen karbon (MET 49), Pi-cation (HIS 41), Pi-Sigma (MET 49), Pi-Sulfur (CYS 145), Pi-alkyl (MET 165) dan alkyl (PRO 52, CYS 44).

Mengist *et al.*, (2021) melalui hasil *review* yang menjelaskan tentang dasar struktural inhibitor potensial yang menargetkan *main protease* SARS-CoV-2, disebutkan bahwa terdapat beberapa jenis residu asam amino dari *main protease* SARS-CoV-2 yang potensial dan menarik sebagai *active site* (situs aktif) pengikatan dengan berbagai interaksi ikatan kimia yaitu CYS 145, PRO 168, MET 49, LEU 141, GLY 143, SER 144, HIS 41, GLU 166, THR 26, GLN 189, ARG 188, MET 165, THR 24, dan ASN 142. (Mengist, Dilnessa and Jin, 2021) Visualisasi residu asam amino dan analisis interaksi ikatan kimia terhadap hasil validasi dari keempat reseptor yang sudah dilakukan, menunjukkan terdapat berbagai kesamaan hasil bahwa seluruh residu asam amino yang disebutkan dalam hasil *review* Mengist *et al.*, (2021) terdapat dalam hasil visualisasi pada validasi terhadap keempat reseptor yang sudah dilakukan dengan berbagai ikatan kimia dan interaksi yang berbeda.

Tahapan selanjutnya setelah metode *docking* dinyatakan valid, yaitu proses penambatan molekuler (*molecular docking*) terhadap senyawa uji dan ligand pembanding menggunakan *software Autodock Vina* secara langsung dalam satu kali pengerjaan (*running*). Pada penelitian ini, digunakan 46 senyawa uji yang merupakan senyawa aktif dari tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*) dan 2 ligand pembanding berupa obat antivirus oral terbaru yang digunakan untuk COVID-19 yaitu molnupiravir dan nirmatlevir (PF-07321332) + Ritonavir (Paxlovid™). Sebelum dilakukan proses *docking*, senyawa uji dan ligand pembanding terlebih dahulu dilakukan preparasi yang meliputi tahapan optimasi dengan proses *minimized energy* yang bertujuan untuk menstabilkan dan memudahkan susunan ikatan yang terjadi selama proses penambatan

molekuler (*docking*), penambahan atom hidrogen, dan konversi struktur dari dua dimensi menjadi tiga dimensi sehingga dapat meningkatkan ketepatan serta performa dari hasil penambatan molekuler (*docking*). (Hanif, Lukis and Fadlan, 2020) Selanjutnya dilakukan proses protonasi dengan cara mengkondisikan senyawa uji pada pH 7,4 yang disesuaikan dengan pH tubuh. (Ruswanto *et al.*, 2018)

Setelah proses preparasi terhadap senyawa uji dan ligand pembanding dilakukan, disiapkan juga beberapa file yang tersimpan dalam folder khusus untuk proses *docking* senyawa uji, meliputi file reseptor dalam format (.pdbqt) file config.txt, file lig yang berisi ligan uji hasil preparasi dalam format (.pdbqt) yang akan digunakan pada proses *docking*, file vina.exe, dan file vina_run.bat yang berisi perintah untuk melakukan proses *running* pada penambatan molekuler senyawa uji. Proses *running* dimulai dengan mengklik file lig yang diikuti dengan mengklik juga file reseptor dan file vina.batch untuk menjalankan proses *docking* sehingga akan muncul tampilan bahwa proses *running* sedang berlangsung.



```
C:\WINDOWS\system32\cmd.exe
#####
# If you used AutoDock Vina in your work, please cite:
#
# O. Trott, A. J. Olson,
# AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking
# with a new scoring function, efficient optimization and
# multithreading, Journal of Computational Chemistry 31 (2010)
# 455-461
# DOI 10.1002/jcc.21334
#
# Please see http://vina.scripps.edu for more information.
#####
Output will be D:\LUTFIVULIAH\SEMESTER B\TA II\Simulasi Docking 7RM4_Native Ligand\lig\ligand_out.pdbqt
Detected 4 CPUs.
Reading input ... done.
Setting up the scoring function ... done.
Analyzing the binding site ... done.
Using random seed: 80273516
Performing search ...
0% 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100%
|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
***
^
```

Gambar VII. 26 Tampilan proses running docking senyawa uji dan ligand pembanding menggunakan software autodock vina

Proses ini akan berjalan sesuai dengan data yang telah digunakan pada proses validasi. Hasil *docking* otomatis akan tersimpan dalam file lig sesuai dengan format nama ligand uji sebelumnya yang ditandai dengan akhiran nama file (_out) yang memuat nilai ΔG pada setiap posisi penambatan kemudian dilakukan proses analisis hasil *docking* dengan membandingkan nilai ΔG yang didapatkan. Selain itu, dilakukan juga proses visualisasi

menggunakan *software Discovery Studio Visualizer* untuk mengetahui jenis interaksi yang terjadi, serta visualisasi residu asam amino yang berinteraksi.

Parameter hasil *docking* pada *software Autodock Vina* menghasilkan *output* akhir berupa nilai energi bebas gibbs (ΔG) yang menggambarkan prediksi spontanitas terjadinya reaksi. Nilai ΔG berhubungan juga dengan energi afinitas yang menggambarkan terjadinya kekuatan ikatan antara protein dan ligand. Afinitas yang baik ditunjukkan dengan nilai ΔG yang semakin rendah (negatif) sehingga suatu senyawa membutuhkan energi rendah saat terbentuknya ikatan yang menandakan bahwa senyawa tersebut berpotensi lebih besar dalam membentuk ikatan dan bertinteraksi dengan reseptor target. Selain itu, parameter hasil *docking* lainnya yang biasanya digunakan dalam analisis hasil *docking* adalah nilai konstanta inhibisi (k_i), tetapi dalam *software Autodock Vina* tidak dihasilkan nilai konstanta inhibisi (k_i). Konstanta inhibisi (k_i) menunjukkan terkait besarnya konsentrasi yang dibutuhkan ligand dalam menghambat reseptor target. Semakin kecil nilai k_i yang dihasilkan menunjukkan konstanta inhibisi yang baik. Kestabilan interaksi yang terjadi antara reseptor dan ligand berbanding lurus dengan potensi terjadinya pengikatan senyawa, sehingga bisa disebutkan bahwa nilai ΔG dapat memprediksi terkait kemampuan penghambatan (inhibisi) suatu senyawa terhadap reseptor target, sesuai dengan persamaan $k_i = \frac{\Delta G}{eRT}$, dimana R menunjukkan konstanta gas (1,987 cal/mol K) dan T merupakan suhu ruang (298,15K). (Rena, Nurhidayah and Rustan, 2022) Maka, semakin kecil nilai ΔG menunjukkan semakin kecil pula nilai konstanta inhibisinya, sehingga dalam analisis hasil *software Autodock Vina* meskipun tidak dihasilkan nilai k_i tidak akan berpengaruh dalam proses analisis hasil *docking*.

Dalam analisis hasil *docking*, selain memperhatikan parameter nilai ΔG dan konstanta inhibisi (k_i), diperhatikan juga terkait ikatan kimia yang terbentuk terutama ikatan hidrogen dan interaksi residu asam amino dengan ligand. Ikatan hidrogen berperan penting dalam stabilitas struktur protein karena dipengaruhi oleh ikatan hidrogen. Selain

ikatan hidrogen, terdapat jenis ikatan lain yang memiliki peranan penting dalam stabilitas ikatan yaitu interaksi hidrofobik dan *van der waals*. Analisis terkait interaksi residu asam amino berhubungan dengan letak tertambatnya ligand pada reseptor target. Semakin banyak jumlah residu asam amino yang berinteraksi dengan ligand, maka ikatan yang terbentuk antara ligand dengan reseptor target akan semakin kuat.⁶¹ Analisis hasil *docking* dilakukan dengan membandingkan nilai ΔG dan hasil visualisasi residu asam amino meliputi jenis interaksi yang terjadi dan visualisasi residu asam amino yang berinteraksi pada hasil penambatan molekuler (*docking*) senyawa uji dengan hasil penambatan molekuler (*docking*) ligand pembanding serta *native ligand*. Perbandingan tersebut bertujuan untuk mengetahui senyawa terbaik yang berpotensi untuk berikatan dengan reseptor berdasarkan nilai ΔG yang dihasilkan dan kemiripan interaksi yang terjadi. Penambatan molekuler (*molecular docking*) yang sudah dilakukan pada 46 senyawa uji dan ligand pembanding terhadap reseptor *main protease* SARS-CoV-2 dengan kode ID PDB 7SI9, 7RN4, 7NG6, dan 7DPU menunjukkan hasil nilai energi bebas (ΔG) yang negatif sehingga dapat diartikan bahwa proses simulasi penambatan molekuler (*docking*) antara reseptor dengan senyawa uji terjadi secara spontan dan stabil.

Tabel V. 1 Hasil Molecular Docking dan Residu Asam Amino Senyawa Uji Terhadap Reseptor ID PDB 7SI9

Ligand Uji	ΔG (kkal/mol)	Ikatan Hidrogen	Interaksi Hidrofobik	Interaksi Lain
			Pi-alkyl/alkyl	
(1R,2S,5S)-N-[(1E,2S)-1-imino-3-[(3S)-2-oxopyrrolidin-3-yl]propan-2-yl]-6,6-dimethyl-3-[3-methylN(trifluoroacetyl)-L-valyl]-3-azabicyclo[3.1.0]hexane-2-carboxamide	-8,3	SER 144 GLY 143 CYS145 HIS 41 GLN 192 GLU 166 GLN 189 PRO 168 LEU 167	MET49 HIS 41	THR 190 (Halogen)

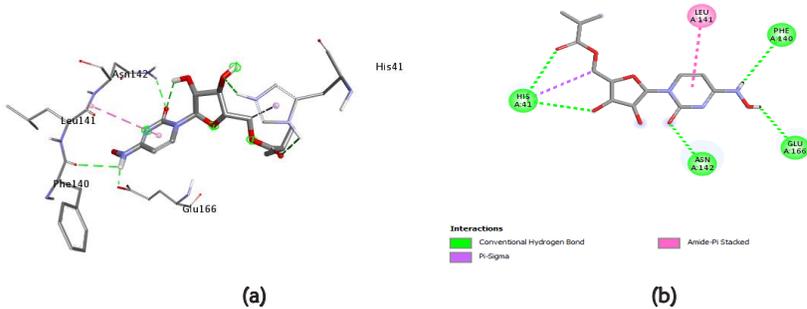
Tabel V. 1 Lanjutan

Ligand Uji	ΔG (kkal/mol)	Ikatan Hidrogen	Interaksi Hidrofobik	Interaksi Lain
			Pi-alkyl/alkyl	
<i>Bisandrographolide C</i>	-10,3	CYS 145 SER 144 GLN 192	MET 165 PRO 168	HIS 41 (Pi-Pi T-shaped)
<i>Bisandrographolide B</i>	-9,5	CYS 145 ASN 142 SER 144 GLY 143 THR 26	MET 165 PRO 168	LEU 141 (Van der Waals) PHE 140 (Amide-Pi Stacked)
<i>Andrographiside</i>	-9,1	HIS 163 LEU 141 SER 144 HIS 172 PHE 140 ASN 142 GLN 192	MET 49 HIS 41	-

Hasil penambatan molekuler (*molecular docking*) yang sudah dilakukan pada 46 senyawa aktif tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap reseptor *main protease* SARS-CoV-2 dengan kode ID PDB 7SI9, dihasilkan tiga senyawa uji terbaik yang memiliki nilai energi bebas (ΔG) paling rendah dibandingkan *native ligand* (1R,2S,5S)-N-((1E,2S)-1-imino-3-[(3S)-2-oxopyrrolidin-3-yl]propan-2-yl)-6,6-dimethyl-3-[3-methylN(trifluoroacetyl)-L-valyl]-3-azabicyclo[3.1.0]hexane-2-carboxamide) dan ligand pembanding molnupiravir yaitu *Bisandrographolide C*, *Bisandrographolide B*, dan *Andrographiside*.

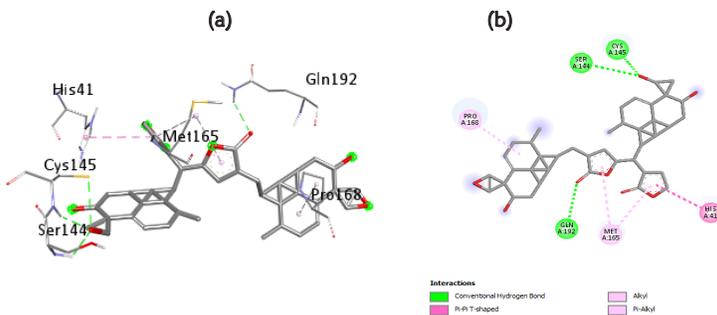
Proses penambatan ligand pembanding pada reseptor ID PDB 7SI9 hanya dilakukan terhadap ligand pembanding molnupiravir saja, dikarenakan nirmatrelvir merupakan *native ligand* reseptor ID PDB 7SI9 sehingga pada reseptor ini *native ligand* dianggap juga sebagai ligand

pembandingan. Hasil *docking* molnupiravir yang ditambatkan terhadap reseptor ID PDB 7SI9 menghasilkan nilai ΔG -7,1 kkal/mol.



Gambar VII. 27 Visualisasi struktur 3D (a) dan 2D (b) residu asam amino serta interaksi ikatan kimia pada penambatan Molnupiravir terhadap reseptor 7SI9

Interaksi ikatan kimia dan residu asam amino yang dihasilkan pada penambatan ligand pembandingan molnupiravir terhadap reseptor ID PDB 7SI9 yaitu ikatan hidrogen konvensional (HIS 41, ASN 142, GLU 166, PHE 140), ikatan Pi-Sigma (HIS 41) dan ikatan Amide-Pi Stacked (LEU 141).

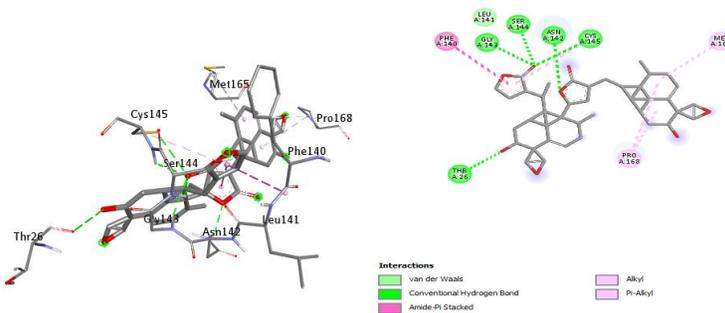


Gambar VII. 28 Visualisasi struktur 3D (a) dan 2D (b) residu asam amino serta interaksi ikatan kimia pada penambatan senyawa Bisandrographolide C terhadap reseptor ID PDB 7SI9

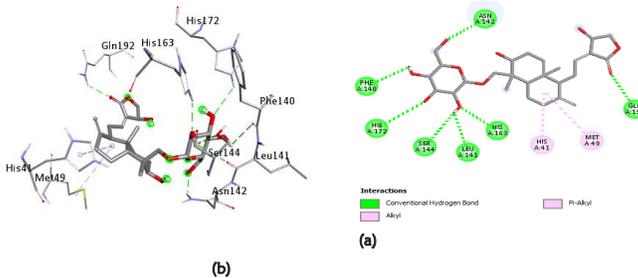
Hasil penambatan senyawa terbaik pertama yaitu *Bisandrographolide C* terhadap reseptor ID PDB 7SI9 menghasilkan nilai ΔG sebesar -10,3 kkal/mol yang membentuk interaksi ikatan kimia dan residu asam amino

dengan model ikatan yaitu hidrogen konvensional (CYS 145, SER 144, GLN 192), interaksi hidrofobik yang terdiri dari alkyl dan Pi-alkyl (MET 165, PRO 168), serta Pi-Pi T-shaped (HIS 41).

Hasil penambatan senyawa terbaik kedua yaitu *Bisandrographolide B* terhadap reseptor ID PDB 7SI9 menghasilkan nilai ΔG sebesar -9,5 kkal/mol. Interaksi ikatan kimia dan residu asam amino yang terbentuk yaitu ikatan hidrogen konvensional (CYS 145, ASN 142, SER 144, GLY 143, THR 26), ikatan *Van der Waals* (LEU 141), interaksi hidrofobik yang terdiri dari alkyl dan Pi-alkyl (MET 165, PRO 168), dan Amide-Pi Stacked (PHE 140).



Gambar VII. 29 Visualisasi struktur 3D (a) dan 2D (b) residu asam amino serta interaksi ikatan kimia pada penambatan senyawa *Bisandrographolide B* terhadap reseptor ID PDB 7SI9



Gambar VII. 30 Visualisasi struktur 3D (a) dan 2D (b) residu asam amino serta interaksi ikatan kimia pada penambatan senyawa *Andrographiside* terhadap reseptor ID PDB 7SI9

Hasil penambatan senyawa terbaik ketiga yaitu *Andrographiside* terhadap reseptor ID PDB 7SI9 menghasilkan nilai ΔG sebesar -9,1 kkal/mol dengan membentuk interaksi ikatan kimia dan residu asam amino

dengan model ikatan hidrogen konvensional (HIS 163, LEU 141, SER 144, HIS 172, PHE 140, ASN 142, GLN 192), dan interaksi hidrofobik yang terdiri dari alkyl dan Pi-alkyl (HIS 41, MET 49).

Terdapat kesamaan residu asam amino yang terbentuk antara senyawa uji dengan *native ligand* dan ligand pembanding yaitu pada senyawa *Bisandrographolide C* terdapat kesamaan pada asam amino CYS 145, SER 144, GLN 192, PRO 168, HIS 41. Pada senyawa *bisandrographolide B* terdapat kesamaan pada asam amino CYS 145, ASN 142, LEU 141, SER 144, GLY 143. Untuk, senyawa *Andrographiside* memiliki kesamaan pada residu asam amino LEU 141, SER 144, GLN 192, HIS 41, MET 49. Kesamaan residu asam amino yang terbentuk antara senyawa uji dengan *native ligand* dan ligand pembanding terjadi pada berbagai interaksi ikatan kimia.

Penambatan molekuler (*molecular docking*) yang sudah dilakukan pada 46 senyawa aktif tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap reseptor *main protease* SARS-CoV-2 dengan kode ID PDB 7RN4, dihasilkan tiga senyawa uji terbaik yang memiliki nilai energi bebas (ΔG) paling rendah dibandingkan *native ligand* 6-[4-(3,4-dichlorophenyl)piperidine-1-carbonyl]pyrimidine-2,4(1H,3H)-dione dan ligand pembanding nirmatrelvir serta molnupiravir yaitu *Bisandrographolide C*, *Bisandrographolide B*, dan *14-Deoxy-11-oxoandrographolide*.

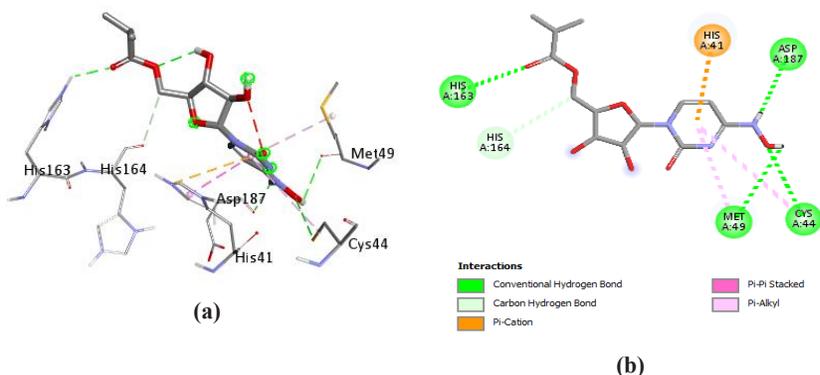
Tabel VII. 4 Hasil Molecular Docking dan Residu Asam Amino Senyawa Uji Terhadap Reseptor ID PDB 7RN4

Ligand Uji	ΔG (kkal/mol)	Ikatan Hidrogen	Interaksi Hidrofobik	Interaksi Lain
			Pi-alkyl/alkyl	
6-[4-(3,4-dichlorophenyl)piperidine-1-carbonyl]pyrimidine-2,4(1H,3H)-dione	-7,3	SER 144 GLY 143 ASN 142 GLU 166 HIS 163 HIS 172	CYS 44 MET 49 MET 165	HIS 41 (Pi-cation) CYS 145 (Pi-sulfur)

Tabel VII. 4 Lanjutan

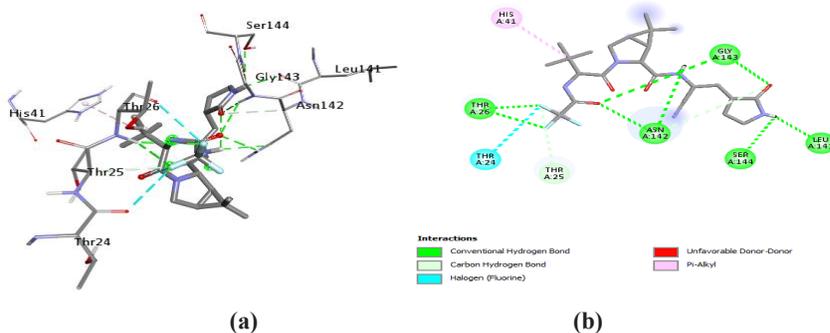
Ligand Uji	ΔG (kkal/mol)	Ikatan Hidrogen	Interaksi Hidrofobik	Interaksi Lain
			Pi-alkyl/alkyl	
Nirmatrelvir	-6,1	SER 144 LEU 141 GLY 143 ASN 142 THR 26 THR 25	HIS 41	THR 24 (Halogen)
<i>Bisandrographolide C</i>	-10,8	GLN189 ASP 187 ARG 188	HIS 41 CYS 44	MET 49 (Pi-sulfur)
<i>Bisandrographolide B</i>	-9,8	CYS 44 GLU 166 HIS 172	MET 49 CYS 145	MET 165 (Amide-Pi-stacked) HIS 41 (Pi-sigma)
<i>14-Deoxy-11-oxondrographolide</i>	-9,3	CYS 44 HIS 163 CYS 145 ASP 187 ASN 142	HIS 41 MET 49	CYS 145 (Pi-sulfur)

Hasil *docking* pada ligand pembanding molnupiravir dan nirmatrelvir yang ditambahkan terhadap reseptor ID PDB 7RN4, molnupiravir menghasilkan nilai ΔG sebesar -7,2 kkal/mol dan nirmatrelvir memiliki nilai ΔG sebesar -6,1 kkal/mol .



Gambar VII. 31 Visualisasi struktur 3D (a) dan 2D (b) residu asam amino serta interaksi ikatan kimia pada penambatan Molnupiravir terhadap reseptor ID PDB 7RN4

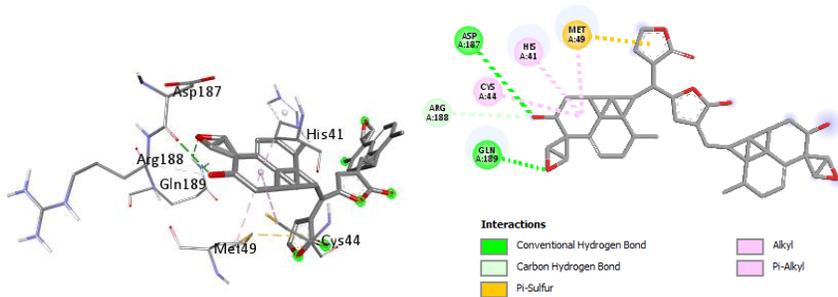
Interaksi ikatan kimia dan residu asam amino yang dihasilkan pada penambatan ligand pembanding molnupiravir terhadap reseptor ID PDB 7RN4 yaitu ikatan hidrogen konvensional (CYS 44, MET 49, ASP 187, HIS 163), ikatan hidrogen karbon (HIS 164), interaksi hidrofobik meliputi Pi-alkyl (MET 49, CYS 44), dan ikatan Pi-Cation (HIS 41).



Gambar VII. 32 Visualisasi struktur 3D (a) dan 2D (b) residu asam amino serta interaksi ikatan kimia pada penambatan Nirmatrelvir terhadap reseptor ID PDB 7RN4

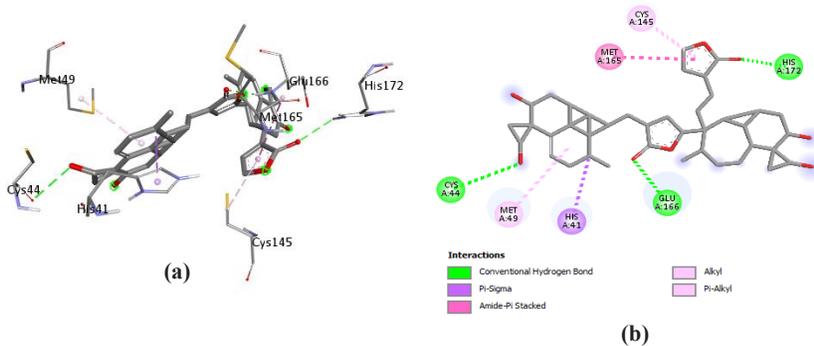
Interaksi ikatan kimia dan residu asam amino yang terbentuk pada penambatan ligand pembanding nirmatrelvir terhadap reseptor ID PDB 7RN4 yaitu ikatan hidrogen konvensional (SER 144, LEU 141, GLY 143,

ASN 142, THR 26), ikatan hidrogen karbon (THR 25), halogen (THR 24), dan Pi-alkyl (HIS 41).



Gambar VII. 33 Visualisasi struktur 3D (a) dan 2D (b) residu asam amino serta interaksi ikatan kimia pada penambatan senyawa Bisandrographolide C terhadap reseptor ID PDB 7RN4

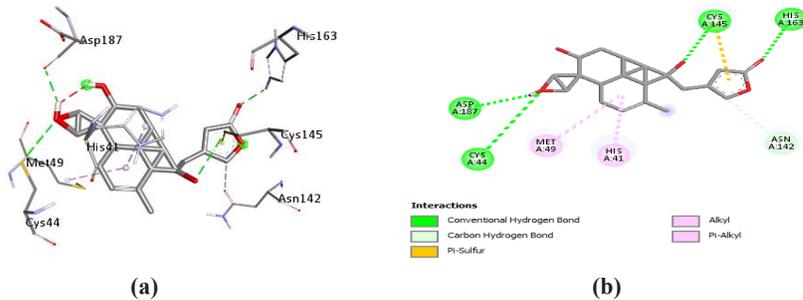
Pada senyawa terbaik pertama yaitu *Bisandrographolide C* yang ditambatkan terhadap reseptor ID PDB 7RN4 menghasilkan nilai ΔG sebesar -10,8 kkal/mol. Interaksi ikatan kimia dan residu asam amino yang terbentuk yaitu ikatan hidrogen konvensional (GLN 189, ASP 187), ikatan hidrogen karbon (ARG 188), interaksi hidrofobik meliputi alkyl dan Pi-alkyl (HIS 41, CYS 44), dan Pi-sulfur (MET 49).



Gambar VII. 34 Visualisasi struktur 3D (a) dan 2D (b) residu asam amino serta interaksi ikatan kimia pada penambatan senyawa Bisandrographolide B terhadap reseptor ID PDB 7RN4

Hasil penambatan senyawa terbaik kedua yaitu *Bisandrographolide B* terhadap reseptor ID PDB 7RN4 menghasilkan nilai ΔG sebesar -9,8

kkal/mol yang membentuk interaksi ikatan kimia dan residu asam amino dengan model ikatan hidrogen konvensional (CYS 44, GLU 166, HIS 172), interaksi hidrofobik meliputi alkyl dan Pi-alkyl (MET 49, CYS 145), Pi-sigma (HIS 41), dan Amide-Pi-stacked (MET 165).



Gambar VII. 35 Visualisasi struktur 3D (a) dan 2D (b) residu asam amino serta interaksi ikatan kimia pada penambatan senyawa 14-Deoxy-11-oxoandrographolide terhadap reseptor ID PDB 7RN4

Senyawa terbaik ketiga yaitu *14-Deoxy-11-oxoandrographolide* yang ditambatkan terhadap reseptor ID PDB 7RN4 menghasilkan nilai ΔG sebesar -9,3 kkal/mol dengan membentuk interaksi ikatan kimia dan residu asam amino dengan model ikatan hidrogen konvensional (HIS 163, CYS 145, ASP 187, CYS 44), ikatan hidrogen karbon (ASN 142), interaksi hidrofobik meliputi alkyl dan Pi-alkyl (HIS 41, MET 49), dan Pi-sulfur (CYS 145).

Residu asam amino yang terbentuk antara senyawa uji dengan *native ligand* dan ligand pembanding yaitu terdapat kesamaan, pada senyawa *Bisandrographolide C* terdapat kesamaan pada asam amino ASP 187, HIS 41, CYS 44, MET 49. Pada senyawa *bisandrographolide B* terdapat kesamaan pada asam amino CYS 44, GLU 166, HIS 172, MET 49, MET 165, HIS 41. Sedangkan, pada senyawa *14-Deoxy-11-oxoandrographolide* memiliki kesamaan pada residu asam amino CYS 44, HIS 163, ASP 187, ASN 142, HIS 41, MET 49. Kesamaan residu asam amino yang terbentuk antara senyawa uji dengan *native ligand* dan ligand pembanding terjadi pada berbagai interaksi ikatan kimia.

Hasil penambatan molekuler (*molecular docking*) yang sudah dilakukan pada 46 senyawa aktif tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap reseptor *main protease* SARS-CoV-2 dengan kode ID PDB 7NG6, dihasilkan tiga senyawa uji terbaik yang memiliki nilai energi bebas (ΔG) paling rendah dibandingkan *native ligand* *N-[(benzyloxy)carbonyl]-L-leucyl-N-[(2S)-1-hydroxy-4-methylpentan-2-yl]-L-leucinamide* dan ligand pembanding nirmatrelvir serta molnupiravir yaitu *Bisandrographolide C*, *Bisandrographolide B*, dan *14-Deoxy-11-oxoandrographolide*.

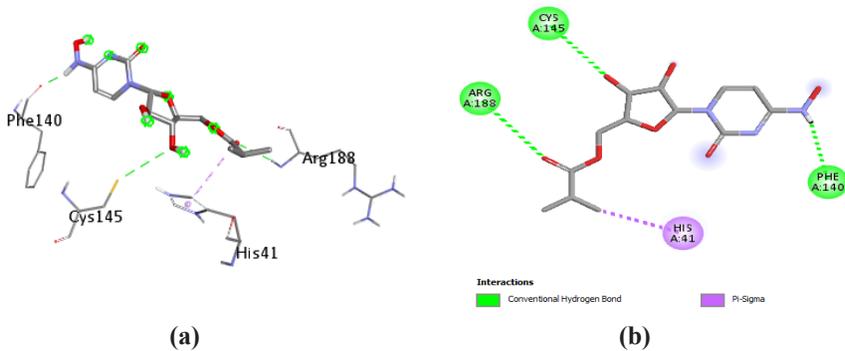
Tabel VII. 5 Hasil Molecular Docking dan Residu Asam Amino Senyawa Uji Terhadap Reseptor ID PDB 7NG6

Ligand Uji	ΔG (kcal/mol)	Ikatan Hidrogen	Interaksi Hidrofobik	Interaksi Lain
			Pi-alkyl/alkyl	
<i>N-[(benzyloxy)carbonyl]-L-leucyl-N-[(2S)-1-hydroxy-4-methylpentan-2-yl]-L-leucinamide</i>	-6,0	CYS 145 GLY 143 SER 144 GLN 189 GLU 166 THR 190	HIS 41 MET 49 PRO 168	-
Molnupiravir	-6,6	CYS 145 ARG 188 PHE 140	-	HIS 41 (Pi-sigma)
Nirmatrelvir	-6,9	GLN 189 HIS 41 GLU 166 CYS 145	-	-
<i>Bisandrographolide C</i>	-10	CYS 145	MET 49	CYS 44 (Pi-sulfur)

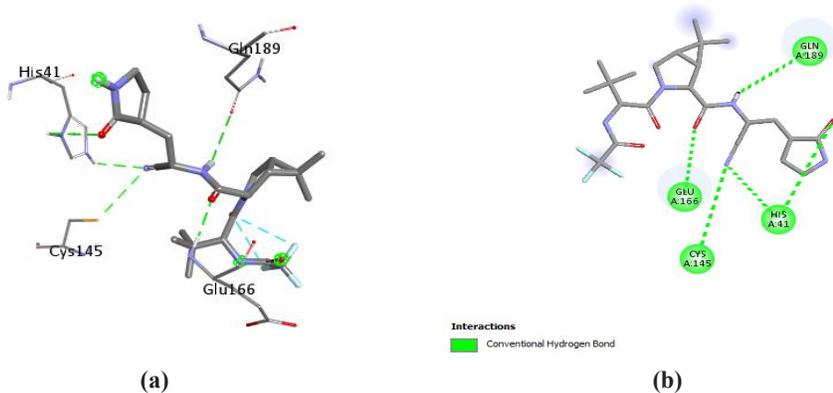
Tabel VII. 5 Lanjutan

Ligand Uji	ΔG (kkal/mol)	Ikatan Hidrogen	Interaksi Hidrofobik	Interaksi Lain
			Pi-alkyl/alkyl	
<i>14-Deoxy-11-oxoandrographolide</i>	-8,3	PHE 140 HIS 41 HIS 164	MET 165 CYS 145	MET 49 (Pi-sulfur) GLU 166, HIS 41 (Pi-cation, Attractive Charge)

Hasil *docking* pada ligand pembanding molnupiravir yang ditambahkan terhadap reseptor ID PDB 7NG6 menghasilkan nilai ΔG sebesar -6,6 kkal/mol dengan membentuk interaksi ikatan kimia dan residu asam amino dengan model ikatan hidrogen konvensional (CYS 145, ARG 188, PHE 140), dan Pi-sigma (HIS 41).

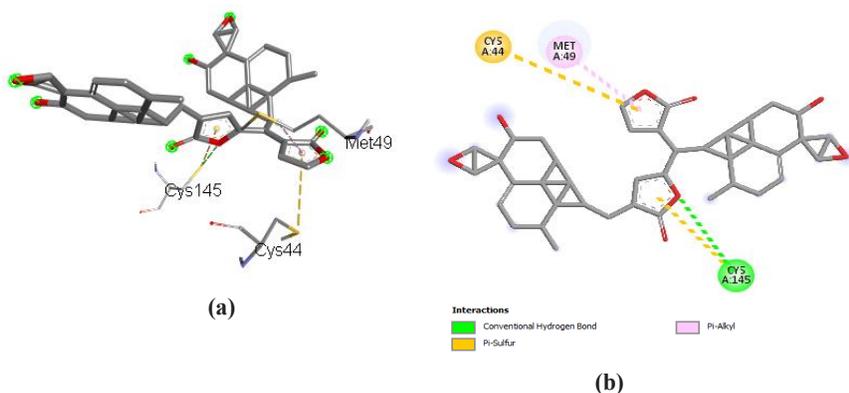


Gambar VII. 36 Visualisasi struktur 3D (a) dan 2D (b) residu asam amino serta interaksi ikatan kimia pada penambatan Molnupiravir terhadap reseptor ID PDB 7NG6



Gambar VII. 37 Visualisasi struktur 3D (a) dan 2D (b) residu asam amino serta interaksi ikatan kimia pada penambatan Nirmatrelvir terhadap reseptor ID PDB 7NG6

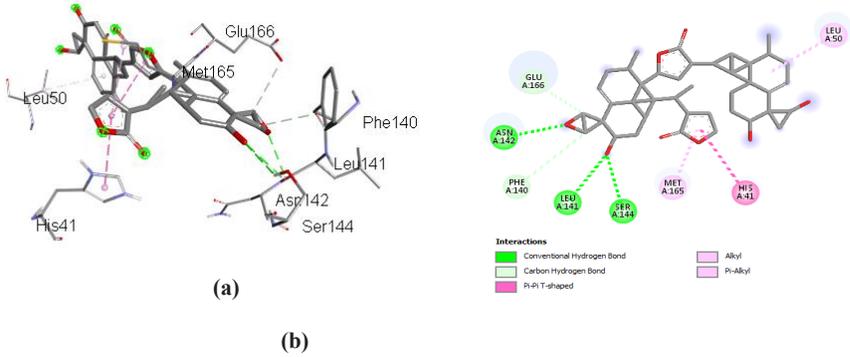
Untuk hasil *docking* ligand pembanding nirmatrelvir yang ditambahkan terhadap reseptor ID PDB 7NG6 menghasilkan nilai ΔG sebesar -6,9 kkal/mol. Interaksi ikatan kimia dan residu asam amino yang terbentuk yaitu ikatan konvensional hidrogen (CYS 145, HIS 41, GLN 189, GLU 166).



Gambar VII. 38 Visualisasi struktur 3D (a) dan 2D (b) residu asam amino serta interaksi ikatan kimia pada penambatan senyawa Bisandrographolide C terhadap reseptor ID PDB 7NG6

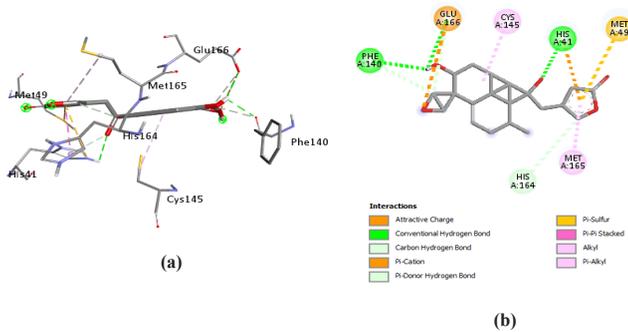
Hasil penambatan senyawa terbaik pertama yaitu *Bisandrographolide C* terhadap reseptor ID PDB 7NG6 menghasilkan nilai ΔG sebesar -10

kkal/mol yang membentuk interaksi ikatan kimia dan residu asam amino dengan model ikatan hidrogen konvensional (CYS 145), interaksi hidrofobik meliputi (MET 49), dan Pi-sulfur (CYS 44).



Gambar VII. 39 Visualisasi struktur 3D (a) dan 2D (b) residu asam amino serta interaksi ikatan kimia pada penambatan senyawa Bisandrographolide B terhadap reseptor ID PDB 7NG6

Pada senyawa terbaik kedua yaitu *Bisandrographolide B* yang ditambatkan terhadap reseptor ID PDB 7NG6 menghasilkan nilai ΔG sebesar -9,2 kkal/mol. Interaksi ikatan kimia dan residu asam amino yang terbentuk yaitu (SER 144, LEU 141, ASN 142), ikatan hidrogen karbon (PHE 140, GLU 166), interaksi hidrofobik meliputi alkyl dan Pi-alkyl (MET 165, LEU 50), serta Pi-Pi T-shaped (HIS 41).



Gambar VII. 40 Visualisasi struktur 3D (a) dan 2D (b) residu asam amino serta interaksi ikatan kimia pada penambatan Senyawa 14-Deoxy-11-oxoandrographolide terhadap reseptor ID PDB 7NG6

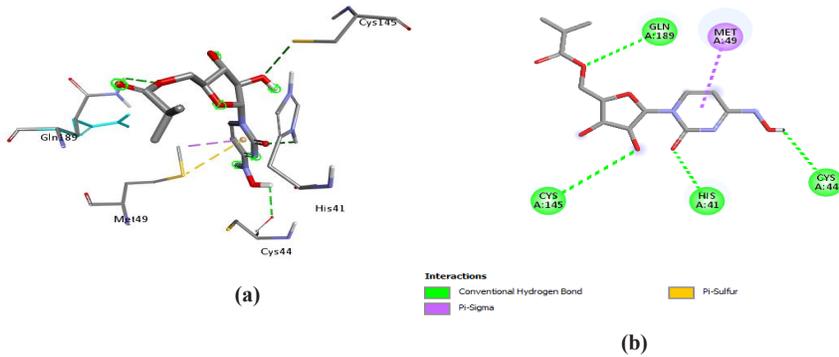
Senyawa terbaik ketiga yaitu *14-Deoxy-11-oxoandrographolide* yang ditambatkan terhadap reseptor ID PDB 7NG6 menghasilkan nilai ΔG sebesar -8,3 kkal/mol dengan membentuk interaksi ikatan kimia dan residu asam amino dengan model ikatan hidrogen konvensional (HIS 41, PHE 140), ikatan hidrogen karbon dan ikatan Pi-donor hidrogen (HIS 164), interaksi hidrofobik meliputi alkyl dan Pi-alkyl (MET 165, CYS 145), Pi-sulfur (MET 49), dan Pi-cation, attractive charge (GLU 166, HIS 41).

Residu asam amino yang terbentuk antara senyawa uji dengan *native ligand* dan ligand pembanding yaitu terdapat kesamaan, pada senyawa *Bisandrographolide C* terdapat kesamaan pada asam amino CYS 145, MET 49. Pada senyawa *bisandrographolide B* terdapat kesamaan pada asam amino SER 144, PHE 140, GLU 166, HIS 41. Sedangkan, pada senyawa *14-Deoxy-11-oxoandrographolide* memiliki kesamaan pada residu asam amino HIS 41, CYS 145, MET 49, GLU 166. Kesamaan residu asam amino yang terbentuk antara senyawa uji dengan *native ligand* dan ligand pembanding terjadi pada berbagai interaksi ikatan kimia.

Penambatan molekuler (*molecular docking*) yang sudah dilakukan pada 46 senyawa aktif tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap reseptor *main protease SARS-CoV-2* dengan kode ID PDB 7DPU, dihasilkan tiga senyawa uji terbaik yang memiliki nilai energi bebas (ΔG) paling rendah dibandingkan *native ligand 7-methoxy-3,5-bis(oxidanyl)-2-[3,4,5-tris(oxidanyl)phenyl]chromen-4-one* dan ligand pembanding nirmatrelvir serta molnupiravir yaitu *Bisandrographolide C*, *Skullcapflavone I 2'-O-glucoside*, *5,4-Dihidroxy-7,8,2,3-tetramethoxy flavone 5-glucoside*.

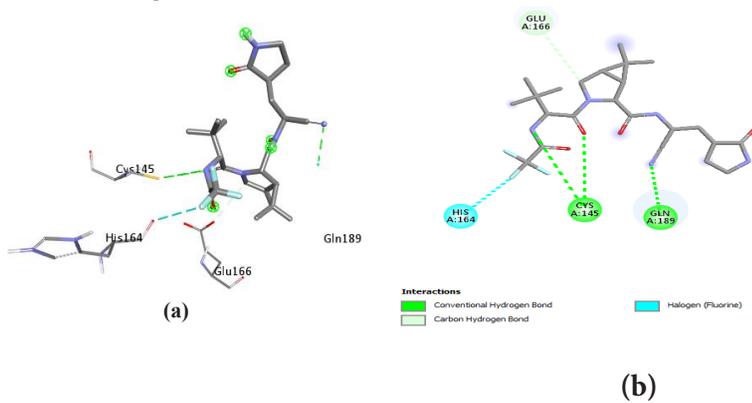
Tabel VII. 6 Hasil Molecular Docking dan Residu Asam Amino Senyawa Uji Terhadap Reseptor ID PDB 7DPU

Ligand Uji	ΔG (kkal/mol)	Ikatan Hidrogen	Interaksi Hidrofobik	Interaksi Lain
<i>7-methoxy-3,5-bis(oxidanyl)-2-[3,4,5-tris(oxidanyl)phenyl]chromen-4-one</i>	-7,8	THR 26 GLN 189 MET 49	MET 165 PRO 52 CYS 44	HIS 41 (Pi-cation) CYS 145 (Pi-sulfur) MET 49 (Pi-sigma)
Molnupiravir	-7,1	CYS 145 HIS 41 CYS 44 GLN 189	-	MET 49 (Pi-sigma)
Nirmatrelvir	-6,2	CYS 145 GLN 189 GLU 166	-	HIS 164 (Halogen)
<i>Bisandrographolide C</i>	-8,4	GLN189 TYR 54 HIS 41 ASN 119	MET 165	GLU 166 (Pi-anion)
<i>Skullcapflavone I 2'-O-glucoside</i>	-8,2	ASN 142 ASN 119 GLY 143 CYS 145 GLN 189 GLU 166 ARG 188 THR 25 HIS 41	MET 165	HIS 41 (Pi-Pi-stacked) Met 49 (Pi-sigma dan Pi-sulfur)
<i>5,4-Dihidroxy-7,8,2,3-tetramethoxy flavone 5-glucoside</i>	-8,1	ASN 142 ASN 119 THR 26 CYS 145 GLN 189 MET 165 GLY 143 GLU 166 ARG 188 THR 25 THR 24 HIS 41	CYS 145 MET 165	MET 49 (Pi-sigma dan Pi-Sulfur) HIS 41 (Pi-Pi-Stacked dan Pi-Pi-Shaped)



Gambar VII. 41 Visualisasi struktur 3D (a) dan 2D (b) residu asam amino serta interaksi ikatan kimia pada penambatan Molnupiravir terhadap reseptor ID PDB 7DPU

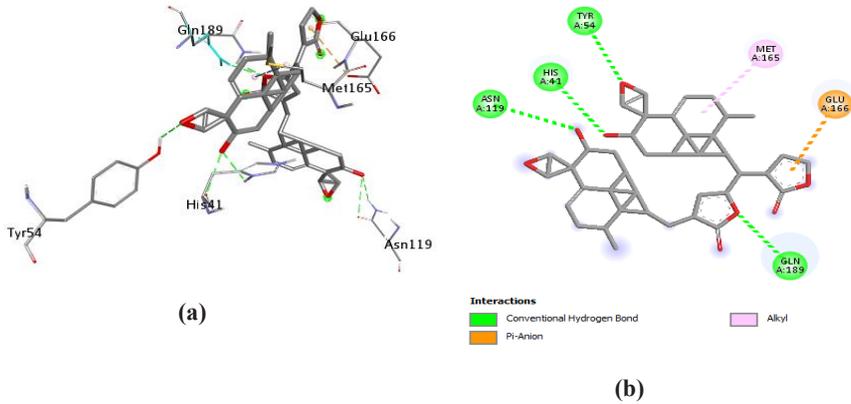
Hasil *docking* pada ligand pembanding molnupiravir yang ditambatkan terhadap reseptor ID PDB 7DPU menghasilkan nilai ΔG sebesar -7,1 kkal/mol. Interaksi ikatan kimia dan residu asam amino yang terbentuk dengan model ikatan hidrogen konvensional (CYS 145, HIS 41, CYS 44, GLN 189), dan Pi-sigma (MET 49).



Gambar VII. 42 Visualisasi struktur 3D (a) dan 2D (b) residu asam amino serta interaksi ikatan kimia pada penambatan Nirmatrelvir terhadap reseptor ID PDB 7DPU

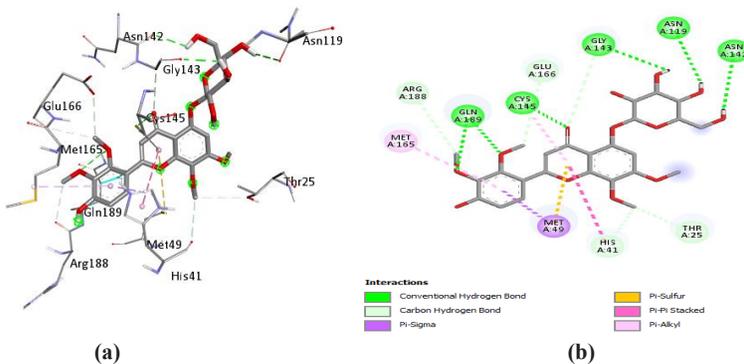
Hasil *docking* ligand pembanding nirmatrelvir yang ditambatkan terhadap reseptor ID PDB 7DPU menghasilkan nilai ΔG sebesar -6,2 kkal/

mol dengan interaksi ikatan kimia dan residu asam amino yang terbentuk yaitu ikatan konvensional hidrogen (CYS 145, GLN 189), ikatan hidrogen karbon (GLU 166), dan halogen (HIS 164).



Gambar VII. 43 Visualisasi struktur 3D (a) dan 2D (b) residu asam amino serta interaksi ikatan kimia pada penambatan senyawa Bisandrographolide C terhadap reseptor ID PDB 7DPU

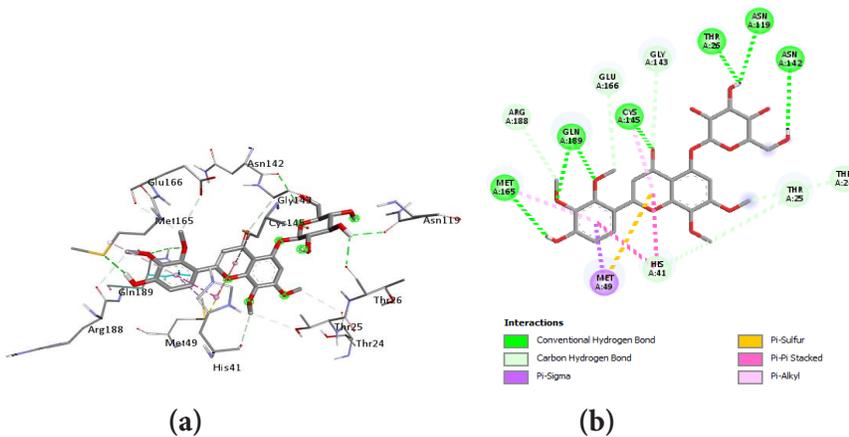
Senyawa terbaik pertama yaitu *Bisandrographolide C* yang ditambatkan terhadap reseptor ID PDB 7DPU menghasilkan nilai ΔG sebesar -8,4 kkal/mol dengan membentuk interaksi ikatan kimia dan residu asam amino dengan model ikatan hidrogen konvensional (ASN 119, HIS 41, TYR 54, GLN 189), Pi-anion (GLU 166), dan alkyl (MET 165).



Gambar VII. 44 Visualisasi struktur 3D (a) dan 2D (b) residu asam amino serta interaksi ikatan kimia pada penambatan senyawa Skullcapflavone I 2'-O-glucoside terhadap reseptor ID PDB 7DPU

Hasil penambatan senyawa terbaik kedua yaitu *Skullcapflavone I 2'-O-glucoside* terhadap reseptor ID PDB 7DPU menghasilkan nilai ΔG sebesar -8,2 kkal/mol yang membentuk interaksi ikatan kimia dan residu asam amino dengan model ikatan hidrogen konvensional (ASN 142, ASN 119, GLY 143, CYS 145, GLN 189), ikatan hidrogen karbon (GLU 166, ARG 188, THR 25, HIS 41), Pi-alkyl (MET 165), Pi-Pi-stacked (HIS 41), Pi-sigma dan Pi-sulfur (MET 49).

Pada senyawa terbaik ketiga yaitu *5,4'-Dihidroxy-7,8,2',3'-tetramethoxy flavone 5-glucoside* yang ditambatkan terhadap reseptor ID PDB 7DPU menghasilkan nilai ΔG sebesar -8,1 kkal/mol. Interaksi ikatan kimia dan residu asam amino yang terbentuk yaitu ikatan hidrogen konvensional (ASN 142, ASN 119, THR 26, CYS 145, GLN 189, MET 165), ikatan hidrogen karbon (GLY 143, GLU 166, ARG 188, THR 25, THR 24, HIS 41), ikatan hidrogen karbon (CYS 145, MET 165), Pi-alkyl (CYS 145, MET 165), Pi-sigma dan Pi-Sulfur (MET 49), Pi-Pi-Stacked dan Pi-Pi-Shaped (HIS 41).



Gambar VII. 45 Visualisasi struktur 3D (a) dan 2D (b) residu asam amino serta interaksi ikatan kimia pada penambatan senyawa 5,4'-Dihidroxy-7,8,2',3'-tetramethoxy flavone 5-glucoside terhadap reseptor ID PDB 7DPU

Terdapat kesamaan residu asam amino yang terbentuk antara senyawa uji dengan *native ligand* dan ligand pembanding yaitu pada senyawa

Bisandrographolide C terdapat kesamaan pada asam amino GLN 189, HIS 41, GLU 166. Pada senyawa *Skullcapflavone I 2'-O-glucoside* terdapat kesamaan pada asam amino GLN 189, CYS 145, GLU 166, HIS 41. Sedangkan, pada senyawa *5,4'-Dihidroxy-7,8,2',3'-tetramethoxy flavone 5-glucoside* memiliki kesamaan pada residu asam CYS 145, GLN 189, GLU 166, HIS 41, CYS 145. Kesamaan residu asam amino yang terbentuk antara senyawa uji dengan *native ligand* dan ligand pembanding terjadi pada berbagai interaksi ikatan kimia.

Analisis hasil secara keseluruhan dari hasil penambatan molekuler (*molecular docking*) senyawa aktif tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap empat reseptor *main protease* SARS-CoV-2 ID PDB 7SI9, 7RN4, 7NG6, dan 7DPU, didapatkan hasil bahwa senyawa *Bisandrographolide C* menunjukkan nilai ΔG paling rendah secara berturut-turut pada keempat reseptor tersebut. Nilai ΔG yang semakin rendah menunjukkan afinitas ikatan yang semakin kuat dan stabil. Jika dikorelasikan dengan hasil *screening* aktivitas antivirus melalui situs *PASS-online*, *Bisandrographolide C* menunjukkan nilai $P_a > P_i$ yang menandakan bahwa senyawa tersebut menunjukkan aktivitas antivirus, sehingga secara umum senyawa tersebut dapat digunakan dalam pendekatan proses pencarian kandidat anti SARS-CoV-2 dan penelitian lebih lanjut terkait hal tersebut. *Bisandrographolide C* merupakan senyawa khas dari tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*) yang termasuk golongan dimer diterpen baru dari tanaman tersebut. Sejauh ini, belum ditemukan secara spesifik penelitian yang menjelaskan terkait aktivitas senyawa *Bisandrographolide C* sebagai antivirus.

B. Pencarian dan Penambatan Molekuler (*Docking Molecular*) Senyawa Similar

Proses pencarian senyawa similar dilakukan berdasarkan pendekatan kemiripan struktur senyawa dengan struktur senyawa uji terpilih hasil *docking* melalui situs *online STITCH* yang diakses pada *website* (<http://stitch.embl.de/>) dengan menginput *canonical SMILES* dari senyawa uji

terpilih hasil *docking* pada laman *STITCH*. Hasil yang didapatkan berupa senyawa yang ditampilkan dan diurutkan berdasarkan nilai *tanimoto score* atau nilai yang menunjukkan kesamaan (similaritas) antara dua molekul. (Zhao *et al.*, 2022) Dipilih 5 senyawa similar terbaik hasil pencarian yang memiliki nilai *tanimoto score* atau similaritas yang mendekati 1 untuk dilakukan proses penambatan molekuler (*molecular docking*).

Senyawa similar terpilih hasil pencarian, kemudian dilakukan prosedur dan perlakuan yang sama seperti pada senyawa utama meliputi *screening* aktivitas antivirus, preparasi senyawa uji sebelum dilakukan proses *docking*, proses penambatan molekuler (*docking*) menggunakan *software Autodock Vina*, prediksi *druglikeness*, prediksi profil farmakokinetika dan toksisitas. Hasil *docking* dianalisis dengan membandingkan nilai afinitas (ΔG) dan dilakukan visualisasi menggunakan *software Discovery Studio Visualizer*.

Tujuan dilakukannya penambatan molekuler terhadap senyawa similar yaitu untuk membuktikan terkait adanya potensi aktivitas yang sama atau lebih baik antara senyawa similar dengan senyawa utama ketika dilakukan proses *docking* terhadap reseptor yang sama. Dilakukan penambatan molekuler pada senyawa similar terbaik terhadap empat reseptor *main protease* SARS-CoV-2 yang sama pada *docking* senyawa utama dengan kode ID PDB 7SI9, 7RN4, 7NG6, dan 7DPU.

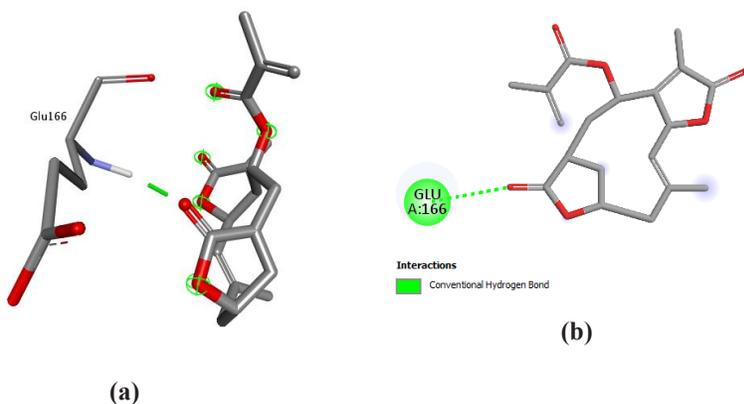
Tabel VII. 7 Hasil Molecular Docking dan Residu Asam Amino Senyawa Similar Terhadap Reseptor ID PDB 7SI9

Ligand Uji	ΔG (kkal/mol)	Ikatan Hidrogen	Interaksi Hidrofobik	Interaksi Lain
			Pi-alkyl/alkyl	
<i>Bisandrographolide C</i>	-10,3	CYS 145 SER 144 GLN 192	MET 165 PRO 168	HIS 41 (Pi-Pi T-shaped)
<i>Bisandrographolide B</i>	-9,5	CYS 145 ASN 142 SER 144 GLY 143 THR 26	MET 165 PRO 168	LEU 141 (Van der Waals) PHE 140 (Amide-Pi Stacked)

Tabel VII. 7 Lanjutan

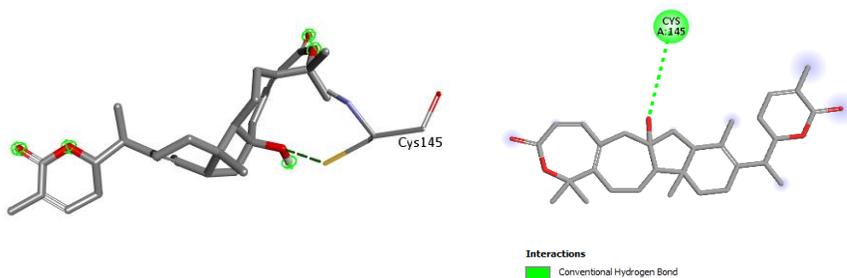
Ligand Uji	ΔG (kkal/mol)	Ikatan Hidrogen	Interaksi Hidrofobik	Interaksi Lain
			Pi-alkyl/alkyl	
Senyawa Similar Terbaik				
<i>Bisandrographolide C</i> (-10,3 kkal/mol)				
<i>Deoxyelephantopin</i>	-7,5 (Tanimoto Score : 0,629)	GLU 166	-	-
<i>Bisandrographolide B</i> (-9,5 kkal/mol)				
<i>Longipedlactone A</i>	-7,8 (Tanimoto Score : 0,622)	CYS 145	-	-
<i>Andrographiside</i> (-9,1 kkal/mol)				
<i>Saponaceolide A</i>	-8,8 (Tanimoto Score : 0,832)	PHE 140 THR 190	MET 165 PRO 168 HIS 41	-

Hasil penambatan molekuler senyawa aktif tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap reseptor ID PDB 7SI9, dihasilkan tiga senyawa terbaik yang memiliki nilai ΔG paling rendah yaitu *Bisandrographolide C*, *Bisandrographolide B*, dan *Andrographiside*. Ketiga senyawa terbaik hasil *docking* tersebut kemudian dilakukan pencarian senyawa similarnya melalui *website* STITCH dan dilakukan penambatan molekuler pada senyawa similar hasil pencariannya.



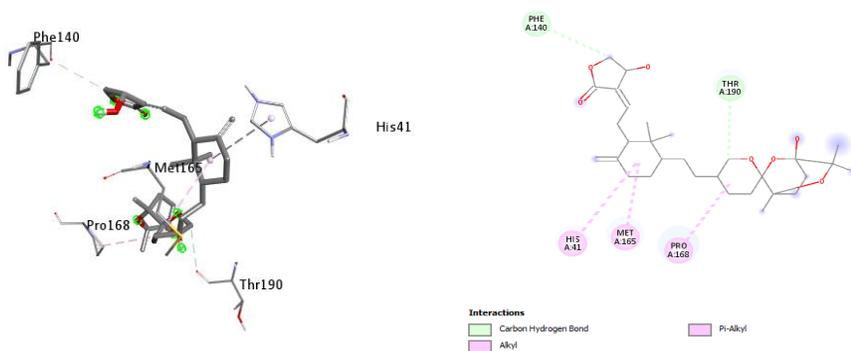
Gambar VII. 46 Visualisasi struktur 3D (a) dan 2D (b) residu asam amino serta interaksi ikatan kimia pada penambatan senyawa Deoxyelephantopin terhadap reseptor ID PDB 7SI9

Bisandrographolide C merupakan senyawa terbaik pertama hasil penambatan senyawa aktif tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap reseptor 7SI9. Dari hasil pencarian senyawa similar berdasarkan nilai *tanimoto score* pada *website STITCH* didapatkan lima senyawa similar terbaik diantaranya *Deoxyelephantopin*, *Riligustilide*, *Rac-tokinolide B*, *Bemadienolide*, dan *Asperolide A*. Hasil penambatan yang sudah dilakukan pada lima senyawa similar terbaik terhadap reseptor 7SI9, *Deoxyelephantopin* merupakan senyawa yang memiliki nilai ΔG paling rendah dibandingkan dengan empat senyawa lainnya yaitu $-7,5$ kkal/mol. Hasil tersebut menunjukkan nilai ΔG yang tidak lebih rendah dari senyawa *Bisandrographolide C* sebagai senyawa utama dan terdapat perbedaan rentang yang cukup signifikan. Pada hasil analisis visualisasi interaksi ikatan kimia dan residu asam amino terbentuk ikatan hidrogen konvensional (GLU 166), ikatan yang terbentuk kurang stabil dibandingkan dengan senyawa *Bisandrographolide C*. *Deoxyelephantopin* dapat ditemukan pada beberapa tanaman family Asteraceae seperti *Elephantopus carolinianus*, *Elephantopus scaber*, dan *Elephantopus carolianus*. (Pubchem, 2022)



Gambar VII. 47 Visualisasi struktur 3D (a) dan 2D (b) residu asam amino dan interaksi ikatan kimia pada penambatan senyawa Longipedlactone A terhadap reseptor ID PDB 7SI9

Penambatan molekuler (*molecular docking*) selanjutnya dilakukan terhadap kelima senyawa similar hasil pencarian dari senyawa utama *Bisandrographolide B* sebagai senyawa terbaik kedua, meliputi *Senkyunolide A*, *Longipedlactone A*, *Senkyunolide G*, *Subvellerolactones D*, dan *Helioscopinolide E*. Hasil penambatan yang sudah dilakukan terhadap reseptor 7SI9 dari kelima senyawa similar tersebut, *Longipedlactone A* merupakan senyawa yang menghasilkan nilai ΔG paling rendah yaitu -7,8. Hasil nilai ΔG senyawa tersebut menunjukkan hasil yang tidak lebih rendah dari senyawa *Bisandrogrpholide B* sebagai senyawa utama dan terdapat perbedaan nilai ΔG yang cukup signifikan. Hasil analisis interaksi ikatan kimia dan residu asam amino pada senyawa similar *longipedlactone A* yang ditambatkan terhadap reseptor 7SI9 yaitu terbentuk ikatan hidrogen konvensional (CYS 145). Residu asam amino senyawa *longipedlactone A* dengan senyawa utama *Bisandrographolide B* memiliki kesamaan pada asam amino CYS 145. *Longipedlactone A* merupakan senyawa alami yang ditemukan pada tanaman *Kadsura coccinea*, *Kadsura heteroclita*, dan *Kadsura ananosma*. (Pubchem, 2022)



Gambar VII. 48 Visualisasi struktur 3D (a) dan 2D (b) residu asam amino dan interaksi ikatan kimia pada penambatan senyawa Saponaceolide A terhadap reseptor ID PDB 7SI9

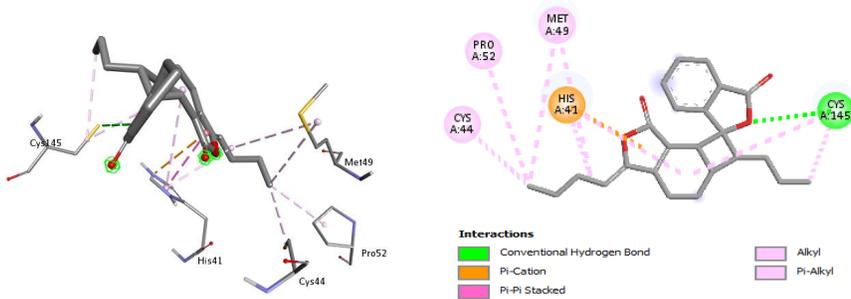
Hasil pencarian senyawa similar dari senyawa terbaik ketiga hasil *docking* senyawa aktif tanaman sambiloto terhadap reseptor 7SI9 yaitu *Andrographiside*, didapatkan lima senyawa similar berdasarkan nilai *tanimoto score* diantaranya *Saponaceolide A*, *3,19-isopropylideneandrographolide*, *Saponaceolide B*, *Andropanoside* dan *acetyl-3,19-isopropylideneandrographolide*. Senyawa similar tersebut dilakukan penambatan terhadap reseptor 7SI9, menunjukkan hasil bahwa *Saponaceolide A* mempunyai nilai ΔG terendah dibandingkan senyawa similarnya lainnya dengan nilai ΔG sebesar $-8,8$ kkal/mol. Nilai ΔG yang dihasilkan tidak lebih rendah dari senyawa *Andrographiside* sebagai senyawa utama dan terdapat perbedaan rentang yang cukup signifikan. Hasil analisis interaksi ikatan kimia dan residu asam amino yang terbentuk pada senyawa *Saponaceolide A* yaitu berupa ikatan hidrogen karbon (PHE 140, THR 190), dan interaksi hidrofobik meliputi alkyl dan Pi-alkyl (PRO 168, MET 165, HIS 41). Terdapat kesamaan residu asam amino antara *Saponaceolide A* dengan senyawa utama *andrographiside* yaitu HIS 41 dengan model interaksi yang sama yaitu interaksi hidrofobik. *Saponaceolide A* dapat ditemukan pada *Tricholoma saponaceum*. (Pubchem, 2022)

Tabel VII. 8 Hasil Molecular Docking dan Residu Asam Amino Senyawa Similar Terhadap Reseptor ID PDB 7RN4

Ligand Uji	ΔG (kkal/mol)	Ikatan Hidrogen	Interaksi Hidrofobik	Interaksi Lain
			Pi-alkyl/alkyl	
<i>Bisandrographolide C</i>	-10,8	GLN189 ASP 187 ARG 188	HIS 41 CYS 44	MET 49 (Pi-sulfur)
<i>Bisandrographolide B</i>	-9,8	CYS 44 GLU 166 HIS 172	MET 49 CYS 145	MET 165 (Amide-Pi-stacked) HIS 41 (Pi-sigma)
<i>14-Deoxy-11-oxoandrographolide</i>	-9,3	CYS 44 HIS 163 CYS 145 ASP 187 ASN 142	HIS 41 MET 49	CYS 145 (Pi-sulfur)
Senyawa Similar Terbaik				
<i>Bisandrographolide C</i> (-10,8 kkal/mol)				
<i>Riligustilide</i>	-7,5 (Tanimoto Score : 0,706)	CYS 145	CYS 145	MET 49, PRO 52, CYS 44 (Pi-Pi-stacked) HIS 41 (Pi-cation)
<i>Bisandrographolide B</i> (-9,8 kkal/mol)				
<i>Longipedlactone A</i>	-8,2 (Tanimoto Score : 0,622)		-	-
<i>14-Deoxy-11-oxoandrographolide</i> (-9,3 kkal/mol)				
<i>Wightionolide</i>	-7,2 (Tanimoto Score : 0,789)	SER 144 LEU 141 GLY 143 MET 49	-	HIS 163 (Unfavorable Donor-Donor)

Hasil penambatan molekuler senyawa aktif tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap reseptor 7RN4, dihasilkan tiga senyawa terbaik yang memiliki nilai ΔG terendah yaitu *Bisandrographolide C*, *Bisandrographolide B*, dan *14-Deoxy-11-oxoandrographolide*. Ketiga

senyawa terbaik hasil *docking* tersebut kemudian dilakukan pencarian senyawa similarnya melalui *website* STITCH dan dilakukan penambatan molekuler pada senyawa similar hasil pencariannya.

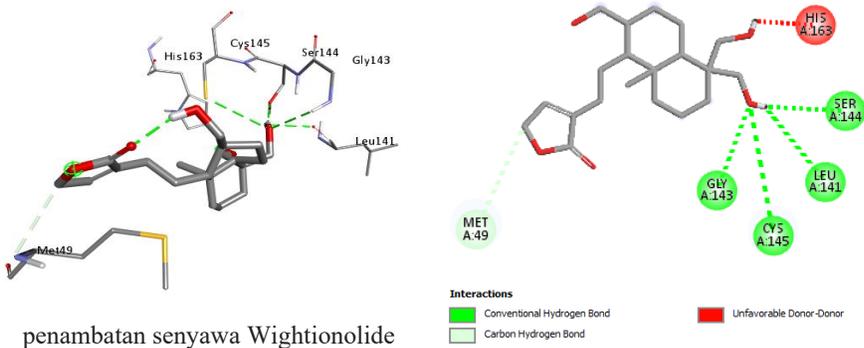


Gambar VII. 49 Visualisasi struktur 3D (a) dan 2D (b) residu asam amino dan interaksi ikatan kimia pada penambatan senyawa Riligustilide terhadap reseptor ID PDB 7RN4

Hasil pencarian senyawa similar dari senyawa utama *Bisandrographolide C* yang merupakan senyawa terbaik pertama dari hasil penambatan senyawa aktif tanaman sambiloto terhadap reseptor 7RN4, didapatkan lima senyawa similar terbaik berdasarkan nilai similaritasnya (*tanimoto score*) yaitu *deoxyelephantopin*, *riligustilide*, *rac-tokinolide B*, *bemadienolide*, dan *asperolide A*. Senyawa similar tersebut kemudian ditambatkan terhadap reseptor ID PDB 7RN4. Hasil penambatan menunjukkan, *Riligustilide* merupakan senyawa yang menghasilkan nilai ΔG paling rendah dibandingkan dengan empat senyawa lainnya yaitu -7,5 kkal/mol. Hasil tersebut menunjukkan nilai ΔG yang tidak lebih rendah dari senyawa *Bisandrographolide C* sebagai senyawa utama dan terdapat perbedaan rentang yang cukup signifikan. Interaksi ikatan kimia dan residu asam amino yang terbentuk yaitu meliputi ikatan hidrogen konvensional (CYS 145), interaksi hidrofobik terdiri dari alkyl dan Pi-alkyl (CYS 145), Pi-cation (HIS 41), dan Pi-Pi-stacked (MET 49, PRO 51, CYS 44). Residu asam amino senyawa *riligustilide* dengan senyawa utama *Bisandrographolide C* yaitu terdapat kesamaan pada residu asam amino MET 49, CYS 44, dan HIS 41 dengan jenis ikatan kimia yang berbeda.

Riligustilide dapat ditemukan pada *Ligusticum striatum* dan *Angelica sinensis*.(Pubchem, 2022)

Penambatan selanjutnya dilakukan terhadap senyawa similar dari senyawa *Bisandrographolide B* yang merupakan senyawa terbaik kedua pada hasil *docking* senyawa aktif tanaman sambiloto terhadap reseptor 7RN4. Hasil pencarian terhadap senyawa similar tersebut didapatkan lima senyawa meliputi *senkyunolide A*, *longipedlactone A*, *senkyunolide G*, *subvellerolactones D* dan *helioscopinolide E*. Dilakukan penambatan pada kelima senyawa similar tersebut, dan didapatkan hasil bahwa *longipedlactone A* memiliki nilai ΔG paling rendah sebesar -8,2 kkal/mol. Nilai tersebut menunjukkan nilai ΔG yang tidak lebih rendah dari senyawa *Bisandrographolide B* sebagai senyawa utama dan terdapat perbedaan rentang yang cukup signifikan diantara keduanya. Hasil analisis interaksi ikatan kimia dan residu asam amino, menunjukkan hasil bahwa tidak terbentuknya interaksi ikatan kimia dan residu asam amino pada hasil penambatan *longipedlactone A* terhadap reseptor 7RN4. *Longipedlactone A* merupakan senyawa alami yang ditemukan pada tanaman *Kadsura coccinea*, *Kadsura heteroclita*, dan *Kadsura ananosma*.(Pubchem, 2022)



Gambar VII. 50 Visualisasi struktur 3D (a) dan 2D (b) residu asam amino dan interaksi ikatan kimia pada penambatan senyawa Wightionolide terhadap reseptor ID PDB 7RN4

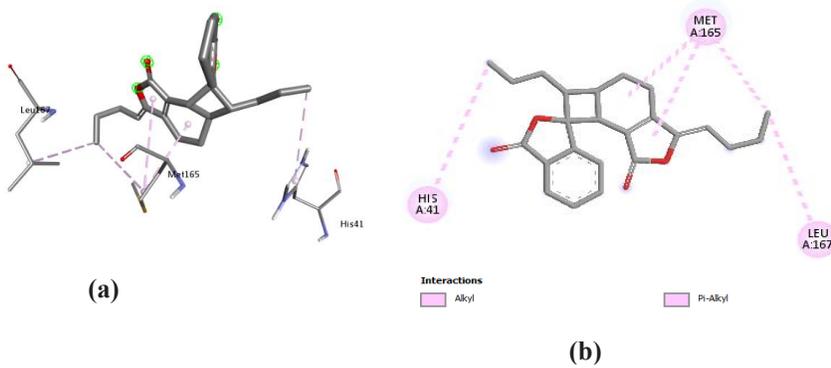
Pencarian similar dari senyawa terbaik ketiga hasil penambatan senyawa aktif tanaman sambiloto terhadap reseptor 7RN4 yaitu *14-Deoxy-11-oxoandrographolide*, dihasilkan lima senyawa similar berdasarkan nilai

tanimoto score nya meliputi *deoxyandrographolide*, *pinusolide*, *pinusolidic acid*, *wightionolide*, dan *CHEMBL314507*. Kelima senyawa similar tersebut ditambatkan terhadap reseptor 7RN4 dan dihasilkan senyawa dengan nilai ΔG paling rendah yaitu *wightionolide* sebesar $-7,2$ kkal/mol dengan interaksi ikatan kimia dan residu asam amino yang terbentuk yaitu ikatan hidrogen konvensional (SER 144, LEU 141, CYS 145, GLY 143), ikatan hidrogen karbon (MET 49), dan *unvorable donor-donor* (HIS 163). Dari hasil tersebut jika dibandingkan dengan nilai ΔG senyawa utama *14-Deoxy-11-oxoandrographolide*, *wightionolide* menunjukkan nilai ΔG yang tidak lebih rendah dan terdapat perbedaan rentang yang cukup signifikan. Terdapat kesamaan residu asam amino antara *wightionolide* dengan senyawa utama *14-Deoxy-11-oxoandrographolide* yaitu MET 49. *Wightionolide* merupakan senyawa alami yang ditemukan pada tanaman famili Acanthaceae yang sama dengan tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*) di spesies yang berbeda yaitu pada tanaman *Andrographis atropurpurea*, *Andrographis macrobotrys*, dan *Andrographis lineata*. (Pubchem, 2022)

Hasil penambatan molekuler senyawa aktif tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap reseptor 7NG6, dihasilkan tiga senyawa terbaik yang memiliki nilai ΔG paling rendah yaitu *Bisandrographolide C*, *Bisandrographolide B*, dan *14-Deoxy-11-oxoandrographolide*. Ketiga senyawa terbaik hasil *docking* tersebut kemudian dilakukan pencarian senyawa similarnya melalui *website* STITCH dan dilakukan penambatan molekuler pada senyawa similar hasil pencariannya.

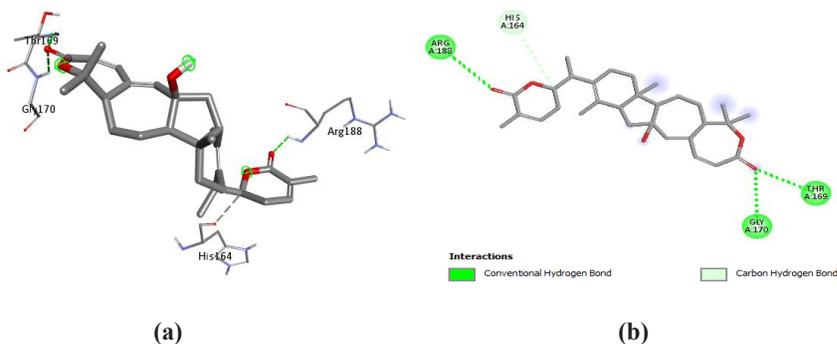
Tabel VII. 9 Hasil Molecular Docking dan Residu Asam Amino Senyawa Similar Terhadap Reseptor ID PDB 7NG6

Ligand Uji	ΔG (kkal/mol)	Ikatan Hidrogen	Interaksi Hidrofobik	Interaksi Lain
			Pi-alkyl/alkyl	
<i>Bisandrographolide C</i>	-10	CYS 145	MET 49	CYS 44 (Pi-sulfur)
<i>Bisandrographolide B</i>	-9,2	SER 144 LEU 141 ASN 142 PHE 140 GLU 166	MET 165 LEU 50	HIS 41 (Pi-Pi-shaped)
<i>14-Deoxy-11-oxoandrographolide</i>	-8,3	PHE 140 HIS 41 HIS 164	MET 165 CYS 145	MET 49 (Pi-sulfur) GLU 166 (Pi-cation)
Senyawa Similar Terbaik				
<i>Bisandrographolide C</i> (-10 kkal/mol)				
<i>Riligustilide</i>	-7,5 (Tanimoto Score : 0,706)	-	MET 165 HIS 41 LEU 167	-
<i>Bisandrographolide B</i> (-9,2 kkal/mol)				
<i>longipedlactone A</i>	-7,7 (Tanimoto Score : 0,622)	GLY 170 THR 169 ARG 188 HIS 164	-	-
<i>14-Deoxy-11-oxoandrographolide</i> (-8,3 kkal/mol)				
<i>Deoxyandrographolide</i>	-6,8 (Tanimoto Score : 0,875)	GLU 166 ARG 188	-	-



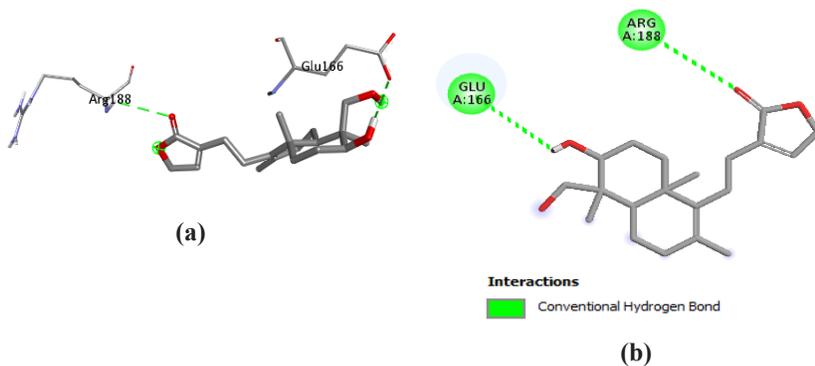
Gambar VII. 51 Visualisasi struktur 3D (a) dan 2D (b) residu asam amino dan interaksi ikatan kimia pada penambatan senyawa Riligustilide terhadap reseptor ID PDB 7NG6

Penambatan pertama dilakukan terhadap senyawa similar dari senyawa *Biandrographolide C* yang merupakan senyawa terbaik pertama hasil *docking* senyawa uji terhadap reseptor 7NG6. Hasil pencarian terhadap senyawa similar, didapatkan lima senyawa berdasarkan nilai similaritasnya meliputi *deoxyelephantopin*, *riligustilide*, *rac-tokinolide B*, *bemadienolide*, dan *asperolide A*. Dilakukan penambatan pada kelima senyawa similar tersebut terhadap reseptor 7NG6, dan didapatkan hasil penambatan senyawa *riligustilide* memiliki nilai ΔG terendah sebesar -7,5 kkal/mol. Hasil tersebut menunjukkan nilai ΔG yang tidak lebih rendah dari senyawa *Bisandrographolide C* sebagai senyawa utama dan terdapat perbedaan rentang yang cukup signifikan diantara keduanya. Interaksi ikatan kimia dan residu asam amino yang terbentuk yaitu meliputi interaksi hidrofobik yang terdiri dari alkyl dan Pi-alkyl (HIS 41, MET 165, LEU 167). *Riligustilide* dapat ditemukan pada *Ligusticum striatum* dan *Angelica sinensis*. (Pubchem, 2022)



Gambar VII. 52 Visualisasi struktur 3D (a) dan 2D (b) residu asam amino dan interaksi ikatan kimia pada penambatan senyawa Longipedlactone A terhadap reseptor ID PDB 7NG6

Bisandrographolide B merupakan senyawa terbaik kedua hasil penambatan senyawa aktif tanaman sambiloto terhadap reseptor 7NG6. Hasil pencarian senyawa similar berdasarkan nilai *tanimoto score* pada *website STITCH* didapatkan lima senyawa similar diantaranya *senkyunolide A*, *longipedlactone A*, *senkyunolide G*, *subvellerolactones D* dan *helioscopinolide E*. Hasil penambatan pada lima senyawa similar terbaik terhadap reseptor 7SI9, *longipedlactone A* merupakan senyawa yang memiliki nilai ΔG terendah dibandingkan dengan empat senyawa lainnya yaitu $-7,7$ kkal/mol. Hasil tersebut menunjukkan nilai ΔG yang tidak lebih rendah dari senyawa *Bisandrographolide B* sebagai senyawa utama dan terdapat perbedaan rentang yang cukup signifikan diantara keduanya. Analisis visualisasi interaksi ikatan kimia dan residu asam amino yang terbentuk yaitu ikatan hidrogen konvensional (ARG 188, GLY 170, THR 169), ikatan hidrogen karbon (HIS 164). *Longipedlactone A* merupakan senyawa alami yang ditemukan pada tanaman *Kadsura coccinea*, *Kadsura heteroclita*, dan *Kadsura ananosma*. (Pubchem, 2022)



Gambar VII. 53 Visualisasi struktur 3D (a) dan 2D (b) residu asam amino dan interaksi ikatan kimia pada penambatan senyawa Deoxyandrographolide terhadap reseptor ID PDB 7NG6

Penambatan selanjutnya dilakukan terhadap senyawa similar dari senyawa *14-Deoxy-11-oxoandrographolide* yang merupakan senyawa terbaik ketiga pada hasil *docking* senyawa aktif tanaman sambiloto terhadap reseptor 7NG6. Hasil pencarian terhadap senyawa similar tersebut didapatkan lima senyawa meliputi *deoxyandrographolide*, *pinusolide*, *pinusolidic acid*, *wightionolide*, dan *CHEMBL314507*. Dilakukan penambatan pada kelima senyawa similar tersebut, dan didapatkan hasil bahwa *deoxyandrographolide* memiliki nilai ΔG paling rendah sebesar -6,8 kkal/mol. Nilai tersebut menunjukkan nilai ΔG yang tidak lebih rendah dari senyawa *14-Deoxy-11-oxoandrographolide* sebagai senyawa utama dan terdapat perbedaan rentang yang cukup signifikan diantara keduanya. Hasil analisis interaksi ikatan kimia dan residu asam amino, menunjukkan hasil terbentuk ikatan hidrogen konvensional (ARG 188, GLU 166). Terdapat kesamaan residu asam amino antara *deoxyandrographolide* dengan senyawa utama *14-Deoxy-11-oxoandrographolide* yaitu GLU 166.

Hasil penambatan molekuler senyawa aktif tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap reseptor 7DPU, dihasilkan tiga senyawa terbaik yang memiliki nilai ΔG paling rendah yaitu *Bisandrographolide C*, *Skullcapflavone I 2'-O-glucoside*, dan *5,4-Dihidroxy-7,8,2,3-tetramethoxy flavone 5-glucoside*. Ketiga senyawa terbaik hasil *docking*

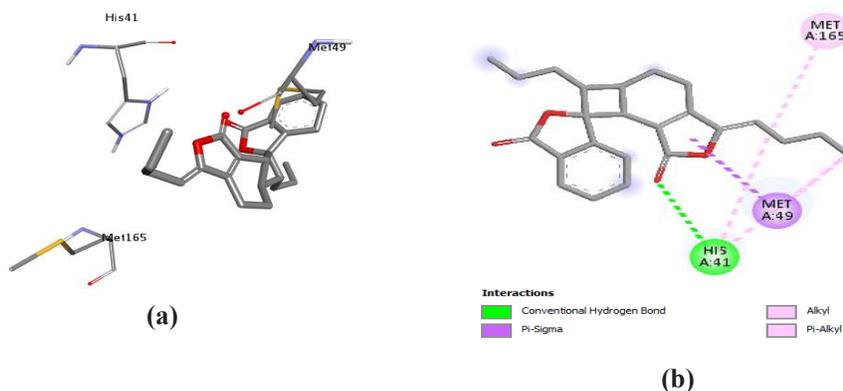
tersebut kemudian dilakukan pencarian senyawa similarnya melalui *website* STITCH dan dilakukan penambatan molekuler pada senyawa similar hasil pencariannya.

Tabel VII. 10 Hasil Molecular Docking dan Residu Asam Amino Senyawa Similar Terhadap Reseptor ID PDB 7DPU

Ligand Uji	ΔG (kkal/mol)	Ikatan Hidrogen	Interaksi Hidrofobik	Interaksi Lain
			Pi-alkyl/alkyl	
<i>Bisandrographolide C</i>	-8,4	GLN189 TYR 54 HIS 41 ASN 119	MET 165	GLU 166 (Pi-anion)
<i>Skullcapflavone I 2'-O-glucoside</i>	-8,2	ASN 142 ASN 119 GLY 143 CYS 145 GLN 189 GLU 166 ARG 188 THR 25 HIS 41	MET 165	HIS 41 (Pi-Pi-stacked) Met 49 (Pi-sigma dan Pi-sulfur)
<i>5,4-Dihidroxy-7,8,2,3-tetramethoxy flavone 5-glucoside</i>	-8,1	ASN 142 ASN 119 THR 26 CYS 145 GLN 189 MET 165 GLY 143 GLU 166 ARG 188 THR 25 THR 24 HIS 41	CYS 145 MET 165	MET 49 (Pi-sigma dan Pi-Sulfur) HIS 41 (Pi-Pi-Stacked dan Pi-Pi-Shaped)
Senyawa Similar Terbaik				
<i>Bisandrographolide C</i> (-8,4 kkal/mol)				
<i>Riligustilide</i>	-6,8 (Tanimoto Score : 0,706)	HIS 41	HIS 41 MET 165	MET 49 (Pi-sigma)

Tabel VII. 10 Lanjutan

Ligand Uji	ΔG (kcal/mol)	Ikatan Hidrogen	Interaksi Hidrofobik	Interaksi Lain
			Pi-alkyl/alkyl	
<i>Ikonnikoside I</i>	-8,8 (Tanimoto Score : 0,757)	CYS 145 GLN 189 MET 165 THR 25 THR 26 HIS 41	-	CYS 145 (Pi-sulfur)
5,4-Dihidroxy-7,8,2,3-tetramethoxy flavone 5-glucoside (-8,1 kkal/mol)				
<i>Chrysin-7-O-glucoronide</i>	-8,3 (Tanimoto Score : 0,836)	CYS 145 MET 165 GLN 189 GLU 166 HIS 41	-	MET 49, CYS 145 (Pi-sulfur) GLU 166 (Unfavorable Acceptor-Acceptor)

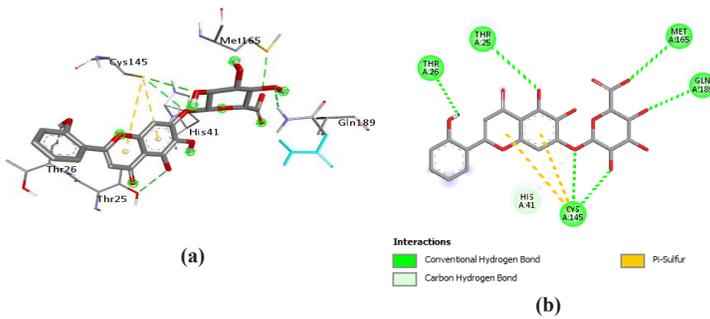


Gambar VII. 54 Visualisasi struktur 3D (a) dan 2D (b) residu asam amino dan interaksi ikatan kimia pada penambatan senyawa Riligustilide terhadap reseptor ID PDB 7DPU

Bisandrographolide C merupakan senyawa terbaik pertama hasil penambatan senyawa aktif tanaman *Andrographis paniculata* terhadap reseptor 7DPU. Dari hasil pencarian senyawa similar berdasarkan nilai *tanimoto score* pada *website STITCH* didapatkan lima senyawa similar terbaik diantaranya *Deoxyelephantopin*, *Riligustilide*, *Rac-tokinolide B*, *Bemadienolide*, dan *Asperolide A*. Hasil penambatan yang dilakukan pada

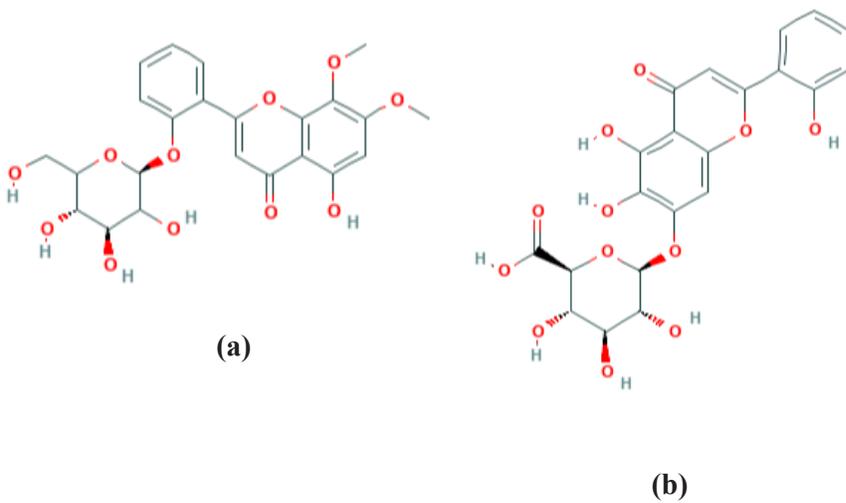
lima senyawa similar terhadap reseptor 7DPU, *riligustilide* merupakan senyawa yang memiliki nilai ΔG terendah dibandingkan dengan empat senyawa lainnya yaitu sebesar -6,8 kkal/mol. Hasil tersebut menunjukkan nilai ΔG yang tidak lebih rendah dari senyawa *Bisandrographolide C* sebagai senyawa utama dan terdapat perbedaan rentang yang cukup signifikan. Analisis visualisasi interaksi ikatan kimia dan residu asam amino yang terbentuk yaitu meliputi ikatan hidrogen konvensional (HIS 41), interaksi hidrofobik meliputi alkyl dan Pi-alkyl (MET 165, HIS 41), serta Pi-sigma (MET 49). Residu asam amino senyawa *riligustilide* dengan senyawa utama *Bsandrographolide C* yaitu memiliki kesamaan pada residu asam amino MET 165 dan HIS 41. *Riligustilide* dapat ditemukan pada *Ligusticum striatum* dan *Angelica sinensis*. (Pubchem, 2022)

Penambatan selanjutnya dilakukan terhadap similar dari senyawa *Skullcapflavone I 2'-O-glucoside* yang merupakan senyawa terbaik kedua hasil *docking* senyawa uji terhadap reseptor 7DPU. Hasil pencarian terhadap senyawa similar, didapatkan lima senyawa berdasarkan nilai *tanimoto score* meliputi *echioidin*, *ikonnikoside I*, *homoplantagin*, *cirsimar*, dan *wogonin 7-O-glucuronide (wogonoside)*. Dilakukan penambatan pada kelima senyawa similar tersebut terhadap reseptor 7DPU, dan didapatkan hasil penambatan senyawa *ikonnikoside I* memiliki nilai ΔG paling rendah sebesar -8,8 kkal/mol. Hasil tersebut menunjukkan nilai ΔG yang lebih rendah dari senyawa *Skullcapflavone I 2'-O-glucoside* sebagai senyawa utama yang memiliki nilai ΔG sebesar -8,2 kkal/mol. Interaksi ikatan kimia dan residu asam amino yang terbentuk yaitu meliputi ikatan hidrogen konvensional (CYS 145, GLN 189, MET 165, THR 25, THR 26), ikatan hidrogen karbon (HIS 41), dan Pi-sulfur (CYS 145). Terdapat kesamaan residu asam amino antara *ikonnikoside I* dengan senyawa utama *Skullcapflavone I 2'-O-glucoside* yaitu CYS 145, GLN 189, MET 165, THR 25, dan HIS 41 pada ikatan yang sama yaitu ikatan hidrogen konvensional dan ikatan karbon hidrogen.

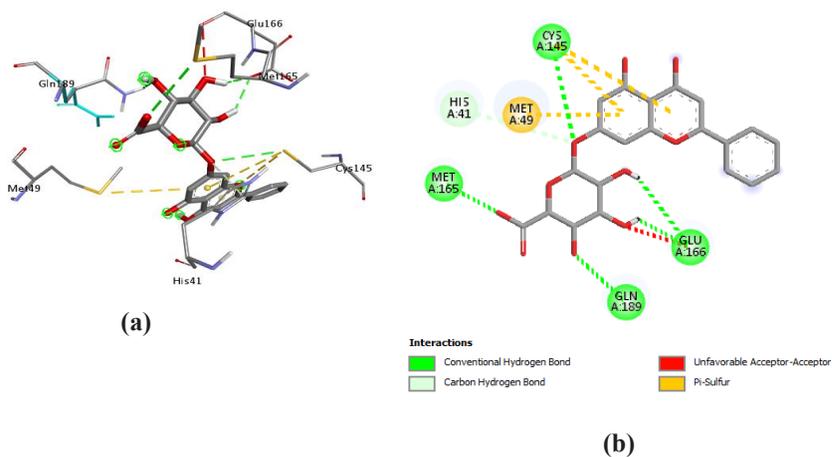


Gambar VII. 55 Visualisasi struktur 3D (a) dan 2D (b) residu asam amino dan interaksi ikatan kimia pada penambatan senyawa Ikonnikoside I terhadap reseptor ID PDB 7DPU

Ikonnikoside I merupakan senyawa alami yang ditemukan di *Scutellaria lateriflora*. (Pubchem, 2022) Hasil studi literatur mengenai senyawa tersebut, belum ditemukan penelitian yang menjelaskan terkait aktivitas antivirus dari senyawa tersebut. Tetapi, berdasarkan hasil *screening* aktivitas antivirus melalui *website PASS-Online*, *Ikonnikoside I* menunjukkan hasil prediksi nilai P_a 0,725, dimana nilai $P_a > 0,7$ menunjukkan bahwa kemungkinan senyawa tersebut secara eksperimental mempunyai aktivitas biologi tinggi dan memiliki tingkat kemiripan yang tinggi dengan senyawa obat pada kondisi bioaktivitas sama. Hasil *screening* aktivitas antivirus tersebut berbanding lurus dengan hasil hasil penambatan molekuler (*docking*) yang menyebutkan bahwa senyawa *Ikonnikoside I* memiliki nilai ΔG yang lebih rendah daripada senyawa utama yang menunjukkan bahwa senyawa similar memiliki nilai afinitas ikatan yang lebih rendah dan cenderung lebih stabil saat berinteraksi dengan reseptor.



Gambar VII. 56 Struktur Skullcapflavone I 2'-O-glucoside (a) dan struktur Ikonnikoside I (b) (Pubchem, 2022)

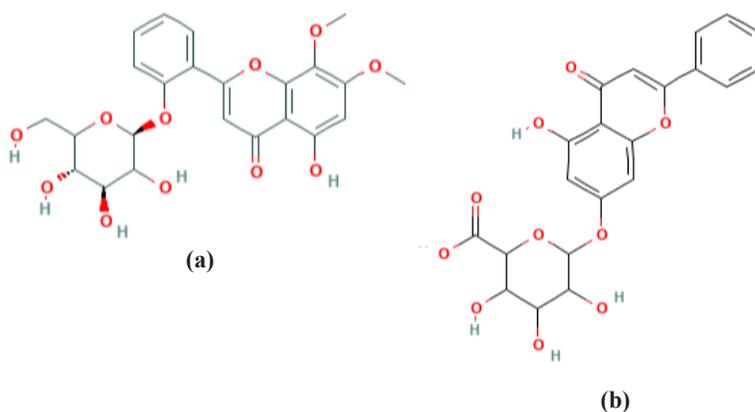


Gambar VII. 57 Visualisasi struktur 3D (a) dan 2D (b) residu asam amino dan interaksi ikatan kimia pada penambatan senyawa Chrysin-7-O-glucuronide terhadap reseptor ID PDB 7DPU

Pencarian senyawa similar selanjutnya dilakukan pada senyawa terbaik ketiga hasil *docking* senyawa aktif tanaman sambiloto terhadap reseptor 7DPU yaitu *5,4'-Dihidroxy-7,8,2',3'-tetramethoxy flavone 5-glucoside*. Hasil pencarian, didapatkan lima senyawa similar berdasarkan nilai

similaritas (*tanimoto score*) terdiri dari *echioidinin 5-O-glucoside*, *Chrysin-7-O-glucoronide*, *andrographidine C*, *persicoside*, dan *chrysin glucoside*. Senyawa similar tersebut dilakukan penambatan terhadap reseptor 7DPU, dan didapatkan hasil bahwa *Chrysin-7-O-glucoronide* mempunyai nilai ΔG paling rendah dibandingkan senyawa similarnya lainnya dengan nilai ΔG sebesar -8,3 kkal/mol. Dari hasil tersebut jika dibandingkan dengan nilai ΔG senyawa utama, *Chrysin-7-O-glucoronide* menunjukkan nilai ΔG yang lebih rendah dari senyawa utama yang memiliki nilai ΔG sebesar -8,1 menunjukkan bahwa senyawa similar memiliki afinitas ikatan yang lebih rendah dan cenderung lebih stabil saat berinteraksi dengan reseptor. Hasil analisis interaksi ikatan kimia dan residu asam amino yang terbentuk meliputi ikatan hidrogen konvensional (CYS 145, MET 165, GLN 189, GLU 166), ikatan hidrogen karbon (HIS 41), Pi-sulfur (MET 49, CYS 45), dan *unfavorable acceptor-acceptor* (GLU 166). Residu asam amino senyawa *Chrysin-7-O-glucoronide* dengan senyawa utama *5,4'-Dihidroxy-7,8,2',3'-tetramethoxy flavone 5-glucoside* yaitu memiliki kesamaan pada residu asam amino CYS 145, MET 165, MET 49, GLN 189, GLU 166 dan HIS 41.

Chrysin-7-O-glucoronide merupakan bagian dari flavonoid dan asam glukosiduronat. (Pubchem, 2022) Berdasarkan pencarian studi literatur, belum ditemukan penelitian mengenai aktivitas antivirus dari senyawa tersebut. Hasil *screening* aktivitas antivirus terhadap senyawa *Chrysin-7-O-glucoronide*, didapatkan hasil prediksi nilai P_a sebesar 0,755, dimana jika nilai $P_a > 0,7$ menandakan bahwa kemungkinan senyawa tersebut secara eksperimental mempunyai aktivitas biologi tinggi dan memiliki tingkat kemiripan yang tinggi dengan senyawa obat pada kondisi bioaktivitas sama. Hasil *screening* aktivitas antivirus tersebut berbanding lurus dengan hasil hasil penambatan molekuler (*docking*) yang menyebutkan bahwa senyawa *Chrysin-7-O-glucoronide* memiliki nilai ΔG yang lebih rendah daripada senyawa *5,4'-Dihidroxy-7,8,2',3'-tetramethoxy flavone 5-glucoside* sebagai senyawa utama yang menunjukkan bahwa senyawa similar memiliki nilai afinitas ikatan yang lebih rendah cenderung lebih stabil.



Gambar VII. 58 Struktur 5,4'-Dihidroxy-7,8,2',3'-tetramethoxy flavone 5-glucoside (a) dan struktur Chrysin-7-O-glucoronide (b) (Pubchem, 2022)

Hasil analisis secara keseluruhan dari hasil penambatan molekuler (*molecular docking*) senyawa similar dari senyawa uji tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap empat reseptor *main protease* SARS-CoV-2 ID PDB 7SI9, 7RN4, 7NG6, dan 7DPU, didapatkan hasil pada tiga reseptor yaitu 7SI9, 7RN4, dan 7NG6 menunjukkan hasil bahwa tidak ada senyawa similar yang memiliki nilai ΔG yang lebih rendah daripada senyawa uji. Sedangkan, pada reseptor 7DPU senyawa *Ikonnikoside I* menunjukkan nilai ΔG yang lebih rendah daripada senyawa *Skullcapflavone I 2'-O-glucoside* sebagai senyawa utama dan *Chrysin-7-O-glucoronide* memiliki nilai ΔG yang lebih rendah dari senyawa utama 5,4'-Dihidroxy-7,8,2',3'-tetramethoxy flavone 5-glucoside saat ditambatkan terhadap reseptor 7DPU. Nilai ΔG yang semakin rendah menunjukkan afinitas ikatan yang semakin kuat dan stabil.

C. Simulasi Dinamika Molekuler (*Molecular Dynamic*)

Simulasi dinamika molekuler (*molecular dynamic*) ini dilakukan terhadap senyawa terbaik hasil *docking*, *native ligand*, dan *ligand* pembanding dengan reseptor target hasil preparasi *docking* sebelumnya dengan tujuan untuk

mengamati kestabilan interaksi yang terjadi antara reseptor dengan ligand uji pada kondisi fisiologis tubuh dalam rentang waktu tertentu. (Muttaqin, 2019) Simulasi MD ini dilakukan pada GPU *online* menggunakan *software Open MM* dengan bantuan *Google colab* yang sudah ditautkan dengan *Google drive*.

Simulasi dinamika molekuler (MD) diawali dengan melakukan pengubahan *runtime* menjadi GPU, lalu instalasi *packages* atau aplikasi utama yang dibutuhkan pada proses simulasi MD yang dilanjutkan dengan penautan antara *google colab* dengan *google drive* agar terhubung serta pengecekan sistem dengan memasukan perintah pada kolom kode sel di *google colab*. Lalu, buat folder khusus dan *upload* protein serta ligan yang akan digunakan untuk simulasi MD di *google drive* sehingga proses MD dapat berlangsung dan hasil proses nantinya akan tersimpan otomatis pada folder tersebut.

Setelah dilakukan pengaturan, tahap selanjutnya yaitu pembuatan topologi dengan pemberian medan gaya (*force field*) *ff19sb* pada ligand uji dan GAFF2 (*General Amber Force Field 2*) pada protein. Setelah itu, dilakukan tahap solvasi dengan melarutkan kompleks ligand – reseptor dalam model TIP3 air dengan *box type* kubik. Selanjutnya, tahap netralisasi yaitu membuat sistem menjadi netral dengan penambahan ion, dimana dalam penelitian ini digunakan ion Na^+ dan ion Cl^- dengan konsentrasi 0,15. Kemudian dilanjutkan dengan tahap minimasi yang bertujuan untuk meminimasi efek sterik yang muncul dari struktur dengan energi tinggi dan menghindari terjadinya kontak ikatan yang tidak sesuai. Tahap equilibrasi dilakukan untuk menstabilkan sistem sehingga dalam kondisi volume, tekanan, dan suhu yang konstan. Setelah tahap equilibrasi selesai dilakukan, kemudian dilakukan tahap produksi yang menandakan bahwa proses simulasi dinamika molekuler (MD) dimulai. (Muttaqin, 2019) Pada penelitian ini, dilakukan simulasi dinamika molekuler (MD) yang dijalankan selama 1 ns pada suhu (T) 310K atau 36,8°C. Setelah proses *running* tahap produksi selesai, kemudian dilakukan analisis terhadap hasil simulasi dinamika molekuler yang meliputi parameter RMSD (*Root Mean*

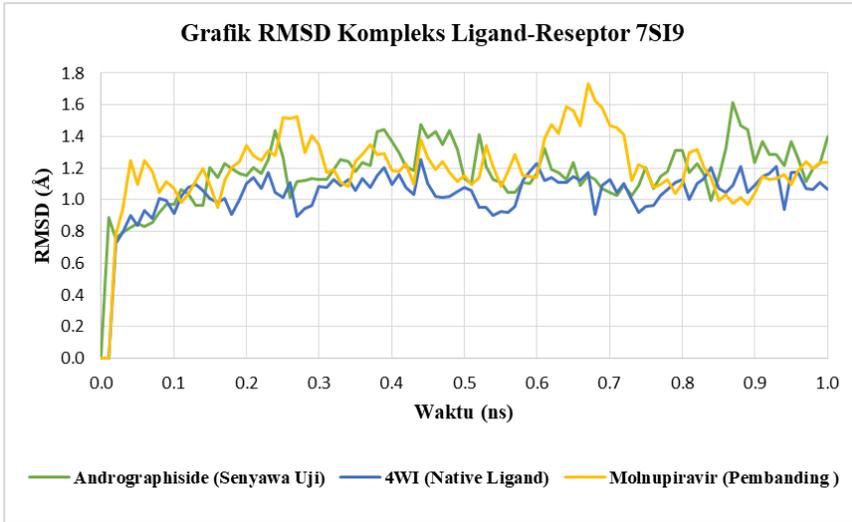
Square Deviation) dan RMSF (*Root Mean Square Fluctuation*) dengan membandingkan antara hasil simulasi dinamika molekuler senyawa uji, *native ligand*, dan ligand pembanding yang digunakan.

Adanya keterbatasan pada penggunaan *software OpenMM* dengan bantuan *google colab* seperti waktu penggunaan dan kekuatan GPU, beberapa senyawa terbaik yang memiliki nilai ΔG paling rendah tidak bisa dilakukan proses simulasi dinamika molekuler (*molecular dynamic*) termasuk senyawa *Bisandrographolide C* dan *Bisandrographolide B* yang merupakan senyawa terbaik pertama dan kedua hasil penambatan terhadap beberapa reseptor dikarenakan berbagai faktor kesalahan seperti kesalahan dalam pembuatan topologi yang menyebabkan proses simulasi dinamika molekuler tidak bisa dilakukan. Selain itu, agar proses simulasi dinamika molekuler ini berjalan dengan baik dibutuhkan koneksi internet yang sangat stabil, sehingga proses simulasi dinamika molekuler (*molecular dynamic*) dilakukan pada senyawa terbaik lainnya yang bisa dilakukan simulasi dinamika molekuler menggunakan *software* ini yaitu *andrographiside*, *14-Deoxy-11-oxoandrographolide* dan *Skullcapflavone I 2'-O-glucoside*. Perlu dilakukan simulasi dinamika molekuler (*molecular dynamic*) menggunakan *software* dan perangkat khusus yang memadai sesuai dengan kebutuhan agar didapatkan hasil yang lebih akurat dan komprehensif.

Analisis terhadap hasil RMSD (*Root Mean Square Deviation*) bertujuan untuk membandingkan terkait perubahan atau pergeseran yang terjadi pada konformasi molekul selama proses simulasi dinamika molekuler berlangsung. (Mardianingrum *et al.*, 2021) RMSD merupakan nilai penyimpangan yang menggambarkan perbandingan antara konformasi ligand-reseptor saat proses simulasi MD berlangsung dengan konformasi ligand-reseptor awal. (Dermawan, Sumirtanurdin and Dewantisari, 2019) Ikatan ligan dengan reseptor dikatakan stabil dan memenuhi syarat apabila nilai rata-rata RMSD $< 2 \text{ \AA}$ (Liu and Kokubo, 2017). Terjadinya peningkatan nilai RMSD menunjukkan bahwa struktur protein atau target mulai terbuka dan ligand mulai mencari koordinat sisi ikatan yang sesuai

dengan targetnya. Adanya peningkatan fluktuasi nilai RMSD yang terlalu tinggi menandakan bahwa terdapat ikatan dari protein atau reseptor yang terlepas, sehingga dapat terjadinya denaturasi pada protein.

Hasil grafik nilai RMSD dari kompleks ligand uji terhadap reseptor 7SI9 ditunjukkan pada gambar VII.59 :

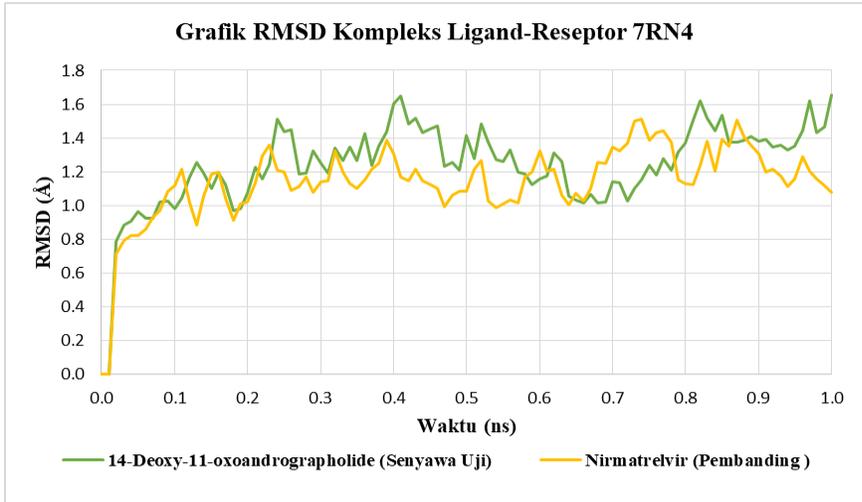


Gambar VII. 59 Grafik nilai RMSD kompleks ligand-reseptor 7SI9

Berdasarkan gambar VII.59 yang menunjukkan grafik nilai RMSD kompleks ligand uji terhadap reseptor 7SI9 hasil simulasi dinamika molekuler selama 1 ns, diperoleh hasil bahwa pada ligand uji *andrographiside* memiliki rata-rata fluktuasi nilai RMSD yang dihasilkan yaitu 1,2 Å dengan fluktuasi tertinggi sebesar 1,61 Å. Pada *native ligand* (4WI) rata – rata nilai fluktuasi RMSD yang dihasilkan yaitu 1,03 Å dengan nilai RMSD tertinggi yang dicapai sebesar 1,25 Å pada waktu 0,87 ns. Pada ligand pembanding molnupiravir, menunjukkan nilai rata – rata fluktuasi RMSD yaitu 1,2 Å dengan nilai tertinggi yang dicapai sebesar 1,73 Å pada waktu 0,67 ns. Hasil analisis tersebut menunjukkan bahwa ligand uji *andrographiside*, *native ligand*, dan ligand pembanding diprediksi memiliki interaksi stabil ketika berikatan dengan reseptor 7SI9 pada waktu simulasi selama 1 ns. Untuk mendapatkan hasil yang lebih akurat dan menyeluruh serta membuktikan hasil yang didapatkan perlu

dilakukan analisis lebih lanjut tentang kestabilan ikatan yang terjadi antara kompleks ligand-reseptor serta penambahan waktu simulasi dinamika molekuler yang lebih lama.

Hasil grafik nilai RMSD dari kompleks ligand uji terhadap reseptor 7RN4 ditunjukkan pada gambar VII.60 :

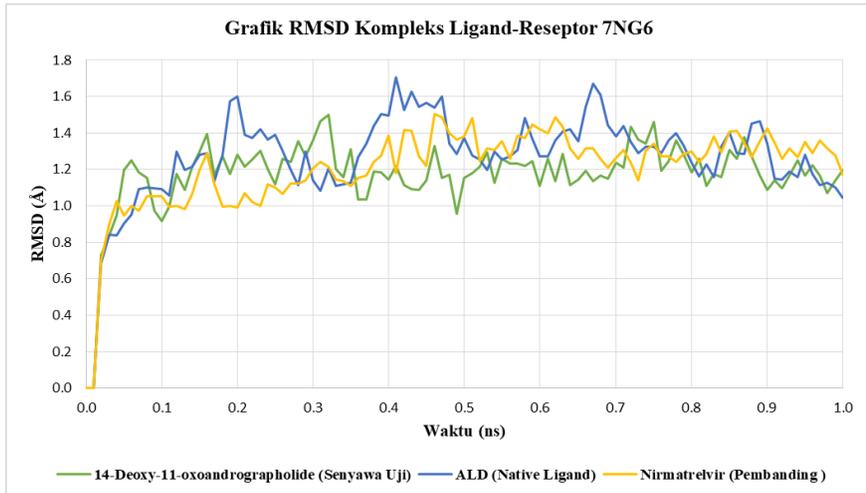


Gambar VII. 60 Grafik nilai RMSD kompleks ligand-reseptor 7RN4

Berdasarkan gambar VII.60 yang menunjukkan grafik nilai RMSD kompleks ligand uji terhadap reseptor 7RN4 hasil simulasi dinamika molekuler selama 1 ns, diperoleh hasil bahwa pada kompleks ligand-reseptor 7RN4 hanya dilakukan pada ligand uji *14-Deoxy-11-oxoandrographolide* dan ligand pembanding nirmatrelvir saja. Hal tersebut dikarenakan pada saat proses pembuatan topologi, *native ligand* yang terkompleks pada 7RN4 mengalami kesalahan sehingga proses simulasi dinamika molekuler pada *native ligand* tersebut tidak bisa dilakukan. Pada ligand uji *14-Deoxy-11-oxoandrographolide* dihasilkan nilai rata-rata RMSD sebesar 1,24 Å dengan fluktuasi tertinggi sebesar 1,66 Å pada akhir proses simulasi. Sedangkan pada ligand pembanding nirmatrelvir, didapatkan nilai rata-rata RMSD yang dihasilkan sebesar 1,14 Å dengan fluktuasi tertinggi yang dicapai sebesar 1,51 Å pada waktu 0,74 dan 0,87 ns. Hasil analisis tersebut menunjukkan bahwa ligand uji *14-Deoxy-11-oxoandrographolide* dan

ligand pembanding diprediksi memiliki interaksi stabil ketika berikatan dengan reseptor 7RN4 pada waktu simulasi selama 1 ns. Dari hasil yang didapatkan, perlu dilakukan analisis lebih lanjut untuk membuktikan hasil kestabilan ikatan yang terjadi antara kompleks ligand-reseptor serta penambahan waktu simulasi dinamika molekuler yang lebih lama.

Hasil grafik nilai RMSD dari kompleks ligand uji terhadap reseptor 7NG6 ditunjukkan pada gambar VII.61 :

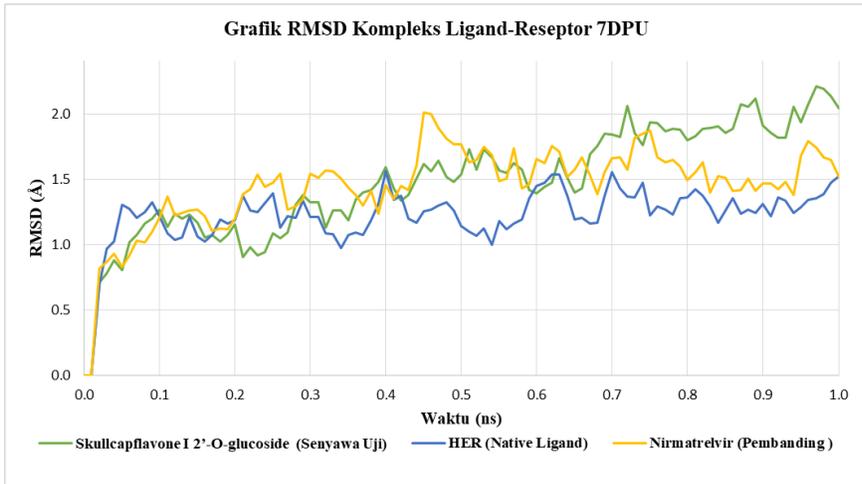


Gambar VII. 61 Grafik nilai RMSD kompleks ligand-reseptor 7NG6

Berdasarkan gambar VII.61 yang menunjukkan grafik nilai RMSD kompleks ligand uji terhadap reseptor 7NG6 hasil simulasi dinamika molekuler selama 1 ns, diperoleh hasil bahwa pada pada ligand uji *14-Deoxy-11-oxoandrographolide* dihasilkan rata-rata nilai RMSD sebesar 1,17 Å dengan fluktuasi tertinggi sebesar 1,50 Å pada waktu 0,32 ns. Pada *native ligand* (ALD) didapatkan rata-rata nilai fluktuasi RMSD yaitu 1,26 Å dengan nilai RMSD tertinggi yang dicapai sebesar 1,7 Å pada waktu 0,41 ns. Pada ligand pembanding nirmatrelvir, dihasilkan nilai rata-rata fluktuasi RMSD yaitu 1,21 Å. Nilai tertinggi yang dicapai sebesar 1,50 Å pada waktu 0,32 ns. Hasil analisis tersebut menunjukkan bahwa ligand uji *14-Deoxy-11-oxoandrographolide*, *native ligand*, dan ligand pembanding diprediksi memiliki interaksi stabil ketika berikatan dengan reseptor 7NG6

pada waktu simulasi selama 1 ns.. Untuk mendapatkan hasil yang lebih akurat dan menyeluruh serta membuktikan hasil yang didapatkan perlu dilakukan analisis lebih lanjut tentang kestabilan ikatan yang terjadi antara kompleks ligand-reseptor serta penambahan waktu simulasi dinamika molekuler yang lebih lama.

Hasil grafik nilai RMSD dari kompleks ligand uji terhadap reseptor 7DPU ditunjukkan pada gambar VII.62 :



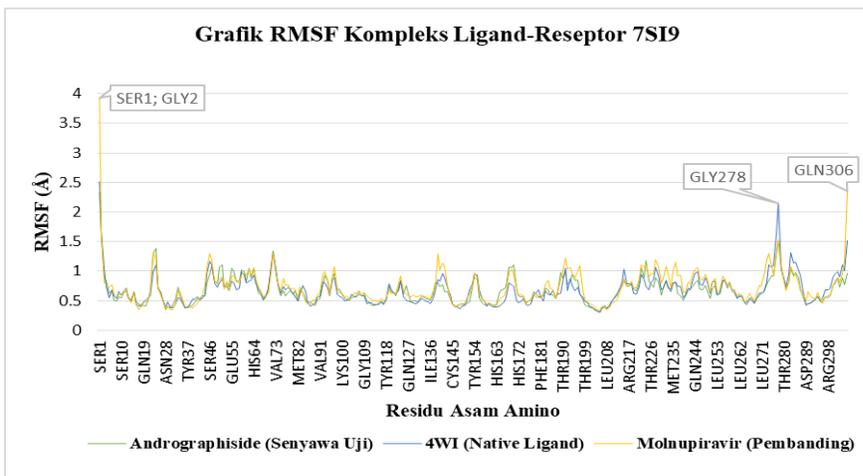
Gambar VII. 62 Grafik nilai RMSD kompleks ligand-reseptor 7DPU

Berdasarkan gambar VII.62 yang menunjukkan grafik nilai RMSD kompleks ligand uji terhadap reseptor 7DPU hasil simulasi dinamika molekuler selama 1 ns, diperoleh hasil bahwa pada ligand uji *Skullcapflavone I 2'-O-glucoside* didapatkan rata-rata fluktuasi nilai RMSD yaitu 1,48 Å dengan fluktuasi RMSD tertinggi sebesar 2,21 Å pada waktu 0,97 ns. Pada *native ligand* (HER) dihasilkan rata-rata nilai fluktuasi RMSD yaitu 1,22 Å dengan nilai RMSD tertinggi yang dicapai sebesar 1,56 Å pada waktu 0,40 ns. Pada ligand pembanding nirmatrelvir, didapatkan nilai rata-rata fluktuasi RMSD yaitu 1,44 Å dengan nilai tertinggi yang dicapai sebesar 2,01 Å pada waktu 0,45 ns. Hasil analisis tersebut menunjukkan bahwa ligand uji *Skullcapflavone I 2'-O-glucoside* diprediksi memiliki interaksi yang tidak lebih stabil dari *native ligand* dan ligand pembanding

nirmatrelvir. Untuk mendapatkan hasil yang lebih akurat dan menyeluruh serta membuktikan hasil yang didapatkan perlu dilakukan analisis lebih lanjut tentang kestabilan ikatan yang terjadi antara kompleks ligand-reseptor serta penambahan waktu simulasi dinamika molekuler yang lebih lama.

Dalam analisis hasil simulasi dinamika molekuler, selain nilai RMSD dilakukan juga analisis terhadap nilai RMSF. RMSF (*Root Mean Square Fluctuation*) merupakan sebuah parameter hasil simulasi MD yang menggambarkan terkait fleksibilitas residu asam amino selama proses simulasi dinamika molekuler berlangsung. Hasil residu dengan fluktuasi yang rendah menggambarkan bahwa residu tersebut tidak memberikan fluktuasi yang tinggi sehingga dapat disebutkan bahwa residu tersebut mempunyai ikatan atau interaksi yang stabil dan aktif berperan pada situs pengikatan ligand dan reseptor. Sedangkan, pada hasil residu yang memiliki fluktuasi tinggi menggambarkan bahwa residu tersebut mempunyai fluktuasi yang tinggi sehingga dapat disebutkan bahwa residu tersebut mempunyai interaksi yang tidak stabil akibat terjadinya banyak perubahan posisi saat proses simulasi dinamika molekuler berlangsung. (Mardianingrum *et al.*, 2021)

Hasil grafik nilai RMSF dari kompleks ligand uji terhadap reseptor 7SI9 ditunjukkan pada gambar VII.63 :



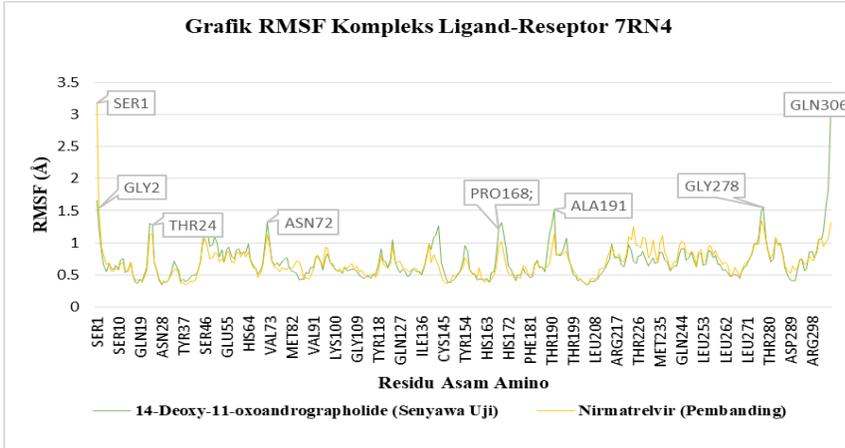
Gambar VII. 63 Grafik nilai RMSF kompleks ligand-reseptor 7SI9

Berdasarkan gambar VII.63 yang menunjukkan grafik nilai RMSF kompleks ligand uji terhadap reseptor 7SI9 hasil simulasi dinamika molekuler selama 1 ns, diperoleh hasil bahwa pada ligand uji *andrographiside* residu yang mengalami fluktuasi tinggi yaitu SER 1, GLY 2, dan GLY 278. Pada *native ligand* (4WI) residu yang mengalami fluktuasi tinggi yaitu pada residu SER 1, GLY 2, GLY 278, dan GLN 306. Pada ligand pembanding molnupiravir residu yang mengalami fluktuasi tinggi terjadi pada residu SER 1, GLY 2, dan GLN 306. Dari hasil analisis, menunjukkan bahwa residu asam amino yang mempunyai fluktuasi tinggi diprediksikan memiliki ikatan yang tidak stabil dan tidak aktif dalam situs pengikatan.

Residu asam amino yang mengalami fluktuasi rendah pada kompleks ligand uji *andrographiside* terhadap reseptor 7SI9 yaitu residu asam amino LEU 205. Pada *native ligand* (4WI) residu asam amino yang mengalami fluktuasi rendah yaitu LEU 205, sedangkan pada ligand pembanding molnupiravir residu yang mengalami fluktuasi rendah yaitu LEU 205. Hasil yang menunjukkan residu asam amino dengan fluktuasi rendah yang terjadi pada kompleks ligand uji *andrographiside*, *native ligand* (4WI), dan ligand pembanding molnupiravir terhadap reseptor 7SI9

diprediksi memiliki interaksi yang stabil dan berperan aktif pada daerah pengikatana tersebut.

Hasil grafik nilai RMSF dari kompleks ligand uji terhadap reseptor 7RN4 ditunjukkan pada gambar VII.64 :



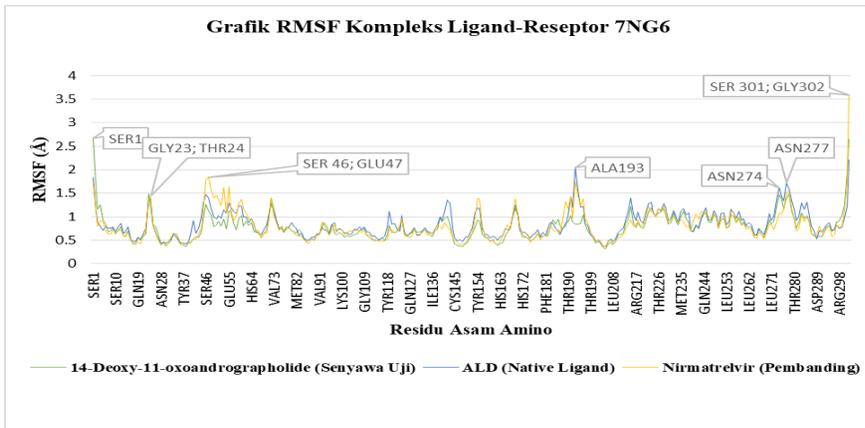
Gambar VII. 64 Grafik nilai RMSF kompleks ligand reseptor 7RN4

Berdasarkan gambar VII.64 yang menunjukkan grafik nilai RMSF kompleks ligand uji terhadap reseptor 7RN4 hasil simulasi dinamika molekuler selama 1 ns. Dalam simulasi dinamika molekuler pada kompleks ligand-reseptor 7RN4 hanya dilakukan pada ligand uji *14-Deoxy-11-oxoandrographolide* dan ligand pembanding nirmatrelvir saja. Hal tersebut dikarenakan pada saat proses pembuatan topologi, *native ligand* yang terkompleks pada 7RN4 mengalami kesalahan dengan keterangan yang menyebutkan bahwa *native ligand* tersebut tidak mengandung atom kiral sehingga tidak bisa dilakukan proses selanjutnya dan proses simulasi dinamika molekuler pada *native ligand* tersebut tidak bisa dilakukan. Diperoleh hasil bahwa pada ligand uji *14-Deoxy-11-oxoandrographolide* residu yang mengalami fluktuasi tinggi hanya pada residu SER 1, THR 24, ASN 72, PRO 168, ALA 191, GLY 278, GLN 306. Sedangkan pada ligand pembanding nirmatrelvir residu yang mengalami fluktuasi tinggi terjadi pada residu SER 1, GLY 2, THR 24. Dari hasil analisis, menunjukkan

bahwa residu asam amino yang mempunyai fluktuasi tinggi diprediksi memiliki ikatan yang tidak stabil dan tidak aktif dalam situs pengikatan.

Residu asam amino yang mengalami fluktuasi rendah pada kompleks ligand uji *14-Deoxy-11-oxoandrographolide* terhadap reseptor 7RN4 yaitu residu asam amino LEU 205 dan ASN 28. Sedangkan pada ligand pembanding nirmatrelvir residu yang mengalami fluktuasi rendah yaitu LEU 205. Residu asam amino dengan fluktuasi rendah yang terjadi pada kompleks ligand uji *14-Deoxy-11-oxoandrographolide*, dan ligand pembanding nirmatrelvir terhadap reseptor 7RN4 diprediksi memiliki interaksi yang stabil dan berperan aktif pada daerah pengikatana tersebut.

Hasil grafik nilai RMSF dari kompleks ligand uji terhadap reseptor 7NG6 ditunjukkan pada gambar VII.65 :



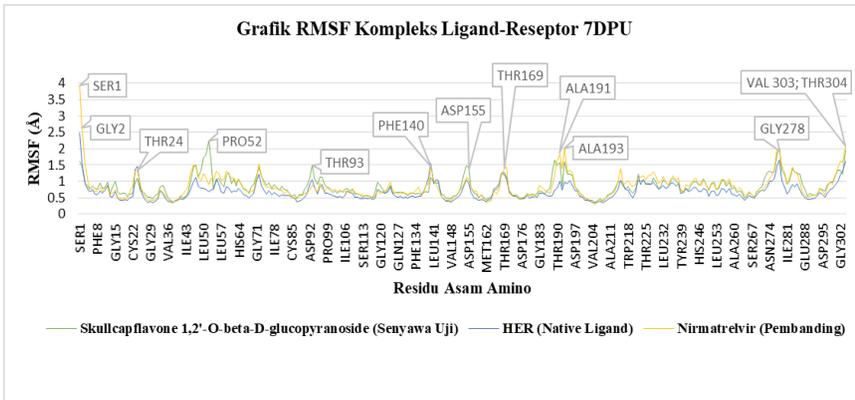
Gambar VII. 65 Grafik nilai RMSF kompleks ligand-reseptor 7NG6

Berdasarkan gambar VII.65 yang menunjukkan grafik nilai RMSF kompleks ligand uji terhadap reseptor 7NG6 hasil simulasi dinamika molekuler selama 1 ns, diperoleh hasil bahwa pada ligand uji *14-Deoxy-11-oxoandrographolide* residu yang mengalami fluktuasi tinggi yaitu SER 1, GLY 23, THR 24, dan GLY 302. Pada *native ligand* (ALD) residu yang mengalami fluktuasi tinggi yaitu pada residu SER 1, THR 24, GLU 47, ASN 274, ALA 193, GLY 302, dan ASN 277. Sedangkan, pada ligand pembanding nirmatrelvir residu yang mengalami fluktuasi tinggi terjadi pada residu SER 46, SER 1, SER 301, GLY 302, dan GLU47. Dari hasil

analisis, residu asam amino dengan fluktuasi tinggi diprediksi memiliki ikatan yang tidak stabil dan tidak aktif dalam situs pengikatan.

Residu asam amino yang mengalami fluktuasi rendah pada kompleks ligand uji *14-Deoxy-11-oxoandrographolide* terhadap reseptor 7NG6 yaitu residu asam amino LEU 205. Pada *native ligand* (ALD) yang mengalami fluktuasi rendah yaitu residu LEU 205. Sedangkan pada ligand pembanding nirmatrelvir residu yang mengalami fluktuasi rendah yaitu LEU 205. Residu asam amino dengan fluktuasi rendah yang terjadi pada kompleks ligand uji *14-Deoxy-11-oxoandrographolide*, *native ligand* (ALD), dan ligand pembanding nirmatrelvir terhadap reseptor 7NG6 diprediksi memiliki interaksi yang stabil dan berperan aktif pada daerah pengikatana tersebut.

Hasil grafik nilai RMSF dari kompleks ligand uji terhadap reseptor 7DPU ditunjukkan pada gambar VII.66 :



Gambar VII. 66 Grafik nilai RMSF kompleks ligand-reseptor 7DPU

Berdasarkan gambar V.66 yang menunjukkan grafik nilai RMSF kompleks ligand uji terhadap reseptor 7DPU hasil simulasi dinamika molekuler selama 1 ns, diperoleh hasil bahwa pada ligand uji *Skullcapflavone 1,2'-O-glucoside* residu yang mengalami fluktuasi tinggi yaitu SER 1, PRO 52, ASP 155, THR 24, THR 93, dan VAL 303. Pada *native ligand* (HER) residu yang mengalami fluktuasi tinggi yaitu pada residu SER 1, THR 24, GLY 278, dan VAL 303. Sedangkan, pada ligand pembanding nirmatrelvir

residu yang mengalami fluktuasi tinggi terjadi pada residu SER1, GLY 2, THR 24, ALA 193, PHE 140, ALA 191, THR 169, VAL 303, dan THR 304. Dari hasil analisis, residu asam amino dengan fluktuasi tinggi diprediksi memiliki ikatan yang tidak stabil dan tidak aktif dalam situs pengikatan.

Residu asam amino yang mengalami fluktuasi rendah pada kompleks ligand uji *Skullcapflavone I 2'-O-glucoside* terhadap reseptor 7DPU yaitu residu asam amino LEU 205. Pada *native ligand* (HER) yang mengalami fluktuasi rendah yaitu residu LEU 205 dan TYR 37. Sedangkan pada ligand pembanding nirmatrelvir residu yang mengalami fluktuasi rendah yaitu LEU 205. Residu asam amino dengan fluktuasi rendah yang terjadi pada kompleks ligand uji *Skullcapflavone I 2'-O-glucoside*, *native ligand* (HER), dan ligand pembanding nirmatrelvir terhadap reseptor 7DPU diprediksi memiliki interaksi yang stabil dan berperan aktif pada daerah pengikatana tersebut.

D. Prediksi Druglikeness (*Lipinski's Rule of Five*)

Prediksi *druglikeness* atau analisis fisikokimia dilakukan untuk melihat berbagai parameter berdasarkan kesesuaian senyawa uji dengan aturan *Lipinski's Rule of Five* secara *online* melalui *website* (<http://www.scfbio-iiitd.res.in/software/drugdesign/lipinski.jsp>). Prediksi ini didasarkan oleh berbagai parameter sifat fisikokimia obat seara oral, karena berhubungan dengan proses absorpsi dan distribusi dari suatu obat. Aturan *Lipinski's Rule of Five* merupakan sebuah aturan yang harus diikuti untuk menjadikan suatu obat memiliki kriteria yang baik. Parameter dari aturan *Lipinski's Rule of Five* yaitu meliputi berat molekul (BM) <500 g/mol; nilai koefisien partisi (Log P) <5; donor ikatan hidrogen <5; dan akseptor ikatan hidrogen <10. (Mardianingrum *et al.*, 2021)

Berat molekul berpengaruh terhadap kemampuan suatu senyawa dalam menembus membran biologis karena berhubungan dengan distribusi obat melalui proses difusi. Senyawa yang memiliki berat molekul lebih dari 500 g/mol akan sulit dalam menembus membran biologis sehingga proses absorpsinya akan membutuhkan waktu yang

lama. Sedangkan senyawa yang memiliki berat molekul lebih rendah akan mudah dalam menembus membran biologis dan berikatan dengan reseptor. (Mardianingrum *et al.*, 2021)

Nilai koefisien partisi (Log P) berkaitan dengan sifat hidrofobisitas atau lipofilisitas dari suatu senyawa. Semakin besar nilai log P (Log P > 5) maka senyawa akan semakin bersifat hidrofobik, yang menyebabkan senyawa tersebut cenderung memiliki toksisitas yang lebih tinggi dan berkurangnya selektivitas ikatan terhadap enzim target karena senyawa akan lebih lama berada di lapisan lipid bilayer dan terdistribusi secara lebih luas di dalam tubuh. Selain itu, nilai log P juga tidak boleh terlalu kecil atau bahkan negatif, karena dapat menyebabkan senyawa tidak dapat melewati membran lipid bilayer dan akan memungkinkan terjadinya suatu interaksi dengan pelarut air. (Mardianingrum *et al.*, 2021)

Donor dan akseptor ikatan hidrogen berhubungan dengan aktivitas biologis dari suatu senyawa, karena berkaitan juga dengan energi yang dibutuhkan untuk terjadinya proses absorpsi. Semakin banyak jumlah ikatan hidrogen pada donor dan akseptor, maka semakin tinggi pula energi yang dibutuhkan untuk terjadinya proses absorpsi. Dalam aturan *Lipinski's Rule of Five* jumlah donor ikatan hidrogen < 5 dan jumlah akseptor ikatan hidrogen < 10. (Mardianingrum *et al.*, 2021)

Tabel VII. 11 Hasil Prediksi *Druglikeness* Senyawa Aktif Tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata*)

No	Senyawa Aktif	BM (g/mol)	Log P	Donor Ikatan H	Akseptor Ikatan H	Keterangan
1	<i>Andrographolide</i>	350	1.96	3	5	Memenuhi
2	<i>Neoandrographolide</i>	480	1.85	4	8	Memenuhi
3	<i>Dihydroscullcap flavone I</i>	316	2.82	2	6	Memenuhi
4	<i>5-Hydroxy-7,2,6-trimethoxyflavone</i>	328	3.03	1	6	Memenuhi
5	<i>Paniculide C</i>	278	1.06	1	5	Memenuhi
6	<i>Paniculide B</i>	280	0.85	2	5	Memenuhi
7	<i>Paniculide A</i>	264	1.88	1	4	Memenuhi
8	<i>Andropanolide</i>	350	1.96	3	5	Memenuhi

Tabel VII. 11 Lanjutan

No	Senyawa Aktif	BM (g/mol)	Log P	Donor Ikatan H	Akseptor Ikatan H	Keterangan
9	<i>Isoandrographolide</i>	350	1.96	3	5	Memenuhi
10	<i>14-Acetylandrographolide</i>	392	2.53	2	6	Memenuhi
11	<i>5,7,2>,3>-Tetramethoxyflavanone</i>	334	3.43	0	6	Memenuhi
12	<i>14-Deoxy-17-hydroxyandrographolide</i>	352	2.04	3	5	Memenuhi
13	<i>7S-Hydroxy-14-deoxyandrographolide</i>	350	1.96	3	5	Memenuhi
14	<i>7R-Hydroxy-14-deoxyandrographolide</i>	350	1.96	3	5	Memenuhi
15	<i>12R,13R-Hydroxyandrographolide</i>	368	1.01	4	6	Memenuhi
16	<i>5-Hydroxy-3,7,8,2>-tetramethoxyflavone</i>	358	3.01	1	7	Memenuhi
17	<i>5-Hydroxy-7,8-dimethoxyflavanone</i>	300	3.12	1	5	Memenuhi
18	<i>5,4>-Dihidroxy-7,8,2>,3>-tetramethoxyflavone</i>	374	2.75	2	8	Memenuhi
19	<i>Caffeic acid</i>	180	1.19	3	4	Memenuhi
20	<i>Apigenin 7,4>-dimethyl ether</i>	298	3.026	1	5	Memenuhi
21	<i>Ferulic acid</i>	194	1.5	2	4	Memenuhi
22	<i>7-O-Methylwogonin</i>	298	3.03	1	5	Memenuhi
23	<i>14-Acetyl-3,19-isopropylideneandrographolide</i>	432	4.33	0	6	Memenuhi
24	<i>14-Deoxy-11,12-didehydroandrographolide</i>	332	2.77	2	4	Memenuhi
25	<i>Andrographic acid</i>	364	2.38	4	6	Memenuhi
26	<i>Cinnamic acid</i>	148	1.78	1	2	Memenuhi
27	<i>14-Deoxyandrographolide</i>	334	2.99	2	4	Memenuhi
28	<i>Andrograpanin</i>	318	4.02	1	3	Memenuhi
29	<i>12S,13S-Hydroxyandrographolide</i>	368	1.01	4	6	Memenuhi
30	<i>12S-Hydroxyandrographolide</i>	368	1.01	4	6	Memenuhi

Hasil prediksi *Druglikeness* berdasarkan kesesuaian aturan *Lipinski's Rule of Five* yang dilakukan secara *online* melalui *website* (<http://www.scfbio-iitd.res.in/software/drugdesign/lipinski.jsp>) terhadap 46 senyawa aktif tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*) dan 40 senyawa similar menunjukkan hasil bahwa 30 senyawa aktif dan 17 senyawa similar memenuhi persyaratan dengan kesesuaian aturan *Lipinski's Rule of Five*. Hal tersebut menunjukkan bahwa dalam proses pengembangan obat,

senyawa tersebut dapat dijadikan sebagai salah satu kandidat obat oral yang baik.

E. Prediksi Farmakokinetik dan Toksisitas

Prediksi farmakokinetik dan toksisitas dilakukan melalui situs *online Pre-ADMET* (<http://preadmet.bmdrc.org/>) yang bertujuan untuk memprediksi terkait profil farmakokinetika yang meliputi proses absorpsi berdasarkan parameter nilai *Human Intestinal Absorption* (HIA) dan permeabilitas sel *Human colon adenocarcinoma* (CaCO₂), distribusi berdasarkan parameter nilai *Protein Plasma Binding*, dan metabolisme berdasarkan parameter substrat CYP2D6 serta prediksi toksisitas berdasarkan parameter *ames toxicity* dan *carsinogenity*.

Dalam prediksi absorpsi obat, dikaji terkait parameter HIA (*Human Intestinal Absorption*) dan sel Caco-2 (*Human colon adenocarcinoma*). HIA (*Human Intestinal Absorption*) merupakan parameter yang digunakan untuk memprediksi kemampuan absorpsi obat yang terjadi di dalam usus. Hasil persentase nilai HIA merupakan jumlah bioavailabilitas dengan absorpsi hasil evaluasi rasio ekskresi melalui urine, empedu, dan feses dengan kategori hasil yaitu nilai HIA 0 – 20% (kurang terabsorpsi atau kategori rendah); 20 – 70 % (cukup terabsorpsi atau kategori sedang); 70 – 100% (terabsorpsi baik atau kategori baik). (Nursamsiar, Toding and Awaluddin, 2016), (I. R. Hartanti, A. A. Putri, N. N. Auliya AS, A. L. Triadenda, E. Laelasari, 2022) Hasil prediksi parameter HIA yang sudah dilakukan terhadap 46 senyawa aktif tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*) dan 40 senyawa similar didapatkan hasil bahwa sebanyak 38 senyawa aktif dan 19 senyawa similar mempunyai nilai HIA >70% yang menandakan bahwa senyawa tersebut diprediksi akan memiliki kemampuan absorpsi yang baik.

Parameter sel Caco-2 (*Human colon adenocarcinoma*) merupakan parameter lain dalam prediksi absorpsi obat yang merupakan kemampuan permeabilitas pada sel Caco-2 yang merupakan model *in vitro* untuk mengetahui terkait kemampuan perpindahan obat dengan jalur transportasi

ganda melalui sel epitel usus yang berasal dari adenocarcinoma usus besar manusia. (Nursamsiar, Toding and Awaluddin, 2016) Hasil parameter sel Caco-2 terdiri dari berbagai kategori kemampuan permeabilitas, diantaranya yaitu <4 nm/s menunjukkan kemampuan permeabilitas yang rendah; $4 - 70$ nm/s menunjukkan kemampuan permeabilitas yang sedang; dan >70 nm/s menunjukkan kemampuan permeabilitas senyawa yang tinggi. Parameter sel Caco-2 juga berhubungan dengan sifat lipofilisitas dan hidrofobisitas senyawa, dimana kemampuan permeabilitas yang diharapkan dari suatu senyawa yaitu permeabilitas sedang ($4 - 70$ nm/s) yang menyatakan bahwa senyawa tersebut ideal yang artinya tidak terlalu bersifat hidrofil atau lipofil. (I. R. Hartanti, A. A. Putri, N. N. Auliya AS, A. L. Triadenda, E. Laelasari, 2022) Hasil prediksi parameter sel Caco-2 terhadap 46 senyawa aktif tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*) dan 40 senyawa similar didapatkan hasil bahwa seluruh senyawa aktif dan 37 senyawa similar diprediksi memiliki kemampuan permeabilitas yang sedang sehingga dapat dengan mudah untuk menembus membran karena menunjukkan nilai sel Caco-2 antara $4 - 70$ nm/s.

Plasma Protein Binding (PPB) merupakan salah satu parameter yang digunakan dalam memprediksi kemampuan distribusi obat berdasarkan keterikatan senyawa dengan protein plasma. *Plasma Protein Binding* (PPB) merupakan fraksi obat dalam bentuk bebas untuk didistribusikan ke berbagai jaringan, yang hasilnya digambarkan dengan persentase kekuatan ikatan yang terbentuk terhadap protein plasma pada rentang $0 - 100\%$. (Prasetiawati *et al.*, 2021) Jika nilai %PPB $> 90\%$ menunjukkan bahwa senyawa terikat kuat pada protein dan apabila nilai %PPB $< 90\%$ menunjukkan bahwa senyawa berikatan lemah pada protein plasma. (I. R. Hartanti, A. A. Putri, N. N. Auliya AS, A. L. Triadenda, E. Laelasari, 2022) Ikatan kimia yang kuat pada obat atau bersifat *irreversible* seperti ikatan kovalen dapat menimbulkan terjadinya toksisitas obat yang dapat muncul dalam jangka waktu pendek ataupun panjang sehingga obat secara umum berikatan *reversible* karena terjadi ikatan kimia yang lemah seperti ikatan hidrogen dan *Van der Waals*. (Prasetiawati *et al.*, 2021) Berdasarkan hasil prediksi parameter *Plasma Protein Binding* (PPB) terhadap 46 senyawa

aktif tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*) dan 40 senyawa similar didapatkan hasil bahwa terdapat 29 senyawa aktif dan 24 senyawa similar memiliki nilai persentase PPB < 90% yang menandakan bahwa senyawa tersebut terikat lemah pada protein plasma. Hasil senyawa yang berikatan lemah dengan protein plasma menandakan bahwa senyawa tersebut akan terdistribusi baik di dalam tubuh dibandingkan dengan senyawa yang memiliki nilai persentase PPB > 90% karena terikat kuat dengan protein plasma.

Parameter substrat CYP-2D6 merupakan parameter untuk prediksi metabolisme berdasarkan sifat suatu senyawa sebagai inhibitor atau non inhibitor pada substrat CYP-2D6. CYP-2D6 merupakan enzim dengan jumlah terbanyak terdapat di hati dan tersebar di jaringan yang berperan dalam mediasi proses metabolisme senyawa antidepresan SSRI (*Selective Serotonin Re-uptake Inhibitor*). Hasil prediksi terhadap parameter substrat CYP-2D6 menunjukkan hasil bahwa seluruh senyawa aktif tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*) dan senyawa similar bersifat non-inhibitor terhadap substrat CYP-2D6 yang menandakan bahwa risiko interaksi obat yang akan terjadi jika bersamaan digunakan dengan obat golongan SSRI akan lebih rendah.

Hasil prediksi profil farmakokinetika yang sudah dilakukan terhadap 46 senyawa aktif tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*) dan 40 senyawa similar didapatkan hasil bahwa 21 senyawa aktif dan 3 senyawa similar menunjukkan hasil profil farmakokinetika yang baik meliputi absorpsi, distribusi, dan metabolisme.

Tabel VII. 12 Hasil Prediksi ADME Senyawa Aktif Tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata*)

No	Senyawa Aktif	Absorpsi		Distribusi	Metabolisme
		HIA (%)	CaCo-2 Cell (nm sec)	Protein Plasma Binding (%)	Substrat CYP2D6
1	Dihydroskullcap flavone I	92,98*	18,69**	89,2**	Non
2	5-Hydroxy-7,2,6-trimethoxyflavone	96,49*	46,5**	87,28**	Non
3	Paniculide C	92,4*	16,53**	74,19**	Non
4	Paniculide B	88,83*	16,43**	65,18**	Non
5	Paniculide A	94,84*	21,77**	81,2**	Non
6	Andrographidin A	77,28*	5,82**	62,81**	Non
7	14-Acetylandrographolide	92,69*	19,99**	86,8**	Non
8	5,7,2,3'-Tetramethoxyflavanone	98,54*	56,13**	87,25**	Non
9	12R,13R-Hydroxyandrographolide	74,62*	20,66**	77,08**	Non
10	5-Hydroxy-3,7,8,2-tetramethoxyflavone	96,81*	41,33**	80,54**	Non
11	Caffeic acid	82,3*	21,11**	40,29**	Non
12	Apigenin 7,4-dimethyl ether	95,99*	34,58**	88,96**	Non
13	Ferulic acid	90,6*	21,12**	50,41**	Non
14	7-O-Methylwogonin	90,6*	21,12**	50,41**	Non
15	5-Hydroxy-7,8-dimethoxyflavone 5-glucoside	80,18*	5,82**	64,61**	Non
16	5-Hydroxy-7,8,2-trimethoxyflavone 5-glucoside	77,08*	7,49**	59,28**	Non
17	5-Hydroxy-7,8,2,3-tetramethoxyflavone 5-glucoside	73,29*	7,33**	54,38**	Non
18	14-Acetyl-3,19-isopropylideneandrographolide	98,84*	47,67**	88,16**	Non
19	Cinnamic acid	97,85*	21,03**	60,85**	Non
20	12S,13S-Hydroxyandrographolide	74,62*	20,66**	77,08**	Non
21	12S-Hydroxyandrographolide	74,62*	20,66**	77,08**	Non

Keterangan :

HIA (%) :	CaCo-2 (nm sec) :	PPB (%) :
70-100 terserap baik (*)	>70 permeabilitas tinggi (*)	>90 terikat kuat (*)
20-70 terserap cukup (**)	4-70 permeabilitas sedang (**)	<90 terikat lemah (**)
<20 kurang terserap (***)	<4 permeabilitas rendah (***)	

Selain itu, dilakukan juga prediksi toksisitas terhadap senyawa uji berdasarkan parameter *ames toxicity* dan *carsinogenity* untuk melakukan prediksi terkait tingkat keamanan suatu senyawa berdasarkan toksisitasnya. Prediksi *ames toxicity* merupakan metode yang digunakan untuk mengetahui terkait sifat suatu senyawa uji berdasarkan sifat mutagenik dan karsinogenik sebagai *Frameshift Mutagen* dengan respon hasil mutagenik tergantung struktur kimia dari senyawa uji mutagen. (Prasetiawati *et al.*, 2021) Hasil positif *ames toxicity* menandakan bahwa senyawa tersebut bersifat mutagenik dan dapat juga bersifat karsinogenik sehingga perlu dilakukan juga prediksi terkait *carsinogenity*. Hasil prediksi toksisitas terhadap 46 senyawa aktif tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*) menunjukkan hasil bahwa 2 senyawa bersifat non mutagen – non karsinogen. Pada senyawa similar, dari 40 senyawa terdapat 7 senyawa bersifat non mutagen – non karsinogen. Untuk menghilangkan sifat mutagenik dari senyawa uji yang akan digunakan, diperlukan penelitian lebih lanjut dengan melakukan modifikasi pada struktur kimia senyawa yang bersifat mutagen.

Tabel VII. 13 Hasil Prediksi Toksisitas Senyawa Aktif Tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata*)

No	Senyawa Aktif	Toksisitas		
		Mutagen (<i>Ames Test</i>)	Karsinogenik	
			Mencit	Tikus
1	<i>Dihydroskullcap flavone I</i>	(-)	(-)	(-)
2	<i>Andrographidin A</i>	(-)	(-)	(-)



BAB VIII

KESIMPULAN DAN ALUR PENELITIAN SELANJUTNYA

A. Kesimpulan

Berdasarkan pencarian kandidat obat baru dari senyawa aktif tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*) dan senyawa similarnya sebagai anti SARS-CoV-2 yang telah dilakukan dengan metode *in silico*, didapatkan dari hasil simulasi *molecular docking* senyawa *Bisandrographolide C* menunjukkan nilai ΔG paling rendah secara berturut-turut dibandingkan dengan *native ligand* dan ligand pembanding pada keempat reseptor dan diduga berpotensi sebagai inhibitor *main protease* SARS-CoV-2. Sedangkan pada hasil docking senyawa similar, *Ikonnikoside I* dan *Chrysin-7-O-glucoronide* pada reseptor ID PDB 7DPU menunjukkan nilai ΔG yang lebih rendah dari senyawa utamanya dan diduga berpotensi memiliki aktivitas yang sama. Pada hasil simulasi dinamika molekuler (*molecular dynamic*) selama 1 ns, menunjukkan hasil bahwa senyawa *Andrographiside* pada kompleks ligand-reseptor 7SI9 dan *14-Deoxy-11-oxoandrographolide* pada kompleks ligand-reseptor 7RN4 dan 7NG6 menunjukkan interaksi yang stabil ketika berikatan dengan reseptor. Selain itu, untuk hasil analisis prediksi *druglikeness* terhadap senyawa aktif tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*) didapatkan sebanyak 30 senyawa aktif dan 17 senyawa similar memenuhi aturan *Lipinski's Rule of Five*. Pada hasil prediksi profil farmakokinetika meliputi absorpsi,

distribusi, metabolisme didapatkan hasil sebanyak 21 senyawa aktif dan 3 senyawa similar menunjukkan hasil ADME yang baik dengan hasil prediksi toksistas, terdapat 2 senyawa aktif dan 7 senyawa similar yang bersifat tidak mutagen dan tidak karsinogen.

B. Alur Penelitian Selanjutnya

Penelitian selanjutnya yang dapat dilakukan yaitu *uji in vitro* terhadap aktivitas anivirus SARS-CoV-2 serta pengembangan studi *in silico* lainnya dengan melakukan simulasi dinamika molekuler (*molecular dynamic*) pada waktu simulasi yang lebih lama menggunakan perangkat yang kompatibel untuk melihat kestabilan interaksi yang lebih akurat. Selain itu, dapat juga dilakukan sintesis dari senyawa aktif tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*) dan similarnya yang diprediksi berpotensi sebagai antivirus SARS-CoV-2 dan perlu dilakukan juga modifikasi struktur terhadap senyawa terbaik yang memiliki berat molekul besar dan hasil prediksi profil farmakokinetika dan toksisitas yang kurang baik.



DAFTAR PUSTAKA

- Adiguna, S. P. *et al.* (2021) 'Antiviral activities of andrographolide and its derivatives: Mechanism of action and delivery system', *Pharmaceuticals*, 14(11), pp. 1–20. doi: 10.3390/ph14111102.
- Afendi, F. M. *et al.* (2012) 'KNAPSAcK Family Databases : Integrated Metabolite – Plant Species Databases for Multifaceted Plant Research Special Issue – Databases', 53(2), pp. 1–12. doi: 10.1093/pcp/pcr165.
- Astuti, A. D. and Mutiara, A. B. (2011) 'Simulasi Dinamika Molekuler Protein dengan Aplikasi GROMACS', *Tehnik Informatika dan Industri*, 1(2), pp. 1–9.
- Avada (2022a) *AutoDock*. Available at: <https://autodock.scripps.edu/> (Accessed: 3 January 2022).
- Avada (2022b) *AutoDock Vina*. Available at: <https://vina.scripps.edu/> (Accessed: 3 January 2022).
- Burley, S. K. (2016) 'RCSB Protein Data Bank: A Resource for Chemical, Biochemical, and Structural Explorations of Large and Small Biomolecules'. doi: 10.1021/acs.jchemed.5b00404.
- Cavasotto, C. N. and Di Filippo, J. I. (2021) 'In silico Drug Repurposing for COVID-19: Targeting SARS-CoV-2 Proteins through Docking and Consensus Ranking', *Molecular Informatics*, 40(1), pp. 1–16. doi: 10.1002/minf.202000115.

- Chao, W. W. and Lin, B. F. (2010) 'Isolation and identification of bioactive compounds in *Andrographis paniculata* (Chuanxinlian)', *Chinese Medicine*, 5, pp. 1–15. doi: 10.1186/1749-8546-5-17.
- ChemAxon (2022) *MarvinSketch–Create and Design*. Available at: <https://chemaxon.com/products/marvin> (Accessed: 3 January 2022).
- Chemical.AI (2021) *Chemical.AI*. Available at: <https://www.chemical.ai/> (Accessed: 22 June 2022).
- Cosar, B. *et al.* (2020) 'Mini Review : SARS-CoV-2 Mutations and their Viral Variants', (January).
- Dermawan, D., Sumirtanurdin, R. and Dewantisari, D. (2019) 'Molecular Dynamics Simulation Estrogen Receptor Alpha againts Andrographolide as Anti Breast Cancer', *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 6(2), p. 65. doi: 10.24198/ijpst.v6i2.18168.
- Dewi, P. P. P. (2019) 'Molecular Docking Terpinen-4-ol pada Protein IKK sebagai Antiinflamasi pada Aterosklerosis secara In Silico', *Jurnal Farmasi Udayana*, 8(1), p. 44. doi: 10.24843/jfu.2019.v08.i01.p07.
- Discovery, T. V. S. (2022) 'Introduction to the Discovery Studio Visualizer'.
- Fatimah, D. S. *et al.* (2020) 'Pharmacophore Modeling, Virtual Screening, And Molekular DockingMetabolite Compound From Salam Leaf Extract (*Syzygium polyanthum*(wight) walp.) As Antihipertensive Compound', *Jurnal Farmasi Galenika*, 7(2), pp. 91–107.
- Ferreira, L. G. *et al.* (2015) *Molecular Docking and Structure-based Drug Design Strategies*, *Molecules*. doi: 10.3390/molecules200713384.
- Fitriana, N., Rahayu Lestari, S. and Lukiati, B. (2018) 'Senyawa Alami Bawang Putih Tunggal sebagai Inhibitor LpxC Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* melalui Virtual Screening', *Mutiara Medika: Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*, 18(1). doi: 10.18196/mm.180111.
- Gorbalenya, A. E. *et al.* (2020) 'The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming

it SARS-CoV-2', *Nature Microbiology*, 5(4), pp. 536–544. doi: 10.1038/s41564-020-0695-z.

- Hanif, A. U., Lukis, P. A. and Fadlan, A. (2020) 'Pengaruh Minimisasi Energi MMFF94 dengan MarvinSketch dan Open Babel PyRx pada Penambatan Molekular Turunan Oksindola Tersubstitusi', *Alchemy*, 8(2), pp. 33–40. doi: 10.18860/al.v8i2.10481.
- I. R. Hartanti, A. A. Putri, N. N. Auliya AS, A. L. Triadenda, E. Laelasari, C. S. dan M. M. (2022) 'Molecular Docking Senyawa Xanton, Benzofenon, Dan Triterpenoid Sebagai Antidiabetes Dari Ekstrak Tumbuhan *Garcinia Cowa*', *Jurnal Kimia (Journal Of Chemistry)*, 16(1), pp. 72–83. doi: 10.1007/978-1-59745-177-2_19.
- Imam Digimi (2018) *Google Colab Gratis Untuk Belajar Deep Learning*. Available at: <https://imam.digmi.id/post/google-colab-gratis-untuk-belajar-deep-learning/> (Accessed: 17 February 2022).
- Indah Wulan Sari, Junaidin, D. P. (2020) 'STUDI MOLECULAR DOCKING SENYAWA FLAVONOID HERBA KUMIS KUCING (*Orthosiphon stamineus* B.) PADA RESEPTOR α -GLUKOSIDASE SEBAGAI ANTIDIABETES TIPE 2', *Jurnal Farmagazine*, VII(2), pp. 54–60.
- Kantarcioğlu, B. *et al.* (2021) 'An Update on the Pathogenesis of COVID-19 and the Reportedly Rare Thrombotic Events Following Vaccination', *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*, 27. doi: 10.1177/10760296211021498.
- KEMENKES, R. (2016) *Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 6 Tahun 2016 Tentang Formularium Obat Herbal Asli Indonesia*. Jakarta.
- Khaerunnisa, S., Suhartati and Awaluddin, R. (2020) *Penelitian In Silico Untuk Pemula*. Surabaya, Jawa Timur: Airlangga University Press.
- Kim, S. *et al.* (2019) 'PubChem 2019 update : improved access to chemical data', 47(October 2018), pp. 1102–1109. doi: 10.1093/nar/gky1033.

- KNAPsAcK (2022) *KNAPsAcK: A Comprehensive Species-Metabolite Relationship Database*. Available at: <http://www.knapsackfamily.com/KNAPsAcK/> (Accessed: 3 January 2022).
- Kumar, S., Singh, B. and Bajpai, V. (2021) 'Andrographis paniculata (Burm.f.) Nees: Traditional uses, phytochemistry, pharmacological properties and quality control/quality assurance', *Journal of Ethnopharmacology*. Elsevier B.V., 275(January), p. 114054. doi: 10.1016/j.jep.2021.114054.
- Kusumawati RD, Yuniastuti A, Susanti WH, N. (2021) 'Studi In Silico Potensi Senyawa Bioaktif Pada Kapulaga Jawa (Amomum compactum) Sebagai Antiinflamasi', *Prosiding Semnas Biologi ke-9 Tahun 2021 FMIPA Universitas Negeri Semarang*, 9(2021), pp. 304–309.
- Liu, K. and Kokubo, H. (2017) 'Exploring the Stability of Ligand Binding Modes to Proteins by Molecular Dynamics Simulations: A Cross-docking Study', *Journal of Chemical Information and Modeling*. American Chemical Society, 57(10), pp. 2514–2522. doi: 10.1021/acs.jcim.7b00412.
- M. Michael Gromiha (2010) *Chapter 7–Protein Interactions: Protein Bioinformatics*. Academic Press. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-8-1312-2297-3.50007-2>.
- Mardianingrum, R. *et al.* (2021) 'Studi In Silico Senyawa 1,4-Naphthalenedione-2-Ethyl-3-Hydroxy sebagai Antiinflamasi dan Antikanker Payudara', *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, 17(1), p. 83. doi: 10.20961/alchemistry.17.1.43979.83-95.
- Mengist, H. M., Dilnessa, T. and Jin, T. (2021) 'Structural Basis of Potential Inhibitors Targeting SARS-CoV-2 Main Protease', *Frontiers in Chemistry*, 9(March), pp. 1–19. doi: 10.3389/fchem.2021.622898.
- MM, O. (2022) *OpenMM*. Available at: <https://openmm.org/> (Accessed: 23 June 2022).

- Muchtaridi *et al.* (2018) *Kimia Medisinal : Dasar-Dasar Dalam Perancangan Obat*. Pertama. Jakarta: Prenadamedia Group.
- Murugan, N. A., Pandian, C. J. and Jeyakanthan, J. (2021) 'Computational investigation on *Andrographis paniculata* phytochemicals to evaluate their potency against SARS-CoV-2 in comparison to known antiviral compounds in drug trials', *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. Taylor & Francis, 39(12), pp. 4415–4426. doi: 10.1080/07391102.2020.1777901.
- Muttaqin, F. Z. (2019) 'Studi Molecular Docking, Molecular Dynamic, Dan Prediksi Toksisitas Senyawa Turunan Alkaloid Naftiridin Sebagai Inhibitor Protein Kasein Kinase 2-A Pada Kanker Leukemia', *Pharmacoscript*, 2(1), pp. 49–64. doi: 10.36423/pharmacoscript.v2i1.241.
- Nursamsiar, Toding, A. T. and Awaluddin, A. (2016) 'Studi In Silico Senyawa Turunan Analog Kalkon Dan Pirimidin Sebagai Antiinflamasi: Prediksi Absorpsi, Distribusi, dan Toksisitas', *Pharmacy*, 13(01), pp. 92–100.
- O'Boyle, N. M. *et al.* (2011) 'Open Babel', *Journal of Cheminformatics*, 3(33), pp. 1–14. Available at: <https://jcheminf.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/1758-2946-3-33>.
- Ouassou, H. *et al.* (2020) 'The Pathogenesis of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): Evaluation and Prevention', *Journal of Immunology Research*, 2020. doi: 10.1155/2020/1357983.
- Prapanza, E. & Marianto, L. . (2003) *Khasiat & Manfaat Sambiloto : Raja Pahit Penakluk Aneka Penyakit*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Prasetiawati, R. *et al.* (2021) 'Molecular Docking Study of Anthocyanidin Compounds Against Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) as Anti-Lung Cancer', *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 8(1), p. 8. doi: 10.24198/ijpst.v8i1.29872.

- PreADMET (2022) *Description of PreADMET*. Available at: <https://preadmet.webservice.bmdrc.org/description-of-preadmet/> (Accessed: 10 January 2022).
- Pubchem (2022) *About Pubchem*. Available at: <https://pubchemdocs.ncbi.nlm.nih.gov/about>.
- Purwaniati and Asnawi, A. (2020) ‘Target Kerja Obat Antivirus COVID-19 : Review’, VII(2), pp. 30–42.
- Putra, P. P., Fauzana, A. and Lucida, H. (2020) ‘In Silico Analysis of Physical-Chemical Properties , Target Potential , and Toxicology of Pure Compounds from Natural Products Analisis Sifat Fisika-Kimia , Potensi Target dan Toksikologi Senyawa Isolat Murni dari Bahan Alam dengan Metode In Silico’, *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 7(3), pp. 107–117.
- Rena, S. R., Nurhidayah, N. and Rustan, R. (2022) ‘Analisis Molecular Docking Senyawa Garcinia Mangostana L Sebagai Kandidat Anti SARS-CoV-2’, *Jurnal Fisika Unand*, 11(1), pp. 82–88. doi: 10.25077/jfu.11.1.82-88.2022.
- Del Rio C, Omer SB, M. P. (2022) ‘Winter of Omicron—The Evolving COVID-19 Pandemic’, *JAMA*, 327(November), pp. 319–320. doi: 10.1136/bmj.n3104.
- Rothan, H. A. and Byrareddy, S. N. (2020) ‘The epidemiology and pathogenesis of coronavirus disease (COVID-19) outbreak’, *Journal of Autoimmunity*. Elsevier, 109(February), p. 102433. doi: 10.1016/j.jaut.2020.102433.
- Ruswanto, R. *et al.* (2018) ‘Kuersetin, Penghambat Uridin 5-Monofosfat Sintase Sebagai Kandidat Anti-kanker’, *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, 14(2), p. 236. doi: 10.20961/alchemy.14.2.14396.236-254.
- SCFBio (2022) *Lipinski Rule of Five*. Available at: <http://www.scfbio-iitd.res.in/software/drugdesign/lipinski.jsp> (Accessed: 10 January 2022).

- Scott A. Hollingsworth and Ron O. Dror (2018) 'Molecular Dynamics Simulation for All', *Neuron*, 99(6)(1), pp. 1129–1143. doi: 10.1016/j.neuron.2018.08.011.Molecular.
- Setiawan Dalimartha (1999) *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid I. Pertama*. Jakarta: PT Pustaka Pembangunan Swadaya Nusantara.
- STITCH (2022) *STITCH Database — Content*. Available at: <http://stitch.embl.de/cgi/about.pl> (Accessed: 10 January 2022).
- Syamsu, R. F., Nuryanti, S. and Jamal, M. F. (2021) 'Herbal Yang Berpotensi Sebagai Anti Virus Pada Covid-19', *Molucca Medica*, 14(April), pp. 76–85. doi: 10.30598/molmed.2021.v14.i1.76.
- Vardhan, S. and Sahoo, S. K. (2020) 'In silico ADMET and molecular docking study on searching potential inhibitors from limonoids and triterpenoids for COVID-19', *Computers in Biology and Medicine*. Elsevier Ltd, 124(May), p. 103936. doi: 10.1016/j.combiomed.2020.103936.
- Way2Drug (2022) *PASS Online : Get more information about biological potential of your compounds*. Available at: <http://way2drug.com/passonline/> (Accessed: 3 January 2022).
- WHO (2020) *Naming the coronavirus disease (COVID-19) and the virus that causes it*, Geneva, Switzerland: World Health Organization. Available at: [https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/naming-the-coronavirus-disease-\(covid-2019\)-and-the-virus-that-causes-it](https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/naming-the-coronavirus-disease-(covid-2019)-and-the-virus-that-causes-it) (Accessed: 15 December 2021).
- WHO (2022) *WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard, WHO Health Emergency Dashboard*. Available at: <https://covid19.who.int/> (Accessed: 6 February 2022).
- Wiersinga, W. J. *et al.* (2020) 'Pathophysiology, Transmission, Diagnosis, and Treatment of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Review', *JAMA—Journal of the American Medical Association*, 324(8), pp. 782–793. doi: 10.1001/jama.2020.12839.

Wu, C. *et al.* (2020) 'Analysis of therapeutic targets for SARS-CoV-2 and discovery of potential drugs by computational methods', *Acta Pharmaceutica Sinica B*. Elsevier Ltd, 10(5), pp. 766–788. doi: 10.1016/j.apsb.2020.02.008.

YASARA (2022) *About YASARA-Watching Nature@Work*. Available at: <http://www.yasara.org/> (Accessed: 10 January 2022).

Zhao, P. *et al.* (2022) 'Targets preliminary screening for the fresh natural drug molecule based on Cosine-correlation and similarity-comparison of local network', *Journal of Translational Medicine*, 20(1), pp. 1–9. doi: 10.1186/s12967-022-03279-w.

PENCARIAN KANDIDAT OBAT BARU SEBAGAI INHIBITOR *MAIN PROTEASE* SARS-CoV-2

Dari Senyawa Aktif Tanaman
Andrographis Paniculata:
Studi in-Silico

Pandemi COVID-19 merupakan permasalahan yang berawal dari aspek kesehatan yang kemudian meluas dan menyebar ke berbagai aspek kehidupan lainnya. Sampai saat ini, berbagai penelitian mengenai pencarian dan pengembangan obat baru sebagai kandidat anti SARS-CoV-2 masih sangat dibutuhkan.

Awal tahun 2020, World Health Organization (WHO) secara resmi mengumumkan COVID-19 merupakan penyakit baru yang disebabkan oleh virus Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2). Penyebaran COVID-19 yang sangat cepat, mendorong WHO menetapkan COVID-19 sebagai status pandemi atau epidemi global pada 11 Maret 2020 yang menyebabkan terjadinya darurat internasional dan permasalahan di berbagai penjuru dunia. Selain penggunaan obat antivirus spektrum luas, vaksin masih menjadi salah satu pilihan utama dalam pengendalian dan pencegahan pandemi COVID-19.

Studi in silico merupakan salah satu cara dalam penemuan obat baru melalui pendekatan komputasi untuk menemukan senyawa terbaik yang potensial dijadikan sebagai kandidat obat baru melalui berbagai rangkaian proses skrining dan prediksi seperti prediksi druglikeness, studi ADMET, molecular docking, dan simulasi molecular dynamic. Pendekatan komputasi banyak dipilih dan digunakan karena dapat menghemat biaya dan mengefisienkan waktu dalam penemuan dan pengembangan obat baru.

