

Studi In Silico Senyawa yang Terkandung dalam Tanaman Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* RUIZ & PAV) sebagai Kandidat Anti SARS CoV-2

Nur Aprillah Akbar*, Saeful Amin, Winda Trisna Wulandari
Program Studi Farmasi, Universitas Bakti Tunas Husada, Tasikmalaya, Indonesia

*Corresponding author: akbarnuraprillah@gmail.com

Abstract

This research is about testing the antiviral activity of compounds contained in red betel leaf (Piper crocatum Ruiz & Pav) as an anti-SARS CoV-2 candidate using the in silico method. The purpose of this study was to determine the antiviral activity and interactions that occur from compounds contained in red betel leaf plants as anti-SARS CoV-2 candidates. Molecular docking results obtained from 24 compounds contained in betel leaf which were tested against 4 target receptors, 4 target receptors were tested, namely receptor codes 5R7Y, 7JKV, 7TLL and 7VH8. The results obtained from this study are that the 24 compounds that are more specific have large candidates for the 5R7Y receptor code, namely there are 12 compounds whose docking scores are better than the docking scores of natural ligands. The conclusion obtained from this study is that it shows that the 24 compounds contained in the red betel leaf plant have antiviral activity but are not candidates for anti-SARS CoV-2.

Keywords: *Piper crocatum*; Molecular Docking; SARS CoV-2; Receptor.

Abstrak

Penelitian ini mengenai pengujian aktivitas antivirus dari senyawa yang terkandung dalam tanaman daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) sebagai kandidat anti SARS CoV-2 dengan menggunakan metode in silico. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antivirus dan interaksi yang terjadi dari senyawa yang terkandung dalam tanaman daun sirih merah sebagai kandidat anti SARS CoV-2. Diperoleh hasil molecular docking dari 24 senyawa yang terkandung dalam tanaman daun sirih yang diujikan terhadap 4 reseptor target, 4 reseptor target yang diuji yaitu kode reseptor 5R7Y, 7JKV, 7TLL dan 7VH8. Hasil yang didapat dari penelitian ini yaitu ke 24 senyawa yang terkandung lebih spesifik memiliki kandidat yang besar terhadap kode reseptor 5R7Y yaitu terdapat 12 senyawa yang skor docking nya lebih baik dari skor docking ligan alami. Kesimpulan yang didapat dari penelitian ini yaitu menunjukkan bahwa 24 senyawa yang terkandung dalam tanaman daun sirih merah memiliki aktivitas antivirus tetapi bukan sebagai kandidat anti SARS CoV-2.

Kata Kunci: Daun Sirih Merah; Molecular Docking; SARS CoV-2; Reseptor.

PENDAHULUAN

Pada akhir tahun 2019, kasus pneumonia yang tidak diketahui penyebab terjadinya muncul dan dilaporkan pertama kali di Kota Wuhan, Provinsi Hubei, China. Awal mula kemunculannya dikaitkan dengan pasar ikan di Kota Wuhan. Sampai pada akhirnya persebaran wabah ini sangatlah pesat, hanya dalam kurun waktu beberapa bulan saja, wabah ini berhasil menyebar pada sebagian negara besar di Asia. Hasil sampel yang diteliti, menunjukkan bahwa wabah ini merupakan etiologi *coronavirus* jenis baru, yang saat ini diberi nama SARS CoV-2 (Susilo dkk, 2020).

Segala upaya sudah dilakukan untuk mencegah cepatnya persebaran virus jenis baru ini, salah satu strateginya yaitu dimulai dengan pemberlakuan social distancing sampai pada penelitian dan pengembangan obat dan vaksin. Tetapi untuk saat ini masih belum ada obat dan vaksin dengan tujuan pencegahan yang disetujui oleh FDA (*Food Drug Administration*) untuk mengobati ataupun menyembuhkan COVID-19 ini. Oleh karena itu dilakukanlah eksplorasi pada obat herbal tradisional secara ekstensif sebagai obat penatalaksanaan COVID-19 yang potensial (Syamsu dkk, 2021).

Salah satu jenis herbal yang berpotensi sebagai antivirus diantaranya adalah tanaman daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruitz & Pav). Menurut (Diniatik dkk, 2012) pada penelitian yang dilakukan terhadap tanaman daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruitz & Pav) menyebutkan bahwa ekstrak etanol tanaman ini mempunyai aktivitas antivirus yang sangat besar dengan dosis yang kecil.

Salah satu proses upaya untuk menemukan calon obat baru yang dapat mengobati infeksi yang disebabkan oleh mikroorganisme adalah dengan cara melakukan penapisan senyawa bioaktif yang berasal dari alam. Metode yang cukup lazim untuk membantu proses ini yaitu dengan melakukan metode *in silico*. Melalui pendekatan *in silico* dapat terjadi interaksi antara senyawa bioaktif dengan protein sebagai target. Dengan metode ini juga kita dapat memprediksi interaksi dan afinitas ikatan serta konformasi dari senyawa kompleks protein-ligan tersebut (Wardaniati & Azhari Herli, 2018).

Berdasarkan hal tersebut tanaman daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) diprediksi dapat memiliki potensi sebagai kandidat anti SARS CoV-2 dengan metode *in silico*, karena dengan metode *in silico* dapat mempercepat proses penemuan obat baru sebagai kandidat anti SARS CoV-2 (Pratama, 2020).

ALAT DAN BAHAN

Alat

Alat yang digunakan yaitu berupa perangkat keras (*hardware*) dan perangkat lunak (*software*). Perangkat keras (*hardware*) yang digunakan yaitu berupa personal computer Device Name DESKTOP-7NL6JU7 dengan Operating System Windows 10 Pro 64-bit (10.0, Bulid 18362) dan spesifikasi Interl (R) Core (TM) i3-4005U CPU @ 1.70GHz (4CPUs), ~1.7GHz, 6.00 GB RAM 64-bit. Perangkat lunak (*software*) yang digunakan merupakan perangkat lunak yang free dapat dengan mudah didapatkan di web, diantara perangkat lunaknya yaitu PLANTS, YASARA, *marvin sketch*, dan Discovery Studio. Sedangkan program yang berbasis *web*

seperti, PDB (*Protein Data Bank*), *PubChem*, *Swiss target prediction*, *pkCSM pharmacokinetics*, *Lipinski rule of five* dan *Chemical.AI*.

Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian kali ini adalah berupa PDB (*Protein Data Bank*) file hasil identifikasi reseptor Main protease (M^{Pro}) dengan target SARS CoV-2, kode yang diunduh yaitu 5R7Y, 7JKV, 7TLL dan 7VH8 dari *web server* PDB (*Protein Data Bank*) melalui *website* (<https://www.rcsb.org/>) dalam format file PDB. Pemilihan kode tersebut dilihat dari analisis reseptor plot Ramachandran apakah memenuhi aturan tersebut atau tidak. Sedangkan ligan atau senyawa uji yang digunakan yaitu 24 senyawa yang terkandung dalam tanaman daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruitz & Pav) diperoleh dari pengkajian terhadap beberapa jurnal penelitian yang sudah dipublikasi secara resmi.

METODE PENELITIAN

Analisis Reseptor

Analisis reseptor target dilakukan juga dengan melihat hasil statistik plot Ramachandran. Dengan plot Ramachandran dapat mengetahui kualitas yang baik atau tidaknya dari suatu struktur protein (Ruswanto, Garna, et al., 2018).

Preparasi Reseptor

Reseptor dapat diunduh pada *webserver* PDB (*Protein Data Bank*) melalui *website* (<http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>) menggunakan format *pdb*. Setelah itu reseptor dilakukan proses optimasi dengan tujuan memisahkan pelarut dan ligan menggunakan *software* YASARA (Ruswanto, Garna, et al., 2018).

Preparasi Ligan Uji

Preparasi struktur ligan melalui *webserver* *PubChem* (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) dalam bentuk 2D ke *Marvin Sketch* untuk mengoptimasi dengan protonasi. Hasil yang diperoleh dicari konformasi sebanyak 10 struktur. Dilakukannya preparasi ligan pada struktur dengan optimasi geometri agar diperoleh konformasi molekul yang stabil dan

memiliki energi potensial rendah yang sesuai dengan kondisi tubuh manusia (Ruswanto, Nofianti, et al., 2018).

Validasi *Molecular Docking*

Validasi ini dilakukan setelah muncul hasil proses *docking* dari reseptor dan ligan dengan menggunakan perangkat lunak PLANTS yang dibantu dengan perangkat lunak CMD (*command prompt*) sebagai wadah untuk berjalannya proses *docking* dan untuk melihat hasil *docking* dari perangkat lunak PLANTS tersebut. Analisis *docking* dikatakan baik jika nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*) yang diperoleh sama dengan 2,5 atau kurang dari 2,5 Å (Rollando, 2018).

***Docking* Ligan Terhadap Reseptor Target**

Senyawa ligan utama pada tanaman daun sirih merah dan obat perbandingan yang sudah di preparasi ligannya dengan Marvin Sketch dan sudah diprotonasi dengan dibuat 10 konformasi lalu dilakukan proses *docking* dengan hasil reseptor yang sudah di validasi.

Visualisasi Ligan Senyawa Uji Terbaik Terhadap Reseptor Target

Proses ini dilakukan dengan mengambil data hasil *docking* atau nilai *scoring*. Molekul dengan nilai *scoring* terendah menunjukkan afinitas dengan kestabilan yang baik dan dapat dilakukan visualisasi dengan sebuah *software*. Semakin kecil suatu hasil dari proses *docking* menunjukkan kompleks protein ligan semakin stabil, sehingga senyawa semakin poten (Sukmawaty, et al., 2021).

Setelah proses pengambilan data dari hasil *docking* tersebut kita dapat melihat analisis visualisasi *docking* dengan cara mengambil data hasil interaksi dan juga ikatan yang terbentuk dari ligan dengan reseptor target, dengan dibantu perangkat lunak Discovery Studio.

Prediksi Kelarutan dan Permeabilitas Senyawa dengan Kaidah *Lipinski*

Pada proses ini saya melakukan pengujian terhadap ligan uji yang akan saya teliti, pengujian ini menggunakan *webservice*

Lipinski Rule of Five yaitu dilihat berat molekulnya, donor serta akseptor hidrogen, nilai LogP dan Refraksi molar. *Webserver* ini membantu dalam membedakan antara molekul seperti obat dan non obat dengan contoh sediaan seperti sediaan oral. Ini memprediksi kemungkinan keberhasilan atau kegagalan yang tinggi karena kemiripan obat untuk molekul yang mematuhi 2 atau lebih aturan *Lipinski* (Kelutur et al., 2020).

Prediksi Aspek Farmakokinetik dan Toksisitas Ligan Uji

Proses yang selanjutnya kita akan melihat aktivitas farmakokinetik dan toksisitas dari ligan yang kita ujikan dengan dibantu oleh sebuah *webservice* yaitu *pkCSM pharmacokinetics*. *Webserver* tersebut dapat memprediksi aktivitas farmakokinetik dan toksisitas dari sebuah senyawa (Gayatri, 2021).

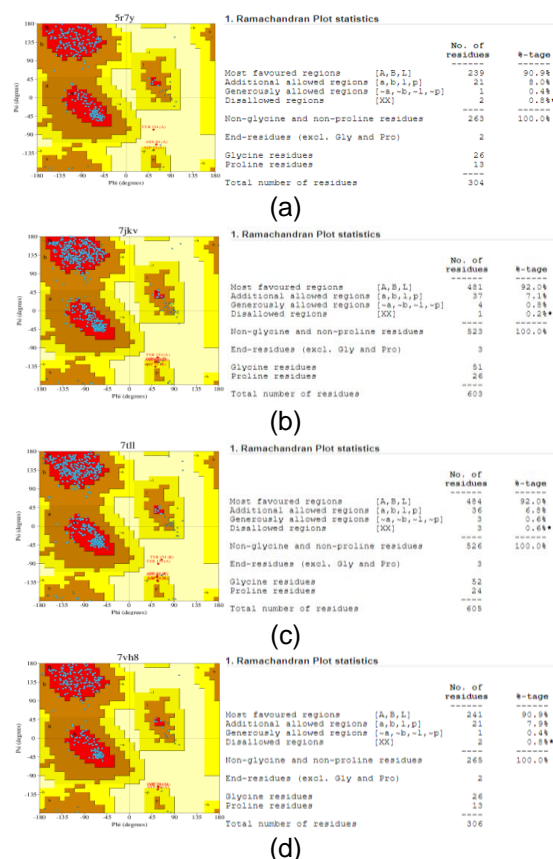
Simulasi Dinamika Molekular Protein-Ligand Senyawa Uji Terbaik

Simulasi dinamika molekular penambatan kompleks protein dengan ligand senyawa uji dilakukan menggunakan *webservice* github.com dengan program *protein-ligand simulations*. Semua program itu berjalan menggunakan google colab, simulasi dinamika molekular ini menggunakan mesin OpenMM dan medan gaya AMBER untuk sistem protein dan ligan. Dan juga semua program berjalan pada akun google, penyimpanan juga disimpan di google drive akun google yang digunakan, menjadikan program ini mudah digunakan serta murah tetapi dengan hasil yang layak. Pada program ini yang harus disiapkan yaitu cukup akun google dengan penyimpanan google drive yang kosong, serta file protein.pdb dari protein target yang digunakan dan ligand.pdb dari ligand senyawa uji terbaik. Setelah file tersebut sudah siap, maka hanya tinggal menjalankan simulasi pada program tersebut (Frimayanti, 2021).

Prediksi Sintesis Senyawa Ligand Terbaik

Pada proses ini akan mencari suatu kemungkinan apakah senyawa ligand terbaik terdapat sintesis senyawa kimianya. Dalam ilmu kimia, sintesis senyawa kimia

merupakan suatu rangkaian melakukan satu atau beberapa reaksi kimia untuk memperoleh suatu produk kimia ataupun beberapa produk. Pada penelitian ini melakukan prediksi kemungkinan terdapat sintesis senyawa kimia terhadap senyawa ligan uji terbaik menggunakan program yang terdapat pada webserver *Chemical.AI*.



Gambar 1. Statistik Plot Ramachandran (a) 5R7Y, (b) 7JKV, (c) 7TLL, (d) 7VH8.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Reseptor

Hasil dari visualisasi plot Ramachandran pada setiap reseptor target, hasilnya semua reseptor target dapat digunakan karena semuanya sudah memenuhi aturan dari parameter analisis plot Ramachandran. Prosedurnya yaitu dengan melihat plot residu non glisin yang terdapat pada wilayah sudut dihedral yang dilarang (*disallowed regions*). Suatu struktur protein dikatakan baik jika jumlah dari plot residu yang terdapat pada *disallowed regions* kurang dari 0,8%.

(Ruswanto, Garna, *et al.*, 2018). Hasil statistik dapat dilihat pada Gambar 1.

Preparasi Reseptor

Setelah dipersiapkan reseptor apa saja yang akan digunakan, selanjutnya kode reseptor yang telah diunduh dari *Protein Data Bank (PDB)* kemudian dilakukan preparasi, yaitu dilakukan proses pemisahan dari ligan alaminya, penghilangan dari molekul pelarutnya dan proses penambahan hidrogen (Ruswanto, Nofianti, *et al.*, 2018).

Preparasi Ligan Uji

Selanjutnya melakukan preparasi terhadap ligan uji. Data *Canonical SMILES* nya dapat diambil dari *webserver Pubchem.ncbi*, lalu dimasukkan ke *software MarvinSketch* untuk dibuat ligan uji nya, dengan dilakukan protonasi dan dikonformasi dengan dibuat 10 konformer untuk dilakukan molekular *docking* terhadap reseptor target. Preparasi tersebut dilakukan terhadap semua ligan uji.

Preparasi ligan dilakukan dengan cara optimasi geometri terhadap struktur yang terbentuk, dengan tujuan didapatnya suatu konformasi molekul yang stabil, serta mempunyai energi potensial yang rendah, disesuaikan dengan kondisi tubuh manusia (Ruswanto, Nofianti, *et al.*, 2018).

Validasi Molecular Docking

Validasi molekular menggunakan YASARA (*analyze – RMSD – molecule*) dengan cara memasukkan *native ligand* dan reseptor dengan format *.mol2* untuk menentukan nilai *root mean square deviation (RMSD)*. Nilai RMSD dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai Validasi *Docking (RMSD)*

No.	Kode Reseptor	Skor <i>Docking</i>	RMSD (Å)
1	5R7Y	-63,91	1,58
2	7JKV	-124,95	1,92
3	7TLL	-106,31	1,45
4	7VH8	-102,98	1,79

Tabel 1. menunjukkan hasil nilai RMSD yang sesuai harapan, yaitu dari proses validasi *docking* terhadap semua kode reseptor yang akan dijadikan target menunjukkan hasil kurang dari 2,5 atau sama dengan 2,5 Å. Dari

hal tersebut dapat diambil kesimpulan bahwa semua kode reseptor dapat digunakan dan dijadikan reseptor target.

Tabel 2. Skor *Docking* Pada Reseptor 5R7Y

No.	Ligan Uji	Skor <i>Docking</i>
1	Ligan Alami	-63,91
2	Favipiravir	-53,19
3	Molnupiravir	-78,60
4	Nirmatrelvir	-86,77
5	Remdesivir	-105,54
6	Proanthocyanidin*	-85,04
7	Catechin*	-76,09
8	Asiaticoside*	-73,93
9	Myricetin*	-72,93
10	Quercetin*	-71,04
11	Fisetin*	-70,04
12	Rhamnazin*	-70,04
13	Isorhamnetin*	-68,59
14	Pachypodol*	-68,06
15	Kaempferol*	-67,61
16	Linalool*	-67,22
17	Aurone*	-66,74
18	Eugenol	-62,25
19	α -Terpineol	-61,42
20	Copaene	-60,31
21	Chavicol	-58,85
22	Germacrene D	-56,31
23	Phenylalanine	-56,04
24	α -Caryophyllene	-55,63
25	α -Terpinene	-53,72
26	Sabinene	-51,12
27	Pinene	-51,08
28	Terpinolene	-50,75
29	α -Thujene	-49,71

Ket: * = skor *docking* ligan senyawa uji lebih kecil dari skor *docking* ligan alami

Docking Ligan Terhadap Reseptor Target

Proses selanjutnya melakukan *docking* dari semua ligan yang sudah dilakukan preparasi, diantaranya yaitu *docking* dari ligan senyawa uji dan *docking* ligan obat pembanding dari SARS CoV-2 terhadap reseptor target yang tadi sudah dilakukan proses validasi *molecular docking*.

Tujuan dilakukan *docking* ligan obat pembanding terhadap reseptor target yaitu untuk menjadi bahan pembanding antara skor *docking* ligan senyawa uji terhadap reseptor target dengan skor *docking* obat pembanding terhadap reseptor target, apakah ada skor *docking* senyawa uji yang dapat mengalahkan skor *docking* obat

pembanding. Berikut Tabel 2 hasil skor *docking* ligan senyawa uji dan obat pembanding terhadap setiap reseptor target.

Tabel 3. Skor *Docking* Pada Reseptor 7JKV

No.	Ligan Uji	Skor <i>Docking</i>
1	Ligan Alami	-124,95
2	Favipiravir	-60,21
3	Molnupiravir	-85,95
4	Nirmatrelvir	-96,31
5	Remdesivir	-117,09
6	Asiaticoside	-106,29
7	Catechin	-89,21
8	Proanthocyanidin	-86,52
9	Fisetin	-77,51
10	Kaempferol	-77,19
11	Pachypodol	-76,97
12	Isorhamnetin	-76,38
13	Myricetin	-76,11
14	Quercetin	-75,76
15	Rhamnazin	-75,59
16	Aurone	-73,53
17	Eugenol	-67,44
18	Phenylalanine	-66,96
19	Copaene	-65,92
20	Linalool	-64,62
21	Germacrene D	-62,89
22	α -Terpineol	-62,41
23	α -Caryophyllene	-61,58
24	Chavicol	-60,66
25	α -Terpinene	-59,16
26	Terpinolene	-57,99
27	Sabinene	-55,16
28	α -Thujene	-54,72
29	Pinene	-54,38

Ket: * = skor *docking* ligan senyawa uji lebih kecil dari skor *docking* ligan alami

Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa semua proses *docking* dimulai dari *Native ligand*, obat pembanding sampai pada ligan senyawa uji berjalan dengan lancar dan memberikan skor *docking* nya masing-masing. Pada reseptor 5R7Y ada 12 ligan senyawa uji yang skor *docking* nya lebih kecil dari ligan alami. Sementara apabila dibandingkan terhadap skor *docking* obat pembanding skor nya tidak lebih baik terutama pada obat pembanding remdesivir, nirmatrelvir dan molnupiravir, sedangkan terdapat 20 senyawa yang memiliki hasil *docking* lebih baik dari dari hasil *docking* obat pembanding favipiravir. Terlihat bahwa ada 12 ligan senyawa uji yang skor *docking* nya lebih kecil dari ligan alami reseptor 5R7Y, menunjukkan bahwa ligan senyawa uji pada

reseptor 5R7Y memiliki peluang yang besar untuk menjadi kandidat anti SARS CoV-2.

Tabel 4. Skor *Docking* Pada Reseptor 7TLL

No,	Ligan Uji	Skor <i>Docking</i>
1	Ligan Alami	-106,31
2	Favipiravir	-56,82
3	Molnupiravir	-83,97
4	Nirmatrelvir	-100,79
5	Remdesivir	-119,13
6	Asiaticoside*	-107,90
7	Proanthocyanidin	-95,54
8	Catechin	-87,12
9	Myricetin	-84,10
10	Isorhamnetin	-81,17
11	Quercetin	-80,48
12	Fisetin	-79,05
13	Rhamnazin	-77,09
14	Aurone	-76,70
15	Kaempferol	-76,56
16	Pachypodol	-75,11
17	Copaene	-69,31
18	Linalool	-68,58
19	α -Caryophyllene	-67,71
20	Germacrene D	-66,05
21	α -Terpineol	-65,01
22	Eugenol	-63,44
23	α -Terpinene	-62,83
24	Chavicol	-62,59
25	Phenylalanine	-62,36
26	Terpinolene	-61,29
27	Pinene	-60,27
28	Sabinene	-57,40
29	α -Thujene	-56,92

Ket: * = skor *docking* ligan senyawa uji lebih kecil dari skor *docking* ligan alami

Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa semua proses *docking* dimulai dari *Native ligand*, obat pembanding sampai pada ligan senyawa uji berjalan dengan lancar dan memberikan skor *docking* nya masing-masing. Pada reseptor 7JKV tidak ada ligan senyawa uji yang skor *docking* nya lebih kecil dari ligan alami. Dan juga apabila dibandingkan terhadap skor *docking* obat pembanding skor nya juga masih kalah jauh terutama pada obat pembanding remdesivir, nirmatrelvir dan molnupiravir, sedangkan pada obat pembanding favipiravir skor *docking* nya cukup banyak yang lebih baik. Melihat tidak ada ligan senyawa uji yang skor *docking* nya lebih kecil dari ligan alami reseptor 7JKV, menunjukkan bahwa ligan senyawa uji pada reseptor 7JKV tidak memiliki peluang yang besar untuk menjadi

kandidat anti SARS CoV-2 pada reseptor 7JKV.

Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa semua proses *docking* dimulai dari *Native Ligand*, obat pembanding sampai pada ligan senyawa uji berjalan dengan lancar dan memberikan skor *docking* nya masing-masing. Pada reseptor 7TLL hanya ada satu ligan senyawa uji yang skor *docking* nya lebih kecil dari ligan alami. Dan juga apabila dibandingkan terhadap skor *docking* obat pembanding tidak lebih baik terutama pada obat pembanding remdesivir, nirmatrelvir dan molnupiravir, sedangkan pada obat pembanding favipiravir skor *docking* nya cukup banyak yang mengungguli. Melihat hanya ada satu ligan senyawa uji yang skor *docking* nya lebih kecil dari ligan alami reseptor 7TLL, menunjukkan bahwa ligan senyawa uji pada reseptor 7TLL kecil kemungkinan untuk memiliki peluang yang besar sebagai kandidat anti SARS CoV-2 pada reseptor 7TLL.

Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa semua proses *docking* dimulai dari *Native Ligand*, obat pembanding sampai pada ligan senyawa uji berjalan dengan lancar dan memberikan skor *docking* nya masing-masing. Pada reseptor 7VH8 hanya ada satu ligan senyawa uji yang skor *docking* nya lebih kecil dari ligan alami. Dan juga apabila dibandingkan terhadap skor *docking* obat pembanding tidak lebih baik terutama pada obat pembanding remdesivir, nirmatrelvir dan molnupiravir, sedangkan pada obat pembanding favipiravir skor *docking* nya cukup banyak yang mengungguli. Melihat hanya ada satu ligan senyawa uji yang skor *docking* nya lebih kecil dari ligan alami reseptor 7VH8, menunjukkan bahwa ligan senyawa uji pada reseptor 7VH8 kecil kemungkinan untuk memiliki peluang yang besar sebagai kandidat anti SARS CoV-2 pada reseptor 7VH8.

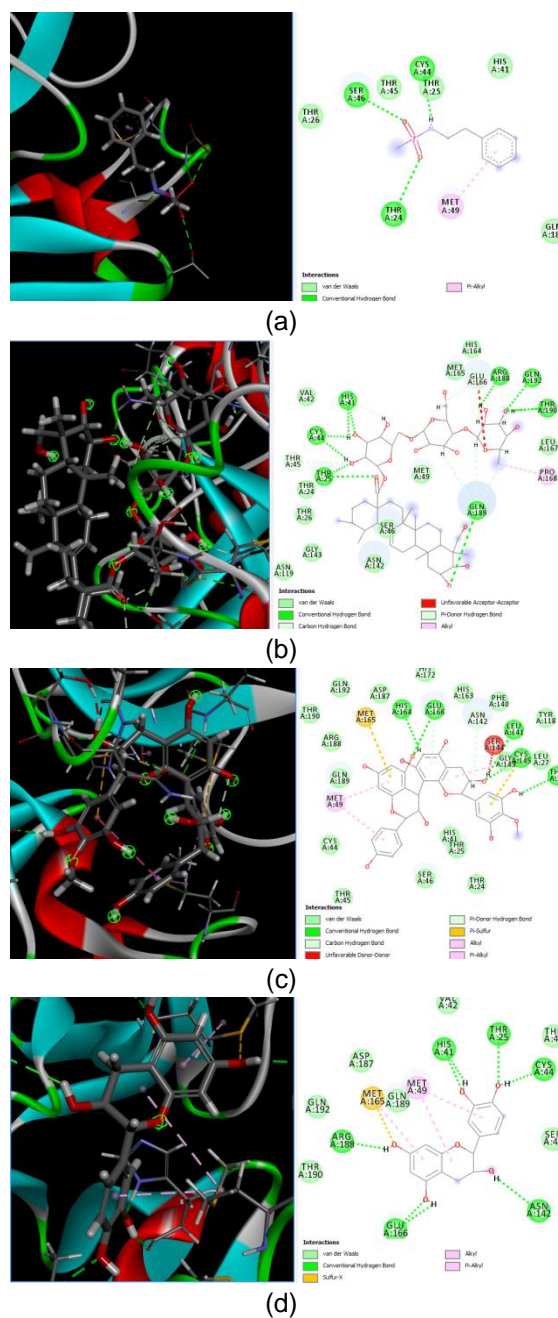
Tabel 5. Skor *Docking* Pada Reseptor 7VH8

No,	Ligan Uji	Skor <i>Docking</i>
1	Ligan Alami	-102,98
2	Favipiravir	-59,24
3	Molnupiravir	-84,57
4	Nirmatrelvir	-102,57
5	Remdesivir	-124,11
6	Asiaticoside*	-104,48
7	Proanthocyanidin	-101,41
8	Catechin	-92,82
9	Myricetin	-82,04
10	Isorhamnetin	-81,11
11	Quercetin	-79,54
12	Kaempferol	-78,65
13	Fisetin	-77,83
14	Aurone	-75,81
15	Rhamnazin	-75,26
16	Pachypodol	-75,17
17	Copaene	-71,15
18	α -Caryophyllene	-67,90
19	Linalool	-66,43
20	Eugenol	-66,41
21	Germacrene D	-65,00
22	Phenylalanine	-64,08
23	α -Terpineol	-62,89
24	Chavicol	-62,68
25	α -Terpinene	-61,04
26	Pinene	-60,59
27	Terpinolene	-59,83
28	Sabinene	-58,43
29	α -Thujene	-58,37

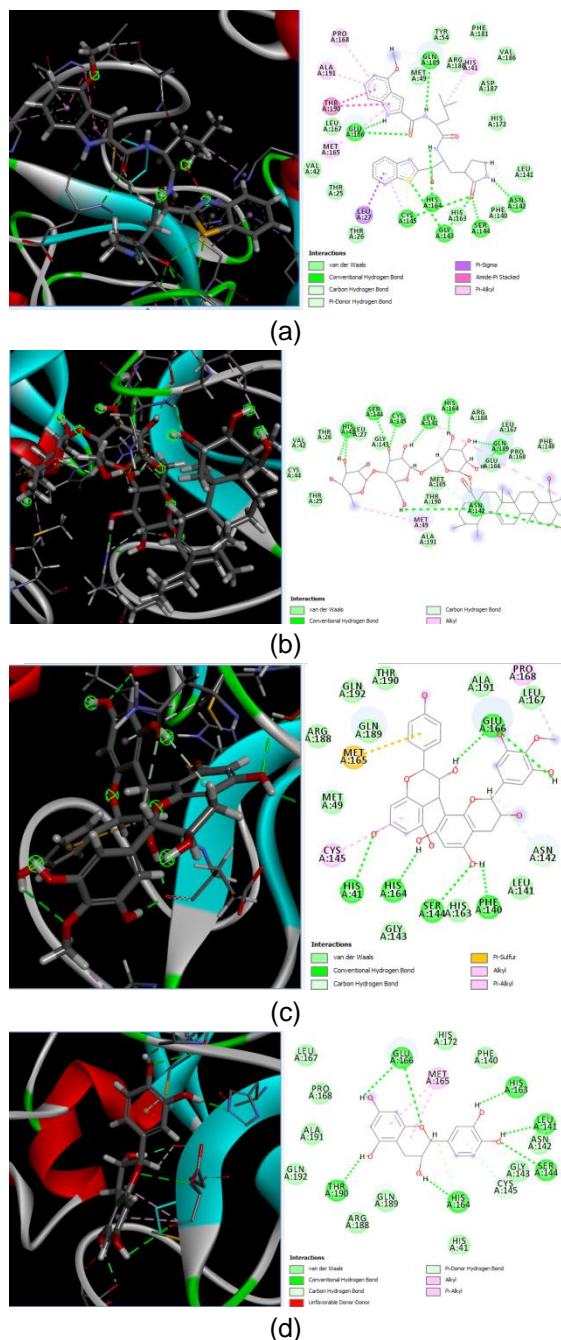
Ket: * = skor *docking* ligan senyawa uji lebih kecil dari skor *docking* ligan alami

Visualisasi Ligan Senyawa Uji Terbaik Terhadap Reseptor Target

Visualisasi dilakukan menggunakan *software discovery studio*. Dengan *software* tersebut kita dapat mengetahui interaksi ataupun juga ikatan yang terjadi pada sebuah ligan dengan asam amino reseptor target.



Gambar 2. Visualisasi hasil *molecular docking* terhadap reseptor 5R7Y (a) Ligan Alami (b) Senyawa Asiaticoside (c) Senyawa Proanthocyanidin (d) Senyawa Catechin



Gambar 3. Visualisasi hasil *molecular docking* terhadap reseptor 7JKV (a) Ligan Alami (b) Senyawa Asiaticoside (c) Senyawa Proanthocyanidin (d) Senyawa Catechin

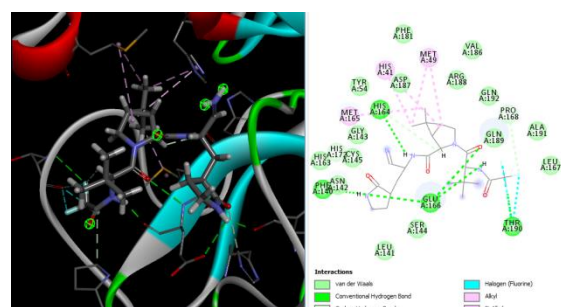
Proses visualisasi dilakukan terhadap senyawa dengan hasil skor *docking* terbaik terhadap asam amino pada protein target, dengan tujuan untuk memprediksi interaksi dan ikatan yang terjadi antara ligan senyawa uji terbaik dengan reseptor target (sitasi). Ikatan yang diamati diantaranya yaitu ikatan hidrogen dan ikatan hidrofobik. Ikatan hidrogen merupakan salah satu ikatan non

kovalen yang terdapat pada sistem biologis manusia, seperti protein dan asam nukleat. Oleh karena itu ikatan hidrogen dijadikan sebagai parameter yang menjadi ciri adanya interaksi farmakologis dalam mekanisme antara obat dengan reseptor. Ikatan hidrogen juga merupakan ikatan utama yang dapat menjaga kestabilan protein, sehingga adanya ikatan hidrogen yang terbentuk pada simulasi dinamika molekular ini menandakan afinitas antara senyawa dengan reseptor target (sitasi).

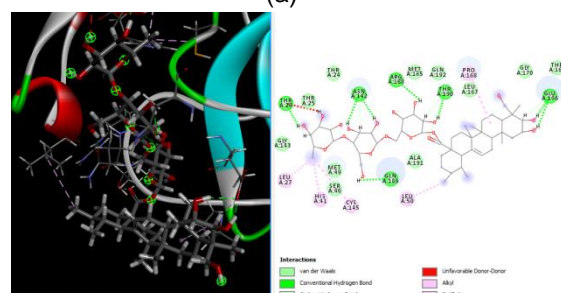
Ikatan hidrogen menandakan terjadinya gaya dipol-dipol yang paling kuat antara atom hidrogen pada suatu molekul yang satu dengan salah satu unsur (*Nitrogen, Oksigen, Fluorine*) pada molekul lainnya (Frimayanti, 2021).

Sementara itu keberadaan ikatan hidrofobik dapat meningkatkan stabilitas protein dengan merubah sifat asam amino yang mempunyai sifat hidrofilik dalam lingkungan hidrofobik, dan juga dapat menentukan residu asam amino yang memiliki kontribusi secara signifikan dengan tujuan menjaga kestabilan protein (Sukmawaty, *et al.*, 2021).

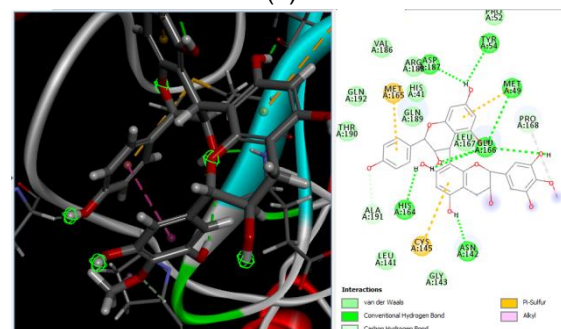
Hasil dari visualisasi semua senyawa terhadap asam amino protein reseptor target menunjukkan semua prediksi terhadap reseptor target terdapat ikatan dan interaksi yang terjadi antara ligan terbaik dengan protein reseptor target. Interaksi yang terjadi yaitu memunculkan ikatan *Van Der Waals*, ikatan hidrogen dan ikatan hidrofobik. Hal tersebut membuktikan bahwa ada interaksi antar molekul yang terjadi pada ligan senyawa uji terbaik dengan protein reseptor target. Pada *software Discovey Studio* dapat diketahui semua detail interaksi yang terjadi antara ligan senyawa uji terbaik dengan protein reseptor target. Dan sudah ditandai dengan warna yang berbeda, untuk memudahkan kita dalam hal mengintrepetasikan hasil dari visualisasi tersebut.



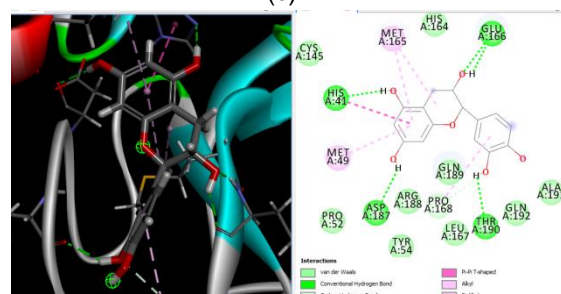
(a)



(b)



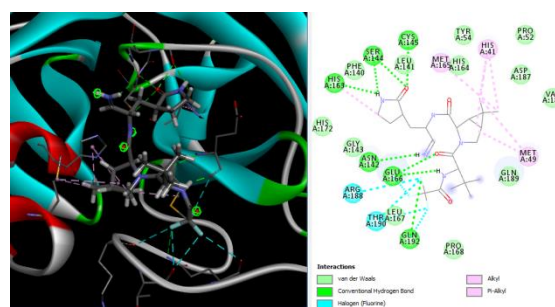
(c)



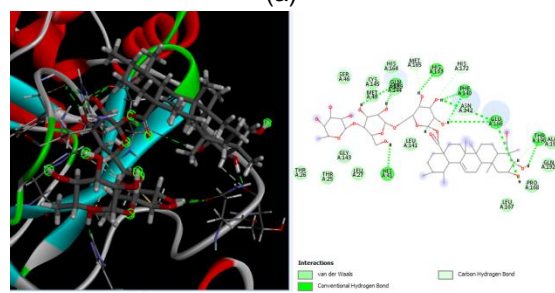
(d)

Gambar 4. Visualisasi hasil *molecular docking* terhadap reseptor 7TLL (a) Ligan Alami (b) Senyawa Asiaticoside (c) Senyawa Proanthocyanidin (d) Senyawa Catechin

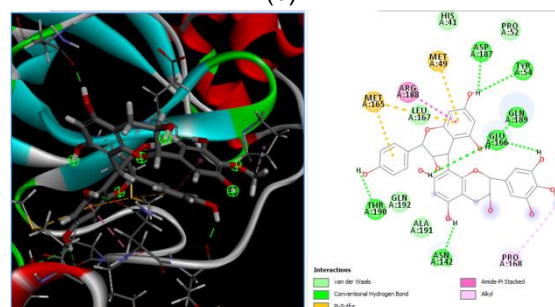
Hasil visualisasi dari ketiga senyawa uji terbaik terhadap reseptor 5R7Y menghasilkan interaksi, diantaranya menghasilkan ikatan hidrogen dan hidrofobik.



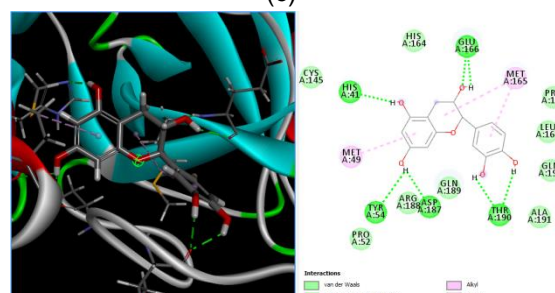
(a)



(b)



(c)



(d)

Gambar 5. Visualisasi hasil *molecular docking* terhadap reseptor 7VH8 (a) Ligan Alami (b) Senyawa Asiaticoside (c) Senyawa Proanthocyanidin (d) Senyawa Catechin

Hasil visualisasi dari ketiga senyawa uji terbaik terhadap reseptor 7JKV menghasilkan interaksi, diantaranya menghasilkan ikatan hidrogen dan hidrofobik.

Hasil visualisasi dari ketiga senyawa uji terbaik terhadap reseptor 7TLL menghasilkan interaksi, diantaranya menghasilkan ikatan hidrogen dan hidrofobik.

Hasil visualisasi dari ketiga senyawa uji terbaik terhadap reseptor 7VH8 menghasilkan interaksi, diantaranya menghasilkan ikatan hidrogen dan hidrofobik. Mohon ditambahkan satu tabel interaksi ikatan baik ikatan hydrogen maupun ikatan hidrofobik dari beberapa ligand-reseptornya, jadi perbedaan ikatannya akan terlihat.

Prediksi Kelarutan dan Permeabilitas Senyawa dengan Kaidah Lipinski

Tabel 6. Pengujian *Lipinski Rule of Five* Senyawa Uji Kandidat Terbaik

Uji Lipinski	Senyawa Asiaticoside	Senyawa Proanthocyanidin	Senyawa Catechin
Berat Molekul	958,00	592,00	290,00
Donor Hidrogen	12	6	5
Akseptor Hidrogen	19	12	6
LogP	-1,03	2,93	1,09
Refraksi Molar	231,49	139,07	68,13

Untuk melihat pengembangan dan penemuan kandidat dari bahan obat baru sebagai oral maka dapat dilihat berdasarkan kaidah lipinski dengan memenuhi lima syarat dari kaidah tersebut yang dikenal dengan "*lipinski rule of five*", diantara syaratnya yaitu berat molekul kurang dari 500 dalton, nilai lipofilisitas tinggi (disimbolkan dengan LogP kurang dari 5), donor ikatan hidrogen kurang dari 5, akseptor ikatan hidrogen kurang dari 10, serta refraktivitas molar harus ada pada rentang angka 40-130 (Kelutur *et al.*, 2020).

Dari ketiga kandidat senyawa terbaik hanya senyawa Catechin yang memenuhi semua parameter dari kaidah *lipinski*, sedangkan dua senyawa Asiaticoside dan Proanthocyanidin masih perlu dilakukan modifikasi senyawa agar bisa digunakan sebagai sediaan oral.

Prediksi Aspek Farmakokinetik dan Toksisitas Ligan Uji

Farmakokinetik merupakan proses yang dialami oleh suatu obat ketika masuk ke dalam tubuh manusia, yang termasuk ke dalam proses farmakokinetik diantaranya yaitu proses absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi (Gayatri, 2021). Prediksi aspek farmakokinetika dan toksisitas dilakukan menggunakan *pkCSM* melalui web: <http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsm/prediction>.

Pada pengujian absorpsi dengan parameter kelarutan air, ketiga senyawa kandidat terbaik dilihat dari hasil *docking* nya yaitu ketiga nya memiliki kelarutan air yang baik, karena kelarutannya diatas angka -6. Pada pengujian distribusi dengan parameter VDss manusia, kedua senyawa kandidat terbaik senyawa asiaticoside dan senyawa proanthocyanidin memberikan hasil distribusi yang rendah karena apabila nilai VDss nya dibawa 0,71 L/kg itu menandakan bahwa nilai nya rendah dan proses pendistribusian obat dalam jaringan plasmanya rendah (sitasi).

Tabel 7. Prediksi Farmakokinetika dan Toksisitas Ligan Senyawa Uji Kandidat Terbaik

Uji <i>pkCSM</i>	Senyawa Asiaticoside	Senyawa Proanthocyanidin	Senyawa Catechin
Kelarutan Air	-2,87 log Mol/L	-2,89 log Mol/L	-3,12 log Mol/L
VDss Manusia	-0,58 log L/kg	-0,307 log L/kg	1,03 log L/kg
Substrat CYP2D6	No	No	No
CYP3A4	No	No	No
Substrat OCT2	No	No	No
Ginjal Dosis Max yg Dapat Ditoleran	-0,84 log mg/kg/day	0,44 log mg/kg/day	0,44 log mg/kg/day

Pada pengujian metabolisme dengan parameter dilihat dari ada dan tidaknya substrat CYP2D6 dan CYP3A4, ketiga senyawa kandidat terbaik memberikan hasil tidak terdapat substrat CYP2D6 dan CYP3A4 pada ketiga senyawa tersebut, dari hasil tersebut menandakan didalam ketiga senyawa tersebut tidak terdapat atau bukan merupakan substrat sitokrom P450, sehingga senyawa tersebut akan sulit untuk dimetabolisme oleh sitokrom P450. Pada pengujian ekskresi dengan parameter melihat apakah terdapat atau tidak terdapat substrat OCT2, ketiga senyawa kandidat terbaik memberikan hasil tidak terdapat substrat OCT2 pada senyawa nya, dari hasil tersebut menandakan bahwa molekul senyawa tidak akan cenderung menjadi substrat OCT2 ginjal, yang menyebabkan ketiga senyawa tersebut cenderung tidak memiliki potensi interaksi yang merugikan dengan inhibitor OCT2 ginjal yang diberikan bersama, Jika pada senyawa tidak memiliki kecenderungan yang sama dengan OCT2 ginjal, maka proses serapan pada ginjal terhadap senyawa oleh ginjal akan berjalan dengan baik (sitasi). Yang terakhir pada pengujian toksisitas dengan parameter melihat dari dosis maksimum yang dapat ditoleransi, ketiga senyawa kandidat terbaik memberikan hasil yang rendah, apabila dosis nya kurang dari 0,477 log mg/kg/day itu dianggap rendah, jadi dari ketiga senyawa tersebut dianggap rendah nilai dosis nya. Dosis maksimum yang direkomendasikan ini dapat memberikan perkiraan ambang dosis toksisitas bahan kimia pada manusia (sitasi).

Simulasi Dinamika Molekular Protein-Ligand Senyawa Uji Terbaik

Simulasi dinamika molekul merupakan suatu proses untuk mengevaluasi hasil dari proses molekular *docking*. Parameter yang dilihat diantaranya yaitu adalah ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen merupakan salah satu ikatan non kovalen yang terdapat pada sistem biologis manusia, seperti protein dan asam nukleat. Oleh karena itu ikatan hidrogen dijadikan sebagai parameter yang menjadi ciri adanya interaksi farmakologis dalam mekanisme antara obat dengan reseptor.

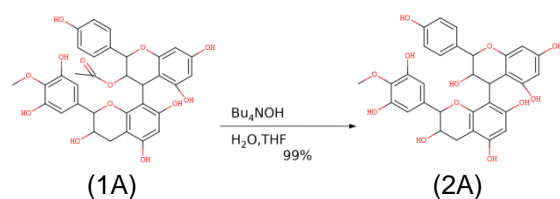
Ikatan hidrogen juga merupakan ikatan utama yang dapat menjaga kestabilan protein, sehingga adanya ikatan hidrogen yang terbentuk pada simulasi dinamika molekular ini menandakan afinitas antara senyawa dengan reseptor target (Frimayanti, 2021).

Hasil yang di dapat dari simulasi molecular dinamik ini yaitu terdapat banyak sekali output yang dapat diambil, diantaranya yang diambil pada penelitian ini yaitu visualisasi pada saat simulasi dinamika molecular berjalan, grafik nilai RMSD dan grafik nilai grafik RMSF.

Secara garis besar hasil dari nilai RMSD pada reseptor 5R7Y, 7JKV, 7TLL dan 7VH8 yaitu nilainya berada pada rentang angka 0 – 2,5 Å, dan juga menghasilkan visualisasi yaitu terbentuknya interaksi antara ligan alami, senyawa Proanthocyanidin dan obat Favipiravir dengan protein reseptor, yaitu terbentuknya ikatan hidrogen dan ikatan hidrofobik.

Prediksi Sintesis Senyawa Ligand Terbaik

Dalam ilmu kimia, sintesis senyawa kimia merupakan suatu rangkaian melakukan satu atau beberapa reaksi kimia untuk memperoleh suatu produk kimia ataupun beberapa produk. Pada penelitian ini melakukan prediksi kemungkinan terdapat sintesis senyawa kimia terhadap senyawa ligand uji terbaik menggunakan program yang terdapat pada webserver Chemical.AI. Salah satu senyawa ligand uji terbaik yang akan coba dicari kemungkinan sintesis senyawa nya yaitu senyawa Proanthocyanidin dan Catechin. Hasil dari Chemical.AI menampilkan suatu proses sintesis senyawa dari senyawa Proanthocyanidin, dengan kondisi yang sudah ditentukan, kondisi yang serupa dengan prosedur dan kesamaan yang dihasilkan. Pencarian bahan sintesis dan juga bahan pereaksi yang dicantumkan pada prediksi sintesis pada penelitian ini yaitu dengan dibantu oleh program *MERCK* dan diakses pada webserver <https://www.sigmaldrich.com/ID/en>.



Gambar 6. Prediksi Sintesis Senyawa Proanthocyanidin

Keterangan :

1(A) = bahan sintesis senyawa Proanthocyanidin dengan tingkat kesamaan 99%, pada kondisi Bu_4NOH , H_2O dan THF.

Nama senyawa 1(A) = 2-(3,5-dihydroxy-4-methoxyphenyl)-5,7-dihydroxy-8-[3,5,7-trihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-3,4-dihydro-2H-1-benzopyran-4-yl]-3,4-dihydro-2H-1-benzopyran-3-one (prediksi bahan sintesis).

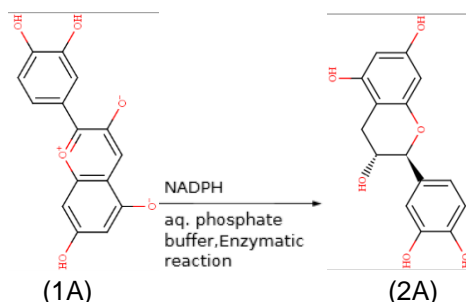
2(A) = merupakan *target compound* atau senyawa Proanthocyanidin.

Bu_4NOH = larutan tetrabutamonium hidroksida (pereaksi), harga per 50mL nya yaitu sebesar 139.00 DSG atau Rp 1.485.857,69.

THF = Tetrahydrofuran (pereaksi), harga per 100mL nya yaitu sebesar 138.00 SGD atau Rp 1.475.168,07.

Gambar 6. memperlihatkan skema sintesis dari senyawa Proanthocyanidin dengan tingkat kesamaan sebesar 99%, hal tersebut menandakan bahwa terdapat hasil dari sintesis senyawa Proanthocyanidin dengan kondisi Bu_4NOH , H_2O dan THF. Dengan didapat hasil sintesis dari webserver *Chemical.AI* memberikan kesimpulan bahwa senyawa Proanthocyanidin ini dapat diperoleh produk baru atau struktur senyawa baru dengan tujuan yaitu mendapat produk kimia baru dari senyawa.

Gambar 7. memperlihatkan skema sintesis dari senyawa Catechin dengan tingkat kesamaan sebesar 100%, hal tersebut menandakan bahwa terdapat hasil dari sintesis senyawa Catechin dengan kondisi NADPH; aq. phosphate buffer; *Enzymatic reaction* (reaksi enzimatik merupakan reaksi yang melibatkan bantuan enzim yang berfungsi sebagai katalisator pada suatu reaksi biologi). Dengan didapat hasil sintesis dari webserver *Chemical.AI* memberikan kesimpulan bahwa senyawa Catechin ini dapat diperoleh produk baru atau struktur senyawa baru dengan tujuan yaitu mendapat produk kimia baru dari senyawa Proanthocyanidin ini, dengan langkah sintesis senyawa kimia yang lebih lanjut.



Gambar 7. Prediksi Sintesis Senyawa Catechin

Keterangan :

1(A) = bahan sintesis senyawa Catechin dengan tingkat kesamaan 100%, pada kondisi NADPH; aq. phosphate buffer; *Enzymatic reaction*. Bahannya dijual pada *webserser Ichemical.AI* dengan harga per 1 gramnya yaitu 38.4 USD atau Rp 569.022,72

2(A) = merupakan *target compound* atau senyawa Catechin.

Nama Senyawa 1(A) = 2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxy-1^H-chromen-1-ylum.

NADPH = Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (pereaksi), harga per 100mg yaitu sebesar 290.00 SGD atau Rp 3.100.430,60.

aq. phosphate buffer = Phosphate buffer solution (pereaksi), harga per 100mL yaitu sebesar 124.00 SGD atau Rp 1.325.701,36

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan yang didapat dari penelitian ini yaitu senyawa yang terkandung dalam tanaman daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) memiliki aktivitas antivirus tetapi tidak memiliki potensi sebagai kandidat anti SARS CoV-2. Hasil *docking* terhadap kode reseptor 5R7Y ada 12 senyawa dari 24 senyawa yang nilai *dockingnya* lebih baik dari ligan alami reseptor 5R7Y yaitu proanthocyanidin, catechin, asiaticoside, myricetin, quercetin, fisetin, rhamnazin, isorhamnetin, pachypodol, kaempferol, linalool. Terhadap kode reseptor 7JKV tidak ada senyawa yang nilai *dockingnya* lebih baik dari ligan alami reseptor 7JKV. Terhadap kode reseptor 7TLL dan 7VH8 hanya ada 1 senyawa dari 24 senyawa, yaitu senyawa asiaticoside yang nilai *dockingnya* lebih baik dari ligan alami reseptor 7TLL dan reseptor 7VH8. Hasil tersebut menunjukkan bahwa senyawa yang diujikan terhadap kode reseptor 5R7Y memiliki potensi cukup besar sebagai anti SARS CoV-2, dilihat dari hasil *docking* yang diperoleh.

Terdapat interaksi yang terjadi antara senyawa asiaticoside, proanthocyanidin dan

catechin terhadap ke 4 kode reseptor target, yaitu terbentuk ikatan hidrogen dan ikatan hidrofobik.

Untuk peneliti berikutnya disarankan untuk memodifikasi senyawa asiaticoside sebagai senyawa ligan uji terbaik hasil dari *molecular docking* supaya berat molekul nya tidak tinggi, karena hasilnya *docking*nya sudah bagus tetapi berat molekul tinggi sehingga tidak bisa diberikan secara oral, atau dilakukan pemberian sediaan lain, tidak sebagai oral.

Mencari jalur sintesis terhadap senyawa proanthocyanidin dan senyawa catechin yang lebih baik dari prediksi sintesis pada penelitian ini, dengan skema dan bahan untuk proses yang lebih mudah didapat untuk peneliti.

DAFTAR PUSTAKA

- Diniatik, Kusuma, A. M., & Purwaningrum O. (2012) Uji Aktivitas Antivirus Eksrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruitz & Pav) Terhadap Virus Newcastle Disease (ND) Dan Profil Kromatografi Lapis Tipisnya. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 8(1).
- Frimayanti, N. (2021). Simulasi Molecular Dynamic (MD) Senyawa Analog Kalkon Sebagai Inhibitor Untuk Sel Kanker Paru A549. *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia*, 9(2), 56–60. <https://doi.org/10.51887/jpfi.v9i2.852>
- Gayatri, A. (2021). Population Pharmacokinetics: Pendekatan Alternatif pada Studi Penggunaan Obat di Indonesia Population Pharmacokinetics: An Alternative Approach for Drug Use Study in Indonesia. *Generics: Journal of Research in Pharmacy*, 1(1), 2021.
- Kelutur, F. J., Mustarichie, R., & Umar, A. K. (2020). Virtual Screening Kandungan Senyawa Kipas Laut (*Gorgonia mariae*) sebagai Anti-Asma. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, 16(2), 48. <https://doi.org/10.20961/alchemistry.16.2.39965.48-59>
- Pratama, R. (2020). Studi in Silico Potensi Senyawa Turunan Kortikosteroid Sebagai Obat Covid-19. *Jurnal Veteriner Nusantara*, 3(2), 176–185. <http://ejurnal.undana.ac.id/jvn/article/view/3429>
- Ruswanto, R., Garna, I. M., Tuslinah, L., Mardianingrum, R., Lestari, T., & Nofianti, T. (2018). Kuersetin, Penghambat Uridin 5-Monofosfat Sintase Sebagai Kandidat Anti-kanker. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, 14(2), 236. <https://doi.org/10.20961/alchemistry.14.2.14396.236-254>
- Ruswanto, R., Nofianti, T., Mardianingrum, R., & Lestari, T. (2018). Desain dan Studi In Silico Senyawa Turunan Kuwanon-H sebagai Kandidat Obat Anti-HIV. *Jurnal Kimia VALENSI*, 4(1), 57–66. <https://doi.org/10.15408/jkv.v4i1.6867>
- Sukmawaty, E., Susanti, S., & Masriany, M. (2021). Penambatan Molekuler Senyawa Cendawan Endofit *Trichoderma* Sp. Sebagai Inhibitor Protein Low Density Lipoprotein, Enzim Lanasterol 14 Demetilase Dan Lipase Yang Bertanggung Jawab Dalam Dermatitis Seboroik. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina (JIIS): Ilmu Farmasi Dan Kesehatan*, 6(1), 98–107. <https://doi.org/10.36387/jiis.v6i1.636>
- Susilo, A., Rumende, C. M., Pitoyo, C. W., Santoso, W. D., Yulianti, M., Herikurniawan, H., Sinto, R., Singh, G., Nainggolan, L., Nelwan, E. J., Chen, L. K., Widhani, A., Wijaya, E., Wicaksana, B., Maksum, M., Annisa, F., Jasirwan, C. O. M., & Yuniastuti, E. (2020). Coronavirus Disease 2019: Tinjauan Literatur Terkini. *Jurnal Penyakit Dalam Indonesia*, 7(1), 45. <https://doi.org/10.7454/jpdi.v7i1.415>
- Syamsu, R. F., Nuryanti, S., Arafah, Jamal, M. F., (2021) Herbal Yang Berpotensi Sebagai Anti Virus Pada COVID-19. *Molucca Medica*. 14(1) <https://doi.org/10.30598/molmed.2021.v14.i1.76>
- Wardaniati, I., & Azhari Herli, M. (2018). Studi

Molecular Docking Senyawa Golongan
Flavonol Sebagai Antibakteri. *JOPS (Journal
Of Pharmacy and Science)*, 1(2), 20–27.
<https://doi.org/10.36341/jops.v1i2.489>