

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Kasus Covid-19 pertama kali secara resmi diakui kasusnya pada bulan maret 2020, kasusnya sendiri tiap harinya bertambah dengan sangat cepat bahkan tidak sedikit orang yang meninggal. Dari data terbaru yang didapatkan pertanggal 17 Januari 2021 ada total 917.000 kasus di Indonesia 746.000 sembuh dan 26.282 meninggal dunia. Saat ini Covid-19 menjadi perhatian utama dunia. Cepatnya penyebaran penyakit disertai penambahan kasus yang masih terus melonjak, termasuk di Indonesia, serta beragamnya manifestasi klinis Covid19 berpotensi pada kolapsnya sistem kesehatan(Vollono, 2020).

Proses penemuan obat baru meliputi proses sintesis dari beberapa struktur kimia. Dengan kemajuan di bidang komputasi, maka komputer dapat digunakan dalam mengoptimasi aktivitas, geometri dan reaktivitas, sebelum senyawa disintesis secara eksperimental (Reddy, 2017). Teknik yang digunakan dalam penyelidikan struktur dan sifat molekul menggunakan kimia komputasi dan teknik visualisasi grafis dalam menampilkan gambaran tiga dimensi dalam sistem kimia dikenal dengan pemodelan molekul (Abidi, 2019).

Kimia komputasi adalah cabang ilmu kimia yang memanfaatkan program komputer untuk menghitung parameterparameter yang dimiliki oleh atom. Parameter yang selalu dilibatkan dalam perhitungan ini adalah elektron-elektron yang dimiliki oleh atom. Dengan perhitungan ini, atom atau senyawa dapat dipelajari secara lengkap tanpa melalui studi empiris di laboratorium. Studi ini dapat memenuhi kebutuhan informasi tentang materi kimia yang sulit diperoleh dari studi laboratorium karena obyek yang susah dideteksi, kondisi reaksi yang berbahaya, dan faktor-faktor yang lain (Pranowo, 2016).

Klorokuin dan Hidroklorokuin memiliki kemampuan memblokir masuknya virus ke dalam sel inang dengan menghambat fungsi reseptor inang, proses perombakan protein, dan pengasaman lingkungan sel inang. Agen ini juga memiliki efek meningkatkan sistem imun dengan meningkatkan produksi

sitokin (Pranowo, 2016). Penelitian terbaru telah melaporkan bahwa beberapa obat antivirus tersebut telah diujicobakan pada pasien SARS-CoV-2 diantaranya adalah Hidroksiklorokuin (Mahevas, 2020).

## **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalahnya yaitu, bagaimana interaksi yang terjadi antara senyawa target dengan reseptor NSP 1 dan NSP 7.

## **1.3 Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah melihat validasi interaksi yang terjadi antara senyawa target dengan reseptor NSP 1 dan NSP 7 serta membandingkan mana senyawa terbaiknya.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

### **1. Manfaat bagi Peneliti**

Penelitian yang dilakukan diharapkan dapat memberikan manfaat guna memperkaya ilmu pengetahuan dan pemahaman mengenai Penambatan Senyawa Antivirus Sebagai Anti Covid-19 pada reseptor NSP1 dan NSP7.

### **2. Manfaat bagi pembaca**

Melalui penelitian ini dapat menambah referensi bagi pembaca dalam melakukan penelitian selanjutnya untuk perkembangan ilmu kefarmasian.

### **3. Manfaat bagi akademik**

- a. Dapat menjadi koleksi perpustakaan sehingga dapat dijadikan referensi bagi mahasiswa yang lain.
- b. Diharapkan hasil dari penelitian ini dapat memberikan manfaat ataupun bisa menambah wawasan pengetahuan dan dapat memperkaya teori maupun praktek mengenai Penambatan Senyawa Antivirus Sebagai Anti Covid-19 pada reseptor NSP1 dan NSP7.

#### 4. Bagi masyarakat

Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai untuk program atau kebijakan dan dapat diaplikasikan pada masyarakat luas.

### **1.5 Hipotesis Penelitian**

Berdasarkan uraian diatas maka hipotesis penelitian ini adalah metode docking dapat digunakan untuk melihat interaksi ligan dengan reseptornya. Senyawa antivirus yang digunakan terbukti sebagai antivirus serta reseptor-reseptor yang dipilih yaitu NSP 1 dan NSP 7 merupakan reseptor SARS-CoV2.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Virus Covid 19**

##### **2.1.1 Definisi**

Pada awal tahun 2020 dunia digemparkan oleh penyakit yang sangat berbahaya yaitu virus Covid-19 atau yang sering disebut dengan virus corona, yang mana penyakit tersebut pertamakali muncul di kota Wuhan, Provinsi Hubei, Cina. Penyakit ini telah banyak menelan banyak korban dan penyebaran virusnyapun sangatlah cepat. Karna virus ini tergolong baru jadi belum diketahui obat yang cocok untuk digunakan sebagai penyembuhan penyakit ini. Virus Corona adalah bagian dari keluarga virus yang menyebabkan penyakit pada hewan ataupun juga pada manusia. Di Indonesia, masih melawan Virus Corona hingga saat ini, begitupun juga di negara-negara lain. Jumlah kasus Virus Corona terus bertambah dengan beberapa melaporkan kesembuhan, tapi tidak sedikit yang meninggal. Usaha penanganan dan pencegahan terus dilakukan demi melawan Covid-19 atau virus corona ini (Afendi, 2020)

Saat ini kasus orang terinfeksi virus COVID-19 penyebarannya begitu sangat pesat sehingga lebih dari 70 negara di dunia sudah terinfeksi. Di Indonesia sendiri pada tanggal 13 April 2020 sebanyak 4.557 kasus dengan angka kematian 399 orang. Penyebaran meluasnya virus COVID-19 berdampak terhadap semua bidang terutama pada bidang usaha dan jasa (WHO, 2020)

##### **2.1.2 Etiologi**

Infeksi Covid-19 belum diketahui seutuhnya. Pada awalnya diketahui virus ini mungkin memiliki kesamaan dengan SARS dan MERS CoV, tetapi dari hasil evaluasi genomik isolasi dari 10 pasien, didapatkan kesamaan mencapai 99% yang menunjukkan suatu virus baru, dan menunjukkan kesamaan (identik 88%) dengan *derived severe acute respiratory syndrome (SARS) like coronaviruses*, bat-SL-

CoVZC45 dan bat-SLCoVZXC21, yang diambil pada tahun 2018 di Zhoushan, Cina bagian Timur, kedekatan dengan SARS CoV adalah 79% dan lebih jauh lagi dengan MERS-CoV (50%) (Diah, 2019).

### **2.1.3 Penularan**

Virus corona merupakan zoonosis, sehingga terdapat kemungkinan virus berasal dari hewan dan ditularkan ke manusia. Pada Covid-19 belum diketahui dengan pasti proses penularan dari hewan ke manusia, tetapi data filogenetik memungkinkan Covid-19 juga merupakan zoonosis. Perkembangan data selanjutnya menunjukkan penularan antar manusia (human to human), yaitu diprediksi melalui droplet dan kontak dengan virus yang dikeluarkan dalam droplet. Hal ini sesuai dengan kejadian penularan kepada petugas kesehatan yang merawat pasien COVID-19, disertai bukti lain penularan di luar Cina dari seorang yang datang dari Kota Shanghai, Cina ke Jerman dan diiringi penemuan hasil positif pada orang yang ditemui dalam kantor. Pada laporan kasus ini bahkan dikatakan penularan terjadi pada saat kasus indeks belum mengalami gejala (asimtomatik) atau masih dalam masa inkubasi. Laporan lain mendukung penularan antar manusia adalah laporan 9 kasus penularan langsung antar manusia di luar Cina dari kasus index ke orang kontak erat yang tidak memiliki riwayat perjalanan manapun (Diah, 2019)

### **2.1.4 Studi *In Silico***

Studi *In Silico* merupakan metode untuk mengupayakan pendekatan simulasi nyata berbasis komputer menggunakan software tertentu, teknik simulasi komputasi berdasarkan teori kimia dan data percobaan, yang digunakan untuk membuat dan menganalisis molekul dan sistem molekulnya, serta memanipulasi, menghitung, dan memprediksi sifat-sifat kimia dan biokimia molekul obat (Johan, 2016).

## 2.2 Reseptor dan Jenis – jenis reseptor

Reseptor adalah molekul protein yang secara normal diaktivasi oleh transmittor atau hormon. Saat ini banyak reseptor yang telah banyak diklon dan diketahui urutan asam aminonya. Reseptor obat adalah suatu makromolekul dapat berupa lipoprotein, asam nukleat yang jelas dan spesifik terdapat dalam jaringan sel hidup, mengandung gugus-gugus fungsional atau atom-atom terorganisasi (Cartika, 2016). Terdapat empat jenis reseptor utama yaitu: (Neal, 2006)

1. *Agonist (ligand) gated channel* terdiri dari subunit protein yang membentuk pori sentral (misal: reseptor nikotin, reseptor GABA).
2. *G-protein coupled receptor* yaitu reseptor protein yang mengikat protein G membentuk suatu kelompok reseptor dengan tujuh heliks yang membentuk membran. Reseptor ini berkaitan dengan respon fisiologis oleh *second messenger*.
3. Reseptor inti untuk membentuk hormon steroid dan hormon tiroid terdapat dalam inti sel yang mengatur transkripsi dan selanjutnya sintesis protein.
4. *Kinase-linked receptor* adalah reseptor pada permukaan yang mempunyai aktivitas tirosin kinase intrinsik (misal: reseptor insulin, sitokin dan faktor pertumbuhan).

## 2.3 Molecular Docking

Molecular docking merupakan metode untuk mencari posisi optimal molekul ligan terhadap sisi aktif pengikatan dari struktur target (reseptor). Molecular docking sangat berguna dalam proses drug desain, seperti untuk memprediksi afinitas pengikatan dari inhibitor yang didesain terhadap enzim tertentu yang ingin di hambat aktivitasnya.

Teknik yang umum digunakan dalam mendesain kandidat molekul obat melalui pendekatan bioinformatika adalah simulasi docking. Simulasi docking yang termasuk bagian dari metode SBDD ini dapat dilakukan dengan menggunakan beberapa aplikasi seperti DOCK, AutoDock, FlexX, GOLD, GLIDE, dan lain-lain. Simulasi docking dapat membantu dalam

pelaksanaan virtual screening kandidat molekul obat (ligan) dengan melihat interaksi antara ligan dan reseptor. Interaksi yang dijadikan parameter adalah dengan mengetahui ikatan antara ligan dengan reseptor, konformasi ligan saat berikatan dengan reseptor, serta evaluasi dengan melihat afinitas ligan dengan reseptor berdasarkan energi bebas Gibbs (AG) (Syahputra, 2015).

## **2.4 Software Yang Digunakan**

### **2.4.1 MarvinSketch**

MarvinSketch ditujukan untuk menggambar struktur molekul, reaksi kimia, menampilkan sifat-sifat dari struktur dan masih banyak lagi. Untuk versi yang free, tidak semua fungsi ini dapat dijalankan karena ada beberapa plugin yang harus kita download dari internet. Selain untuk fungsi menggambar, MarvinSketch juga dapat digunakan untuk menampilkan data koefisien partisi, protonasi, analisis topologi (Asmara, 2016)

### **2.4.2 PDBsum**

PDBsum merupakan database bergambar yang memberikan gambaran sekilas tentang isi setiap struktur 3D yang disimpan di Protein Data Bank (PDB). PDBsum berisi sejumlah struktur protein yang menarik dalam desain obat berbasis struktur. Salah satu cabang dari PDBsum, yang dikenal sebagai DrugPort, berfokus pada model ini dan terkait dengan DrugBank sasaran obat basis data (Knox et al., 2011).

### **2.4.3 Autodock**

Autodock merupakan sebuah perangkat lunak yang dibangun untuk melakukan suatu prosedur dalam rangka memprediksi interaksi sebuah molekul kecil dari suatu senyawa dengan molekul target. Program ini bertujuan sebagai alat yang dapat digunakan pada komputer untuk membantu proses pembentukan interaksi yang akurat. Setiap proses docking dengan Autodock membutuhkan paling sedikit empat input file yaitu PDBQT file untuk ligan, PDBQT file untuk

reseptor atau protein, grid parameter file (GPF) dan docking parameter file (DPF) untuk perhitungan oleh Autodock (Yanuar, 2012).

#### **2.4.4 Molegro Molecular Viewer**

*Molegro Molecular Viewer* (MMV) merupakan aplikasi yang digunakan untuk mempelajari dan menganalisis bagaimana interaksi antara ligan dengan reseptor hasil docking dengan cara melihat interaksinya dalam bentuk 2 dimensi dan 3 dimensi (Wardani, 2012).

#### **2.4.5 PreADMET**

Program preADMET merupakan aplikasi berbasis web untuk memprediksi data absorpsi, distribusi, metabolisme ekskresi dan toksisitas (ADMET) dengan metode *in silico* (Lee dkk, 2003). Program tersebut diakses secara online melalui <http://preadmet.bmdrc.org/>. Parameter absorpsi dan distribusi yang diprediksi mencakup Human Intestinal Absorption (HIA) untuk memprediksi absorpsi di usus, Caco-2-cell (*Carcinoma coon bilayer*) permeabilitas pada sel MDCK (*Madin-Darby Canine Kidney*) untuk memprediksi reabsorpsi di ginjal, ikatan yang terjadi pada protein plasma dan kemampuan penetrasi ke dalam obat untuk memprediksi distribusi dalam tubuh. Parameter toksisitas yang diprediksi mencakup ames test. Ames tes adalah metode sederhana untuk menguji mutagenisitas senyawa, zat yang memiliki sifat mutagenik mempunyai kandungan karsinogenik dimana dapat menyebabkan mutasi genetik yang berperan terhadap berkembangnya kanker dalam sel sebuah organisme (Kartasasmitha et al, 2015).



## BAB III METODOLOGI PENELITIAN

### 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2021 sampai bulan Mei 2021 di Laboratorium Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Bakti Tunas Husada Tasikmalaya.

### 3.2 Alat dan Bahan

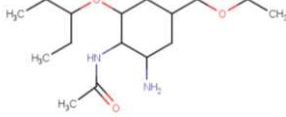
#### 3.2.1 Alat

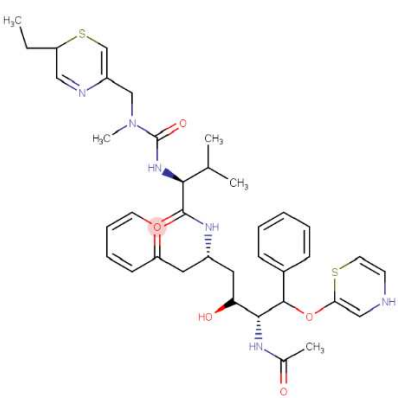
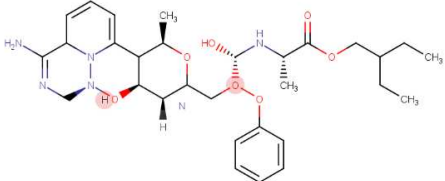
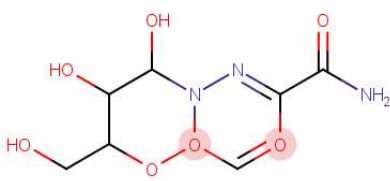
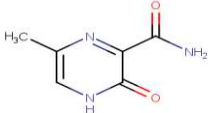
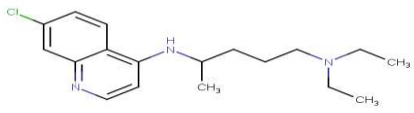
Perangkat yang digunakan berupa perangkat keras dan lunak komputer. Perangkat tersebut berupa personal computer dengan spesifikasi Core i7 dengan spesifikasi CPU @ 2.2 GHz, 8 GB of RAM, dan perangkat lunak yang digunakan adalah MarvinSketch, Autodoc, Molegro Molecule Viewer, dan program yang berbasis web PdbSum.

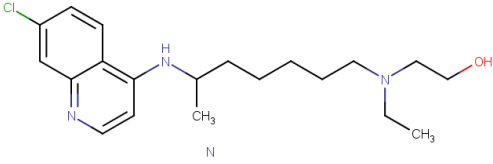
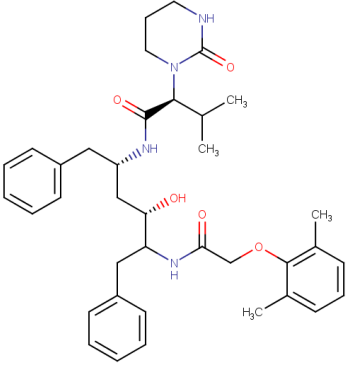
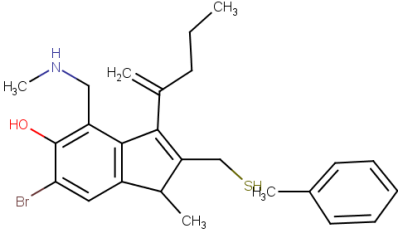
#### 3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pdb file dengan kode 1CET dan 4UDC serta reseptor obat sebagai berikut :

Tabel 3.1 Gambar Struktur Reseptor Obat

NO	NAMA OBAT	STRUKTUR
1.	Oseltamivir	

2.	Ritonavir	 <p>The chemical structure of Ritonavir is a complex molecule. It features a central chromane ring system. Attached to this system are several side chains: a propyl group, a methyl group, a hydroxyl group, a thiazolidine ring, and a thiazole ring. The thiazole ring is substituted with a methyl group and a propyl group. The thiazolidine ring is substituted with a methyl group and a hydroxyl group. The propyl group is attached to the thiazolidine ring via an oxygen atom. The methyl group is attached to the thiazole ring via a nitrogen atom.</p>
3.	Remdesivir	 <p>The chemical structure of Remdesivir is a complex molecule. It features a central pyrimidine ring system. Attached to this system are several side chains: a methyl group, a hydroxyl group, a phenyl ring, and a propyl group. The phenyl ring is attached to the pyrimidine ring via an oxygen atom. The propyl group is attached to the pyrimidine ring via a nitrogen atom. The methyl group is attached to the pyrimidine ring via a carbon atom. The hydroxyl group is attached to the pyrimidine ring via a carbon atom.</p>
4.	Ribavirin	 <p>The chemical structure of Ribavirin is a complex molecule. It features a central pyrimidine ring system. Attached to this system are several side chains: a methyl group, a hydroxyl group, a propyl group, and an amino group. The propyl group is attached to the pyrimidine ring via an oxygen atom. The amino group is attached to the pyrimidine ring via a carbon atom. The methyl group is attached to the pyrimidine ring via a carbon atom. The hydroxyl group is attached to the pyrimidine ring via a carbon atom.</p>
5	Favipiravir	 <p>The chemical structure of Favipiravir is a complex molecule. It features a central pyrimidine ring system. Attached to this system are several side chains: a methyl group, a hydroxyl group, a propyl group, and an amino group. The propyl group is attached to the pyrimidine ring via an oxygen atom. The amino group is attached to the pyrimidine ring via a carbon atom. The methyl group is attached to the pyrimidine ring via a carbon atom. The hydroxyl group is attached to the pyrimidine ring via a carbon atom.</p>
6	Chloroquine	 <p>The chemical structure of Chloroquine is a complex molecule. It features a central quinoline ring system. Attached to this system are several side chains: a chlorine atom, a methyl group, a propyl group, and an amino group. The chlorine atom is attached to the quinoline ring via a carbon atom. The propyl group is attached to the quinoline ring via a nitrogen atom. The amino group is attached to the quinoline ring via a carbon atom. The methyl group is attached to the quinoline ring via a carbon atom.</p>

7	Hydroxychloroquine	
8	Lopinavir	
9	Umifenovir hydrochloride	

### 3.3 Obat – obat yang digunakan

*Oseltamivir carboxylate* adalah analog asam sialik yang mempunyai efikasi yang baik sebagai *inhibitor virus neuraminidases*. Influenza A dan B virus *Oseltamivir carboxylate* mempunyai spektrum dan potensi antiviral mirip dengan *zanamivir*. Mekanisme kerjanya menghambat aktivasi enzim neuraminidase yang berfungsi dalam proses pelepasan virus baru dari sel yang terinfeksi sehingga mencegah penyebaran virus dalam saluran pernapasan. *Oseltamivir phosphate* diabsorpsi cepat dalam saluran cerna dan diubah menjadi bentuk aktif *carboxylatedi hepar*. *Bioavailabilitasnya* sekitar 80% dan waktu paruh *oseltamivir carboxylatesekitar* 6- 10 jam. Eliminasi di ginjal. Efek samping yang sering dilaporkan adalah mual, abdominal

discomfort, emesis, dan iritasi lokal. Beberapa melaporkan nyeri kepala progresif

Lopinavir /ritonavir adalah kombinasi obat legal dan terapi subterapi akan menghambat inhibit CYP3A- yang memediasi metabolisme lopinavir sehingga meningkatkan kadar lopinavir. Lopinavir/ritonavir pada umumnya dapat itoleransi dengan baik. Absoprsi lopinavir akan dipengaruhi oleh makanan. Lopinavir secara ekstensif akan dimetabolisme oleh CYP3A isoenzyme dari cytochrome P450 sistem yang dapat dihambat oleh ritonavir.

Kadar serum lopinavir dapat meningkat pada pasien dengan gangguan hati. Efek samping yang sering dilaporkan adalah diare, nyeri perut, muntah, dan astenik. Potensi interaksi obat sangat tinggi. Peningkatan dosis lopinavir dianjurkan apabila diberikan bersama dengan efavirenz atau nevirapin.

Remdesivir (GS-5734) adalah antivirus yang bersifat *broad-spectrum*. Obat ini dikembangkan Gilead Sciences 2017 sebagai terapi infeksi virus Ebola. Obat ini adalah analog adenosin dan *prodrug monophosphoramidate*. Remdesivir dimetabolisme menjadi bentuk aktifnya GS-441524 yang bekerja dengan menghambat kerja viral RNA polimerase dan menyebabkan penghentian nascent RNA virus Ebola dan penurunan produksi virus RNA. Studi in vitromemperlihatkan bahwa remdesivir dapat menghambat coronavirus seperti replikasi SARS-CoV dan MERS-CoV. Studi in vitromenggunakan sel line epitel saluran pernapasan manusia, remdesivir efektif menghambat CoVs, *prepandemic bat CoVs*, dan circulating contemporary human CoV pada sel primer paru manusia. Suatu studi memperlihatkan efektivitas remdesivir dan interferon lebih baik dibandingkan dengan lopinavir, ritonavir dan interferon beta baik in vitro maupun model tikus MERS-CoV. Berdasar atas hasil penelitian-penelitian di atas, remdesivir mungkin dapat menjadi salah satu pilihan terapi 2019-nCoV (COVID-19). Studi kasus terapi remdesivir pada pasien 2019-nCoV (COVID-19) diberikan dengan dosis intravena selama 7 hari. Favipiravir (T705) adalah asam nukleat purin yang bersifat antivirus yang broad spektrum. Obat ini dikenal juga dengan merk dagang Avigan dan merupakan tipe baru dari RNA-dependent

RNA polimerase (RdRp) inhibitor. Saat ini sedang dilakukan uji preklinis dan klinis untuk melihat efikasinya sebagai terapi COVID-19.

Favipiravir pertama kali dikembangkan di Jepang dan diindikasikan untuk pasien influenza yang tidak respon terhadap pengobatan konvensional. Beberapa studi memperlihatkan efektivitas favipiravir terhadap virus Ebola. Terapi strain virus corona pertama yg terdeteksi di Wuhan (WIV04) menggunakan enam obat yang secara in vitro telah diapprove oleh FDA sebagai anti Covid, yaitu: ribavirin, penciclovir, nitazoxanide, nafamostat, klorokuin dan dua (2) obat eksperimental: remdesivir dan favipiravir. Ribavirin adalah analog guanosin yang efektif menghambat replikasi virus DNA maupun RNA. Mekanisme ribavirin bukan hanya menghambat polimerase virus tetapi juga menghambat pembentukan guanosin endogen dengan secara langsung menghambat *inosine monophosphatedehydrogenase*.

Enzim ini memegang peranan penting dalam perubahan prekursor guanin menjadi guanosin. Antivirus indirek dari ribavirin diduga terkait dengan mekanisme imun pasien, walaupun dengan mekanisme yang belum diketahui pasti.

Klorokuin adalah bentuk amin asidotropik dari kina yang disintesis di Jerman oleh Bayer pada tahun 1934. Obat ini muncul sebagai pengganti kinin dari tumbuhan. Selama beberapa dekade, klorokuin adalah obat lini depan untuk pengobatan dan profilaksis malaria dan merupakan salah satu obat yang paling diresepkan di seluruh dunia. Klorokuin sulfat dan klorokuin fosfat telah dikomersialkan sebagai obat antimalaria. Hidroksiklorokuin juga telah digunakan sebagai antimalaria, tetapi selain itu sekarang banyak digunakan pada penyakit autoimun seperti lupus dan rheumatoid arthritis.

*Hydroxychloroquine* adalah obat yang sering dipakai untuk mencegah maupun mengatasi malaria. Meski begitu, obat ini tidak selalu efektif untuk semua jenis penyakit ini, khususnya di daerah yang infeksiusnya telah kebal terhadap obat jenis serupa, yakni *chloroquine* (Respati T et al, 2020).

### 3.4 Metode Penelitian/Prosedur kerja

#### 3.4.1 Preparasi Ligan

Preparasi ligan dilakukan dengan cara menggambar struktur senyawa menggunakan software MarvinSketch versi 19.27 kemudian dioptimasi geometri dengan cara klik *calculations* lalu dilakukan protonasi pada pH 7,4 dan disimpan dengan tipe file (.mrv). kemudian lakukan *conformational search* dan disimpan hasil pencarian dengan tipe file (.pdb) (Ruswanto, 2015) Prosedur diatas dilakukan pada setiap struk senyawa uji.

#### 3.4.2 Identifikasi Reseptor

Identifikasi reseptor dilakukan dengan cara mengidentifikasi reseptor yang telah di download di [www.rcsb.com](http://www.rcsb.com) kemudian dilihat di PDBsum, lalu akan muncul data profil dari reseptor tersebut.

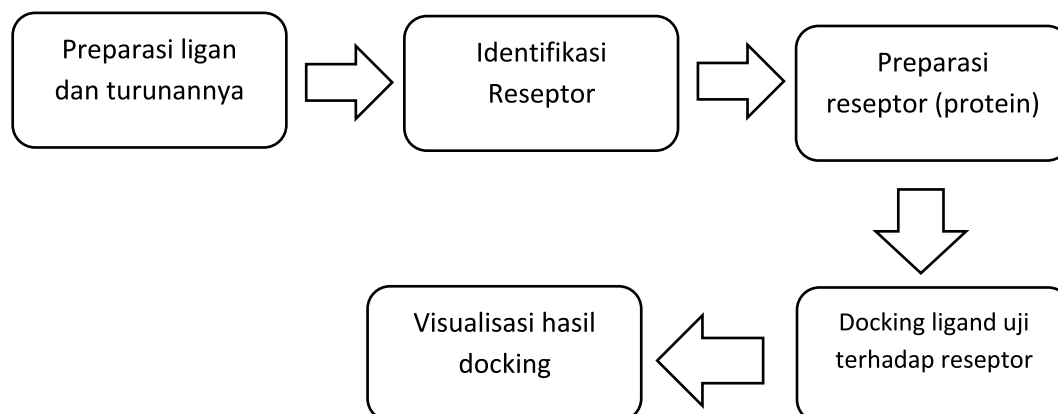
#### 3.4.3 Validasi Metode Docking

*Validasi metode docking* dilakukan dengan menggunakan *software Autodock*. Program Autodock divalidasi untuk mendapat metode yang dapat dipercaya. Reseptor yang digunakan adalah reseptor antivirus covid-19 hasil identifikasi dari Protein Data Bank (situs [www.rcsb.org/pdb](http://www.rcsb.org/pdb)). Parameter yang digunakan yaitu parameter *Root Mean Square Deviation* (RMSD) Metode docking dikatakan baik jika nilai RMSD-nya kurang dari sama dengan ( $\text{RMSD} \leq 2$ )

#### 3.4.4 Docking Ligan Uji dan Visualisasi Interaksi terhadap Protein Target

Proses docking ligan uji dilakukan dengan menggunakan software *Autodock*, masukkan protein target atau reseptor dan struktur senyawa uji. Kemudian senyawa uji didockingkan pada ligan binding site reseptor sesuai dengan gridbox yang telah dipakai pada proses validasi dengan metode sebelumnya. Hasil yang diperoleh dari proses docking ini adalah berupa energy best ligand pose atau berupa binding affinity senyawa atau ligand. Selanjutnya dari proses docking dapat dilihat interaksi antara ligan dengan sisi aktif reseptor menggunakan software MMV.

### 3.5 Bagan Alur Penelitian



Bagan 3.1 Alur Penelitian

### 3.6 Jadwal penelitian

Tabel 3.2 Jadwal Penelitian

Nama Kegiatan	Januari				Februari				Maret				April				Mei					
	Minggu Ke-				Minggu Ke-				Minggu Ke-				Minggu Ke				Minggu Ke					
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4		
Seminar Proposal	■	■																				
Preparasi Reseptor Dan <i>Ligand</i> Uji, Dan Modifikasi Struktur			■	■	■	■																
Docking <i>Ligand</i> Uji Dengan Reseptor							■	■	■	■												
Analisis data Dan Interpretasi Hasil									■	■	■	■	■	■								
Pembahasan																	■	■	■	■		
Siding Kolokium																				■		
Siding Komprehensif																				■		

## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

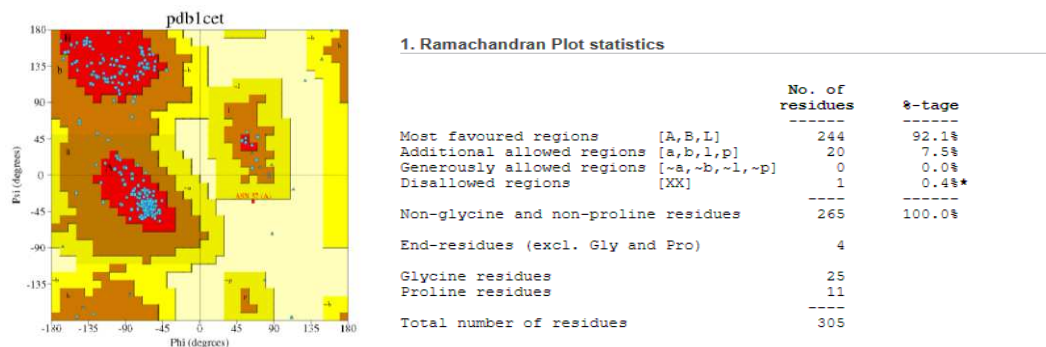
### 4.1 Analisis Reseptor

Langkah pertama yang dilakukan dalam proses penambatan senyawa adalah dengan cara mengunduh reseptor yang akan digunakan dilaman web Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>). Reseptor yang di unduh diantaranya adalah dengan kode 1CET dan 4UDC



**Gambar 4.1** Bentuk 3D reseptor kode 1CET dan 4UDC

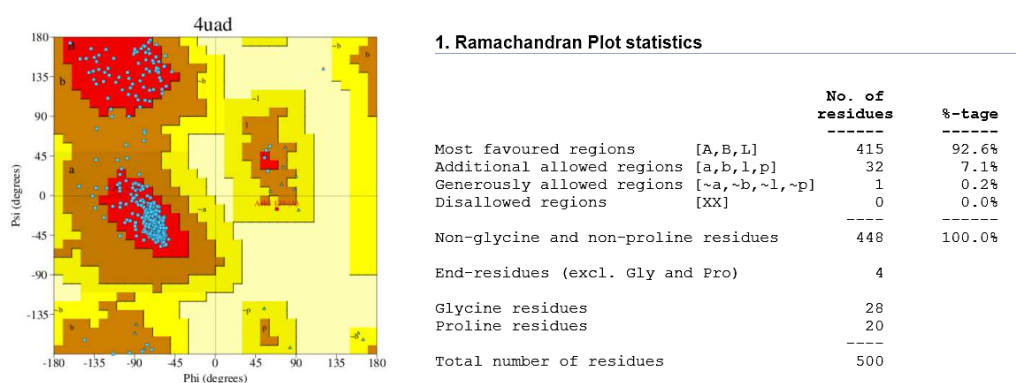
Reseptor yang telah diunduh dari Protein Data Bank kemudian diidentifikasi dengan menggunakan program PDBsum, yang mana didalam program PDBsum dapat dilihat makromolekuler struktur serta memberikan data skematik diagram dari molekul disetiap struktur dan interaksi antara molekul tersebut. Dimana reseptor yang diidentifikasi adalah reseptor dengan kode 1CET dan 4UDC lalu kemudian reseptor tersebut dianalisis dengan parameter Ramachandran Plot seperti pada gambar 4.2.



**Gambar 4.2** Ramachandran Plot kode reseptor 1CET



Berdasarkan Gambar 4.2 dapat dilihat bahwa dari hasil analisis Ramachandran Plot kode reseptor ICET merupakan struktur yang stabil karena presentasi residu pada wilayah yang sangat disukai (most favored region) sebesar 92,1 % dan pada wilayah yang tidak disukai sebesar (disallowed region) 0,4 %. Kualitas struktur protein dikatakan baik jika residu asam amino yang berada pada most favored region (daerah yang disukai) lebih besar dari 50% dan residu pada disallow region (daerah yang tidak diinginkan) lebih kecil dari 15% (Amelia, 2016).



**Gambar 4.4** Ramachandran Plot kode reseptor 4UDC

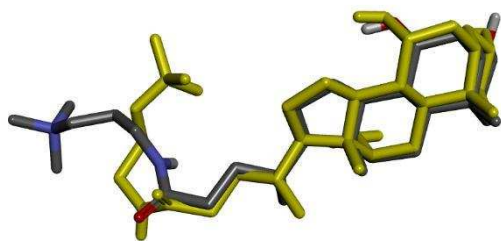
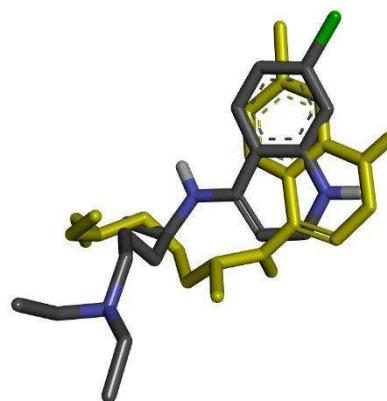
Berdasarkan analisis gambar 4.4 Ramachandran Plot dapat dilihat bahwa reseptor 4UDC merupakan struktur yang stabil karena presentasi residu pada wilayah yang sangat disukai (most favored region) sebesar 92,6 % dan pada wilayah yang tidak disukai sebesar (disallowed region) 0,0 %.

## 4.2 Validasi Metode Docking

Sebelum melakukan docking harus melakukan validasi docking terlebih dahulu supaya metode yang digunakan dapat dikatakan valid atau tidak. Validasi metode molecular docking dilakukan dengan men-docking-kan kembali native ligand pada protein target yang sudah dihilangkan native ligand-nya menggunakan program Autodock 4.2. Metode dikatakan valid apabila nilai RMSD yang diperoleh <2 sehingga dapat dilakukan docking senyawa uji dengan protein target (Susanti, 2017). Untuk memperoleh metode yang valid, maka dilakukan pengaturan pada grid box dan didapatkan hasil validasi metode docking seperti pada tabel 4.1.

**Tabel 4.1** Hasil Validasi Metode *Docking*

No	Kode PDB	Native Ligan	Grid Box			RMSD
			X	Y	Z	
1	1CET	<b>N4-(7-CHLORO-QUINOLIN-4-YL)-N1,N1-DIETHYL-PENTANE-1,4-DIAMINE</b> C <sub>18</sub> H <sub>26</sub> Cl N <sub>3</sub> WHTVZRBIWZFKQO-CQSZACIVSA-N	36,211	10,539	19,336	1,63
2	4UDC	<b>3-[3-(3-CHOLAMIDOPROPYL)DIMETHYLAMMONIO]-1-PROPANESULFONATE</b> C <sub>32</sub> H <sub>58</sub> N <sub>2</sub> O <sub>7</sub> S UMCMPZBLKLEWAF-BCTGSCMUSA-N <b>DEXAMETHASONE</b> C <sub>22</sub> H <sub>29</sub> F O <sub>5</sub> UREBDLICKHMUKA-CXSFZGCWSA-N	-2,653	42,076	-25,133	1,37

**Gambar 4.5** Visualisasi RMSD kode reseptor 4UDC**Gambar 4.6** Visualisasi RMSD kode reseptor 1CET

Dari kedua kode reseptor yang di uji dapat dilihat semua hasil validasi dockingnya menunjukkan hasil yang sesuai kriteria docking yakni nilai RMSD-nya  $>2$  sehingga selanjutnya bisa dilakukan docking dengan senyawa obat uji. Metode docking dikatakan baik jika nilai RMSD-nya kurang dari atau sama dengan  $\leq 2$  (Susanti, 2017)

### 4.3 Desain dan Preparasi Ligan

Untuk preparasi ligan dapat dilakukan dengan cara menggambar struktur ligan terlebih dahulu dalam bentuk 2D menggunakan software MarvinSketch kemudian setelah itu ligan yang telah digambar dioptimasi geometri. Ligan

pertama-tama diprotonasi pada pH 7,4 yang bertujuan untuk menyesuaikan dengan kondisi pH darah dalam tubuh manusia. Tahapan protonasi dilakukan dengan metode Major Microspecies lalu kemudian disimpan dalam format .mrv, Setelah itu dilakukan Conformation terhadap senyawa yang telah diprotonasi untuk memperoleh posisi molekul yang paling stabil untuk berinteraksi dengan sisi aktif reseptor atau protein. Penentuan konformasi ini menggunakan metode conformers. Pada proses ini didapatkan konformasi 3D yang mempunyai energi bebas yang optimal, kemudian disimpan dalam format .pdb yang mana selanjutnya akan dilakukan proses docking (Rachmania et al, 2017)

#### 4.4 Screening Ligand Based Drug Likeness (Drug Scan)

Pengamatan *Drug Scan* dilakukan pada senyawa obat uji dengan menggunakan *software MarvinSketch 19.27*. Analisis pengamatan obat tersebut dapat dilakukan dengan mempertimbangkan aturan Lipinski's rule of five. Parameter *Lipinski* yang bertujuan untuk mengevaluasi apakah senyawa obat uji memiliki aktivitas farmakologis dan biologis atau tidak sehingga dapat dijadikan obat aktif pada manusia. Parameter ini sangat penting untuk penggunaan kandidat obat secara oral. Hasil pengujian *drug scan* dapat dilihat pada table dibawah ini :

**Tabel 4.2** Hasil Pengujian Drug Scan Menurut Aturan Lipinski's Rule of Five

No	Nama Senyawa	Parameter				
		Berat Molekul (<500)	Lipofilitas (<5)	Donor Ikatan Hidrogen (<5)	Akseptor Ikatan Hidrogen (<10)	Refractory Molar (40-130)
1	Oseltamivir	312,404	2,37	2	6	84,517
2	Ritonavir	720,944*	7,077*	4	11*	197,823*
3	Remdesivir	312,404	3,284	4	13*	150,430*
4	Ribavirin	244,204	3,284	4	8	51,063
5	Favipiravir	157,102	0,291	2	4	32,910*
6	Chloroquine	319,872	4,883	1	3	97,410
7	Hydroxychloroquine	335,871	3,856	2	4	98,572
8	Lopinavir	628,814*	5,376*	4	9	187,919*
9	Umifenovir hydrochloride	477,414	5,177*	1	5	122,693

**Keterangan:** Parameter yang ditandai dengan tanda \* adalah parameter yang tidak memenuhi peraturan *lipinski's rule of five*.

Berdasarkan dari tabel 4.2 hasil drug scan 9 senyawa uji menunjukkan ada 5 senyawa obat yang tidak memenuhi peraturan *lipinski's rule of five* senyawa tersebut yaitu *Ritonavir*, *Remdesivir*, *Favipiravir*, *Lopinavir*, *Umifenovir hydrochloride* sedangkan 4 senyawa lainnya memenuhi persyaratan. Adapun syarat yang harus dipenuhi oleh suatu ligan berdasarkan aturan Lipinski adalah berat molekul < 500 Da, nilai LogP < 5, ikatan hidrogen akseptor < 10 dan molar refractivity antara 40-130. Ligan dengan berat molekul < 500 Da lebih mudah menembus membran sel dibandingkan ligan yang berat molekulnya > 500 Da. Drug-Likeness mengacu pada kemiripan suatu senyawa dengan obat oral. Adapun metode untuk mengevaluasi drug-likeness ini yaitu menggunakan aturan Lipinski's Rule of Five. Proses distribusi obat terjadi dengan cara menembus membran biologis melalui proses difusi. Nilai berat molekul berkaitan dengan proses distribusi obat. Obat yang memiliki berat molekul lebih dari 500 akan mempunyai ukuran molekul yang besar sehingga akan sulit untuk menembus membran biologis. Sedangkan obat yang memiliki berat molekul lebih kecil akan memiliki ukuran molekul yang kecil sehingga akan memudahkan obat untuk menembus membran biologis. Nilai logP berkaitan dengan polaritas ligan dalam pelarut lemak, minyak maupun pelarut non polar. Ligan dengan nilai log P > 5 akan berinteraksi lebih mudah menembus lapisan lipid bilayer pada membran sel dan terdistribusi luas di dalam tubuh. Hal ini menyebabkan sensitifitas ikatan ligan terhadap molekul target berkurang dan toksisitas ligan meningkat. Semakin kecil nilai log P maka ligan cenderung larut dalam air dan bersifat hidrofilik (Abdul, 2016).

#### **4.5 Docking**

Docking dilakukan dengan menggunakan software Autodock. Reseptor hasil validasi dimasukkan ke dalam software tersebut lalu digunakan ligan alami yang digunakan untuk proses validasi, selanjutnya diatur grid box nya. Penggunaan grid box pada proses docking ini sesuai dengan grid box yang digunakan untuk ligan alami. Hal ini bertujuan agar ligan uji dapat berinteraksi pada daerah di dalam reseptor. Adapun docking yang dilakukan adalah antara senyawa uji dengan empat reseptor yang berbeda. Hasil yang diperoleh berupa nilai Hal ini

menyebabkan sensitifitas ikatan ligan terhadap molekul target berkurang dan toksisitas ligan meningkat. Semakin kecil nilai log P maka ligan cenderung larut dalam air dan bersifat hidrofilik ai binding affinity (Ruswanto, 2015).

#### 4.6 Analisis Hasil Docking dan Visualisasi

Hasil docking antara ligan dan protein target menghasilkan berbagai konformasi dari senyawa yang diuji. Adapun yang harus diperhatikan dari hasil docking tersebut adalah ikatan energi atau bisa disebut *binding affinity*. *Binding affinity* merupakan ukuran kemampuan obat untuk berikatan pada reseptor. Semakin kecil nilai *binding Affinity* maka afinitas antara reseptor dengan ligan semakin tinggi begitu pula sebaliknya semakin besar nilai *binding Affinity* maka afinitas antara reseptor semakin rendah. Hasil dari docking senyawa obat target dengan ke-empat reseptor yang berbeda dapat dilihat pada tabel berikut ini.

**Tabel 4.3** Hasil Docking Senyawa obat uji dengan reseptor kode 1CET

NO	NAMA SENYAWA	BINDING AFFINITY
	N4-(7-CHLORO-QUINOLIN-4-YL)-N1,N1-DIETHYL-PENTANE-1,4-DIAMINE C <sub>18</sub> H <sub>26</sub> Cl N <sub>3</sub> WHTVZRBIWZFKQO-CQSZACIVSA-N (Native Ligan)	<b>-5.04</b>
1	Oseltamivir	-6.71
2	Ritonavir	-4.88
3	Remdesivir	-7.45
4	Ribavirin	-5.15
5	Favipiravir*	-4.07
6	Chloroquine	-5.02
7	Hydroxychloroquine	-5.23
8	Lopinavir	-4.68
9	Umifenovir hydrochloride	-6.89

Keterangan: senyawa obat yang ditandai dengan tanda \* adalah senyawa obat yang memiliki nilai *binding affinity* paling kecil.

Dari tabel 4.3 dapat dilihat bahwa dari 9 senyawa obat uji yang telah di dockingkan dengan reseptor kode 1CET didapatkan hasil bahwa senyawa obat

Favipiravir mempunyai nilai binding affinity paling kecil yakni -4,07 lebih kecil dibandingkan dengan 9 senyawa lainnya dan native ligannya (Chloroquine).

**Tabel 4.4** Hasil Docking Senyawa obat uji dengan reseptor kode 4UDC

NO	NAMA SENYAWA	BINDING AFFINITY
	3-[(3- <b>CHOLAMIDOPROPYL</b> ) <b>DIMETHYLAMMONIO</b> ]- <b>1-PROPANESULFONATE</b> C <sub>32</sub> H <sub>58</sub> N <sub>2</sub> O <sub>7</sub> S UMCMPZBLKLEWAF-BCTGSCMUSA-N <b>DEXAMETHASONE</b> C <sub>22</sub> H <sub>29</sub> F O <sub>5</sub> UREBDLICKHMuKA-CXSFZGCWSA-N (Native Ligan)	-5.72
1	Oseltamivir	-5.72
2	Ritonavir	-4.23
3	Remdesivir	-5.61
4	Ribavirin	-4.73
5	Favipiravir*	-3.17
6	Chloroquine	-4.39
7	Hydroxychloroquine	-4.18
8	Lopinavir	-4.79
9	Umifenovir hydrochloride	-5.71

Keterangan: senyawa obat yang ditandai dengan tanda \* adalah senyawa obat yang memiliki nilai *binding affinity* paling kecil.

Dari tabel 4.4 dapat dilihat bahwa dari 9 senyawa obat uji yang telah di dockingkan dengan reseptor kode 4UDC didapatkan hasil bahwa senyawa obat Favipiravir mempunyai nilai binding affinity paling kecil yakni -3,17 lebih kecil dibandingkan dengan 9 senyawa lainnya dan native ligannya (Dexamethasone).

Setelah dilihat keseluruhan tabel dari kode reseptor yang berbeda didapatkan nilai hasil yang terbaiknya yaitu kode 1CET dengan senyawa obat uji favipiravir memiliki binding affinity -4,07 dan kode reseptor 4UDC dengan senyawa uji obat favipiravir memiliki nilai binding affinity -3,17. Sehingga dapat disimpulkan bahwa dari ke-dua kode reseptor yang telah di dockingkan dengan senyawa obat uji didapatkan senyawa terbaiknya yaitu favipiravir dengan kode reseptor 4UDC yang memiliki nilai binding affinity terkeci yaitu -3,17.

Adapun nilai binding affinity itu sendiri merupakan suatu ukuran kemampuan obat untuk berikatan dengan reseptor. Semakin kecil nilai binding

affinity yang didapatkan maka afinitas antara reseptor dengan ligan semakin tinggi begitupun sebaliknya jika semakin besar nilai binding affinity maka afinitas antara reseptor semakin rendah.

Setelah proses docking selesai maka dilakukan proses visualisasi hasil docking dalam bentuk 2D menggunakan software Discovery Studio Visualisasi ini bertujuan untuk melihat interaksi antara ligan dengan residu asam amino pada reseptor. Interaksi yang dapat diamati diantaranya adalah ikatan hydrogen dan ikatan hidrofobik. Ikatan hydrogen merupakan ikatan yang terlibat antara dua molekul, yang salah satunya bertindak sebagai donor dan yang lainnya sebagai akseptor. Hidrogen donor mengandung gugus fungsi yang mempunyai proton yang terikat pada atom elektronegatif. Sedangkan ikatan hidrofobik adalah ikatan yang menggabungkan antara daerah polar pada molekul obat dan daerah polar pada reseptor biologis. Adanya ikatan hydrogen dan ikatan hidrofobik dapat mempengaruhi sifat fisika kimia obat dan kestabilan konformasi yang terjadi antara ligan dan reseptor, sehingga berperan penting terhadap aktivitas biologis obat (Ramadiansyah, 2018).





## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa dari sembilan senyawa obat yang telah diujikan dengan kode reseptor 1CET dan 4UDC didapatkan senyawa terbaik yang memiliki nilai binding affinity paling kecil yakni senyawa *favipiravir* dengan kode reseptor 4UDC yang memiliki nilai binding affinity terkecil yaitu (-3,17 kkal/mol) yang berarti senyawa obat tersebut mempunyai interaksi yang lebih baik daripada senyawa nativ ligan .Senyawa obat uji favipiravir juga telah di lakukan pengujian drug scan dan hasilnya cukup baik sesuai dengan persyaratan dengan hasil berat molekul 157,102 (<500), Lipofilitasnya sebesar 0,291 (<5) Donor Ikatan Hidrogennya 2 (<5), Akseptor Ikatan Hidrogennya 4 (<10) dan yang terakhir Refactory Molarnya didapat hasil 32,910 (40-130). Dengan demikian senyawa obat *favipiravir* mempunyai potensi yang baik terhadap aktivitas sebagai obat covid-19 melalui penghambatan protein dan didukung oleh adanya ikatan hidrogen antara ligand dengan reseptor.

#### 5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan *Molecular Dynamic*