



Jurnal Pharmacia Mandala Waluya Vol.3 No.5
ISSN : 2829-6850
<https://jurnal-pharmaconmw.com/jpmw/index.php/jpmw>
DOI : <https://doi.org/10.54883/jpmw.v3i5.126>



Permodelan Farmakofor Remdesivir dan Skrining Virtual dari Basis Data Senyawa Bahan Alam Sebagai Inhibitor SARS-CoV-2

Putri Mega Wijayanti*, Abd Muthalib, Citra Dewi, Muhammad Isrul
Prodi Farmasi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Mandala Waluya, Kendari, Indonesia

ABSTRAK

Corona virus disease-19 (COVID-19) adalah penyakit yang disebabkan oleh SARS-CoV-2 yang muncul awal Desember tahun 2019 di Wuhan, China. Sifat virus corona tersebut mudah menginfeksi manusia dan sudah menyebar hampir keseluruh penjuru dunia. Salah satu reseptor yang memiliki peran penting untuk mereplikasi virus adalah reseptor non struktural. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas dari senyawa bahan alam berdasarkan farmakofor remdesivir terhadap inhibitor SARS-CoV-2 sebagai obat SARS-CoV-2. Penelitian ini menggunakan metode pemodelan farmakofor, skrining virtual dan penambatan molekuler data base senyawa bahan alam. Senyawa bahan alam diperoleh dari *data base coconut nature produk* dan menggunakan reseptor 7qg7. Hasil pemodelan menghasilkan 1 fitur hidrofobik, 2 fitur H bond akseptor, dan 1 fitur H bond donor dengan nilai Area Under Curve rentang 0,50-1,0. Skrining terhadap database Coconut Natural Product menghasilkan sebanyak 97,214 senyawa hit yang kemudian akan dilakukan penambatan molekul untuk mengetahui energi ikatan dan interaksi terhadap reseptor SARS-CoV-2. Hasil penelitian yang didapatkan pada validasi model farmakofor dilihat dengan menggunakan parameter AUC100% di dapatkan hasil 0,53. Sedangkan untuk parameter validasi penambatan molekul dilihat berdasarkan nilai RMSD, nilai RMSD yang diperoleh antara reseptor yaitu 1,48Å. Hasil analisis penambatan molekul menunjukkan bahwa Senyawa CNP0015469 nilai (ΔG) = -8.27 kkal/mol dan konstanta inhibisi (KI) = 866.80nM memiliki nilai afinitas lebih baik bila dibandingkan dengan ligan alami (U08). Pada interaksi asam amino ditunjukkan bahwa senyawa CNP0015469 memiliki 24 ikatan asam amino.

Kata Kunci: SARS-CoV-2; Farmakofor Remdesivir; Skrining Virtual; Penambatan Molekuler

Remdesivir Pharmacophore Modeling and Virtual Screening of Natural Compound Databases as SARS-CoV-2 Inhibitors

ABSTRACT

Corona virus disease-19 (COVID-19) is a disease caused by SARS-CoV-2 that appeared in early December 2019 in Wuhan, China. The nature of the corona virus is easy to infect humans and has spread almost all over the world. One of the receptors that has an important role to replicate the virus is a non-structural receptor. The purpose of this study was to determine the activity of natural compounds based on pharmacophore remdesivir against SARS-CoV-2 inhibitors as SARS-CoV-2 drugs. This study uses pharmacophore modeling method, virtual screening and molecular tethering of natural compound database. Natural compounds were obtained from the coconut nature product database and used the 7qg7 receptor. Modeling results produced 1 hydrophobic feature, 2 H bond acceptor features, and 1 H bond donor feature with Area Under Curve values ranging from 0.50-1.0. Screening of the Coconut Natural Product database resulted in 97,214 hit compounds which will then be carried out molecular tethering to determine the binding energy and interaction with the SARS-CoV-2 receptor. The research results obtained in the validation of the pharmacophore model are seen using the AUC100% parameter obtained the result of 0.53. As for the validation parameters of molecular tethering seen based on the RMSD value, the RMSD value obtained between receptors is 1.48Å. The results of molecular tethering analysis showed that the CNP0015469 compound value (ΔG) = -8.27 kcal/mol and inhibition constant (KI) = 866.80nM had a better affinity value when compared to the natural ligand (U08). The amino acid interaction showed that compound CNP0015469 has 24 amino acid bonds.

Keywords : SARS-CoV-2; Remdesivir Pharmacophore; Virtual Screening; Molecular Docking

Penulis Korespondensi :

Putri Mega Wijayanti
Prodi Farmasi, Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Mandala Waluya
E-mail : putrymegaa789@gmail.com
No. Hp : 081381322880

Info Artikel :

Submitted : 28 Oktober 2023
Revised : 30 Oktober 2023
Accepted : 11 Desember 2023
Published : 19 Oktober 2024

PENDAHULUAN

Corona virus disease-19 (COVID-19) adalah penyakit yang disebabkan oleh SARS-CoV-2 yang muncul awal Desember tahun 2019 di Wuhan, China. Sifat virus corona tersebut mudah menginfeksi manusia dan sudah menyebar hampir keseluruh penjuru dunia. Oleh karena itu, terjadilah pandemik COVID-19. Hingga 24 november 2021 dikofirmasi total kasus COVID-19 didunia adalah 258.164.425 kasus dengan total 5.166.192 kematian di 204 negara terjangkit (WHO, 2021).

Di Indonesia COVID-19 pertama dilaporkan pada tanggal 2 Maret 2020 sebanyak dua kasus. Data sejak Maret 2020 menunjukkan kasus yang terkonfirmasi berjumlah 6.018.084 kasus dan 155.247 kasus kematian. Berdasarkan data kementerian kesehatan hingga 2 Januari 2022, jumlah kasus positif COVID-19 di Provinsi Sulawesi Tenggara telah mencapai 20.173 kasus terkonfirmasi dan 528 kasus kematian.

Tingkat mortalitas COVID-19 di Indonesia sebesar 8,9%, angka ini merupakan yang tertinggi di Asia Tenggara. Pada ibu hamil yang terinfeksi COVID-19 memiliki tingkat morbiditas dan mortalitas yang lebih tinggi termasuk kelahiran prematur, preeklamsia, morbiditas neonatus, morbiditas dan mortalitas perinatal termasuk lahir mati. beberapa penelitian mendapatkan bahwa *overweight* dan obesitas adalah kategori indeks massa tubuh yang paling berpengaruh terhadap morbiditas dan mortalitas COVID-19 (Cahaya *et al.*, 2022).

Analisis genomik menunjukkan bahwa SARS-CoV-2 memiliki kemiripan dengan virus Korona terdahulu yaitu SARS-CoV dan *Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus* (MERS-CoV) (Islam *et al.*, 2023). Dalam usaha penanggulangan wabah COVID-19, beberapa

pendekatan pengobatan telah dilakukan. Salah satunya yaitu dengan mencoba beberapa antivirus yang telah terbukti efektif dalam menghambat perkembangan SARS-CoV-2.

Penelitian *in vitro* baru-baru ini menemukan bahwa Favipiravir dan Remdesivir secara nyata menghambat infeksi SARS-CoV-2 pada sel normal Vero E6, penelitian terbaru telah melaporkan bahwa beberapa obat antivirus tersebut telah diuji cobakan pada pasien SARS-CoV-2 diantaranya adalah Hidroksiklorokuin, Lopinavir, Ritonavir dan Remdesivir (Huang *et al.*, 2020).

Menurut COVID19 *Treatment Guidelines Panel*, 2020 hidroklorokuin memiliki efek imunomodulator, dan dihipotesis efek ini merupakan mekanisme potensial untuk mengobati Covid-19. Namun, tidak merekomendasikan penggunaan klorokuin dan hidroklorokuin dengan azitromisin maupun tanpa azitromisin baik pada pasien rawat inap maupun rawat jalan Covid-19, kecuali pada uji klinis.

Lopinavir/ ritonavir memiliki aktivitas terhadap SARS-CoV-2, namun memiliki indeks selektivitas yang rendah, artinya membutuhkan dosis yang lebih tinggi daripada level toleransi obat untuk mendapatkan hasil yang signifikan (Chen *et al.*, 2020). Maka dari itu, tidak direkomendasikan penggunaan lopinavir/ ritonavir pada terapi Covid-19, kecuali pada uji klinis . Pada studi *in vitro*, hewan uji yang diberi perlakuan remdesivir terbukti memiliki level virus yang rendah dan kerusakan virus yang kecil dibandingkan dengan hewan kontrol (Williamson *et al.*, 2020).

Remdesivir merupakan obat yang disetujui oleh FDA sebagai obat terapi Covid-19 pada pasien rawat inap dewasa dan pediatrik (umur ≥ 12 tahun dan berat ≥ 40 kg) dan sebagai penggunaan darurat pada

pediatrik berat badan < 3,5 kg sampai < 40 kg atau < 12 tahun $\geq$ 3,5 kg (COVID-19 Treatment Guidelines Panel, 2020). Remdesivir merupakan obat fosforamidat yang dimetabolisme dalam sel untuk menghasilkan analog nukleotida tripospat (NTP) aktif yang kita sebut sebagai remdesivir triphosphate (RTP).

Pada studi biokimia menunjukkan bahwa RNA Dependent RNA Polymerase (RdRp) dapat menggunakan RTP sebagai substrat, yang mengarah pada penggabungan remdesivir mono phosphate (RMP) ke dalam produk RNA yang sedang tumbuh. Setelah penggabungan RMP, RdRp memperluas RNA dengan tiga nukleotida lagi sebelum terhenti. Mekanisme penghentian ini hanya untuk virus corona karena RdRp virus Ebola dapat menambahkan lima nukleotida RNA setelah penggabungan RMP sebelum terhenti (Tchesnokov *et al.*, 2019).

Upaya penemuan dan pengembangan obat baru, senyawa bahan alam dengan keragaman kimia dan aktivitas biologinya dapat menjadi sumber obat yang baik dan telah menjadi fokus banyak penelitian karena dinilai jauh lebih aman ditinjau dari tingkat toksisitasnya. Mempertimbangkan akan adanya kebutuhan inhibitor SARS-CoV-2 yang lebih poten dengan tingkat keamanan yang lebih baik, maka dalam penelitian ini akan dilakukan pemodelan dan skrining terhadap suatu basis data senyawa bahan alam untuk mengidentifikasi inhibitor SARS-CoV-2 dengan pendekatan *Computer-Aided Drug Design* (CADD). Pendekatan ini dinilai efisien karena dapat menghemat waktu dan biaya (Sliwoski, & Lowe, 2014).

Pada pendekatan *Computer-Aided Drug Design* (CADD) terdiri atas desain obat berbasis struktur dan berbasis ligan. Untuk metode yang berbasis struktur antara lain adalah

penambatan molekul, molekular dinamik, skrining virtual dan pemodelan farmakofor (Arba *et al.*, 2020). Metode skrining virtual merupakan salah satu penunjang dalam penemuan dan pengembangan obat baru. Dengan metode skrining virtual proses pengembangan dan sintesis obat menjadi lebih cepat, efisien dan terarah.

Farmakofor berbasis struktur merupakan metode alternatif untuk pendekatan berbasis struktur dan memiliki keuntungan untuk menggambarkan keseluruhan kemampuan interaksi dari kantong pengikat (Muchtaridi *et al.*, 2017).

Berdasarkan penelitian sebelumnya dan mengingat pentingnya suatu pengembangan obat baru pada SARS-CoV-2. maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai pemodelan farmakofor remdesivir dan skrining virtual dari basis data senyawa bahan alam sebagai inhibitor SARS-CoV-2.

METODE

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah Perangkat Keras Laptop Acer Aspire 5 dengan spesifikasi Windows 10 Home, 11th Gen Intel(R) Core(TM) i3-1115G4 @ 3.00GHz 3.00 GHz, RAM 4GB DDR3. Perangkat lunak (Software) yang digunakan yaitu *BIOVIA Discovery Studio Visualizer* 2019, *MGL Tools* versi 1.5.6, *Auto Dock Tools* versi 4.2, *LiganScout Advance* versi 4,3, *DecoyFinder* 2.0, dan *BindingDB*.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Struktur 3D yang terdapat pada senyawa bahan alam dengan format .sdf. dan struktur 3D terdapat pada reseptor remdesivir yang diunduh dari Bank Data Protein dengan situs <http://www.rsbc.org/pdb/>. Kode protein PDB 7QG7 dengan format .sdf.

Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah struktur senyawa bahan alam yang diperoleh dari situs (<https://coconut.naturalproducts.net/download>). Sampel dalam penelitian ini adalah struktur 3D senyawa bahan alam.

Prosedur Penelitian

Penelitian dilakukan dengan preparasi struktur markomolekul, preparasi *active set* dan *decoy set*, pemodelan dan validasi model farmakofor, penyaringan database berdasarkan model farmakofor, dan penambatan molekuler.

Pengolahan dan Analisis Data

Reseptor diunduh pada website RSCB dengan identitas 7QG7, dibuat *active set* dan *decoy set* menggunakan ligandsqout, selanjutnya Pemodelan dan Validasi Farmakofor dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak

ligandsqout, farmakofor yang divalidasi digunakan untuk skrining data base senyawa bahan alam *coconut nature produk*.

Selanjutnya dilakukan validasi metode penambatan molekul dengan cara redocking ligan alami dan reseptor, kemudian dilakukan penambatan molekul senyawa hasil skrining. Analisis hasil docking menggunakan *Software Discovery Studio* untuk melihat interaksi senyawa bahan alam terhadap Inhibitor SARS-CoV-2

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Informasi Reseptor dari Situs PDB (*Protein Data Bank*)

Analisis informasi reseptor yang diperoleh melalui situs PDB (<https://www.rcsb.org/>) dengan kode PDB 7QG7 yang digunakan untuk protein target dapat dilihat pada tabel 1.

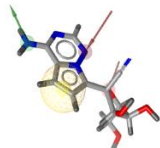
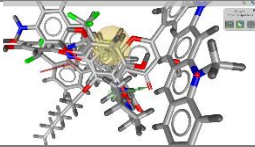
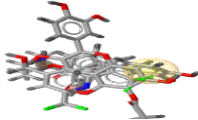
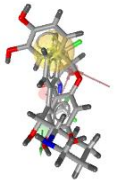
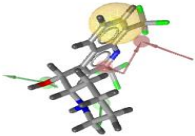
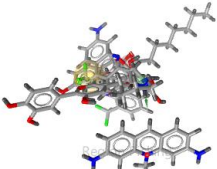
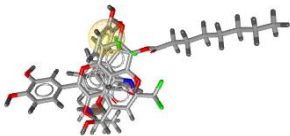
Tabel 1. Informasi Reseptor

Nama :	<i>SARS-CoV-2 macrodomain Nsp3b bound to the remdesivir nucleoside GS-441524</i>
Klasifikasi :	<i>Viral protein</i>
Kode PDB :	<i>7QG7</i>
Organisme :	Severe acute respiratory syndrome corona virus 2
Metode :	X-RAY DIFFRACTION
Resolusi :	1.72
Mutasi :	0

Reseptor dengan kode PDB 7QG7 merupakan makrodomain SARS-CoV-2 Nsp3 yang terikat pada nukleosida remdesivir GS-441524 dengan resolusi 1,71 Å. Remdesivir adalah salah satu antivirus yang digunakan untuk mengobati virus corona. pemberian langsung struktur kristal (7QG7) lebih efektif dalam menghambat replikasi virus pada model uji tikus.

Resolusi struktur pada kristal (7QG7) adalah 1,71 Å hal ini telah sesuai dengan rentang resolusi yang baik yaitu sebesar 1,5-2,7Å, karena pada rentang tersebut protein akan stabil dalam melakukan penambatan molekuler (Tsika *et al.*, 2022). Adapun hasil pemodelan validasi model farmakofor dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Validasi Model Farmakofor

Model	Fitur Farmakofor	Jumlah Hits	Aktif Set	Decoy Set	AUC-ROC
	1 fitur Hidrofobik, 2 fitur H bond akseptor, 1 fitur H bond donor	9	16	15	0,53
	1 fitur Hidrofobik, 1 fitur H bond akseptor, 1 fitur H bond donor	11	16	15	0,52
	1 fitur Hidrofobik, 3 fitur H bond akseptor, 1 fitur H bond donor	6	16	15	0,50
	1 fitur Hidrofobik, 3 fitur H bond akseptor, 3 fitur H bond donor	4	16	15	0,50
	1 fitur Hidrofobik, 2 fitur H bond akseptor, 2 fitur H bond donor	2	16	15	0,50
	1 fitur Hidrofobik, 1 fitur H bond akseptor, 1 fitur H bond donor	8	16	15	0,49
	1 fitur Hidrofobik, 4 fitur H bond akseptor, 3 fitur H bond donor	6	16	15	0,49

Pembuatan *active set* dan *decoy set* dilakukan dengan pencarian informasi mengenai inhibitor SARS-CoV-2 dengan menggunakan berbagai sumber dari *database* dan jurnal khususnya yang mentarget *non structural protein 3*. Senyawa yang diketahui aktif tersebut diunduh struktur 3 dimensinya melalui pubcem dimana didapatkan sebanyak 15 senyawa yang kemudian disimpan struktur 3 dimensinya dengan format sdf, kemudian dibuat menjadi *data base active* dan *decoy set*

menggunakan aplikasi *ligandsqout*. Pada pemodelan farmakofor dengan identitas makromolekul (7QG7) terdapat 2 ligan, ligan yang dipilih dalam penelitian ini yaitu U08 (triazin). Pemodelan farmakofor dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak *LiganScout* untuk memodelkan farmakofor.

Model farmakofor yang diperoleh di validasi terlebih dahulu tujuan dilakukan validasi yaitu dapat membedakan antara senyawa aktif dan senyawa tidak aktif. Model

farmakofor yang digunakan mempunyai beberapa fitur, diantaranya 1 fitur hidrofobik ditandai dengan warna kuning, 2 fitur H bond akseptor ditandai dengan lingkaran merah dan panah merah, dan 1 fitur H bond donor ditandai dengan panah hijau. Dari fitur farmakofor yang muncul menandakan bahwa model farmakofor memiliki potensi interaksi aktif dari ikatan antara ligan terhadap reseptor.

Hasil validasi model farmakofor dipilih berdasarkan parameter penelitian model farmakofor yaitu nilai AUC-ROC. Nilai AUC-ROC pada penelitian ini diperoleh nilai $AUC_{100\%} = 0,53$. Dalam kurva ROC yang memenuhi nilai

AUC lebih dari 0,50 atau EF lebih dari 1,0 sehingga hasil validasi dalam penelitian ini dinyatakan valid. Hits diperoleh berdasarkan nilai fit score sebesar 9. Dimana jika nilai fit score farmakofor > 50% maka fitur tersebut memiliki keaktifan yang baik. Sedangkan, fitur yang kurang baik apabila nilai fit scorenya berada pada kisaran 30-50%.

Nilai rentang skor fit model farmakofor berkaitan dengan tingkat keaktifan suatu fitur terhadap reseptor (Muchtaridi *et al.*, 2017). Adapun hasil skrining virtual senyawa bahan alam dari data base coconut nature product dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Skrining Virtual Senyawa Bahan Alam Dari Data Base Coconut Nature Product

ID	Nama	RMSD
CNP0149998	8-[2-(4-hydroxy-6-oxooxan-2-yl)ethenyl]-3,7-dimethyl-1,2,3,4-tetrahydronaphthalen-1-yl acetate	0.007
CNP0207848	4-({4-[2-(furan-3-yl)ethyl]-3-(hydroxymethyl)-4,8,8a-trimethyl-1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydronaphthalen-2-yl}oxy)-4-oxobutanoic acid	0.032
CNP0152500	N-{2-[3-(methylsulfanyl)phenyl]-1,3-dioxo-octahydroimidazo[1,5-a]pyridin-7-yl}-2-(thiophen-2-yl)acetamide	0.039
CNP0168174	7-(furan-3-yl)-2-hydroxy-9-methyl-6,16-dioxatetracyclo[8.7.0.0 ^{1,14} .0 ^{4,9}]heptadeca-3,12-diene-5,15-dione	0.045
CNP0437318	C22H18O5	0.052
CNP0440111	C26H29N3O5	0.053
CNP0355546	Ganocapenoid D	0.060
CNP0345398	4-butyl-3-({2-[4-(2-chlorophenyl)piperazin-1-yl]-2-oxoethyl}sulfanyl)-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-one	0.061
CNP0085993	Conipyridoin E	0.064
CNP0015469	1-[2-({[3-methyl-6-(propan-2-yl)-4-({5-(pyridin-3-yl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)methyl}cyclohex-2-en-1-yl)methyl]amino)ethyl]imidazolidin-2-one	0.065
CNP0187395	18-hydroxy-1-methyl-13-oxapentacyclo[10.6.1.0 ^{2,10} .0 ^{5,9} .0 ^{15,19}]nonadeca-2(10),3,5(9),12(19),14-pentaene-6,11,16-trione	0.065
CNP0131975	N-cyclopropyl-3-(7-({[4-methoxyphenyl]carbamothioyl}amino)-1-oxo-octahydropyrrolo[1,2-a]pyrazin-4-yl)propenamide	0.066
CNP0424467	Ent-19-Acetoxy-15,16-Epoxy-3,13(16),14-Clerodatrien-6,18-Diol	0.068
CNP0235053	2-{2,8-dioxo-3,9-diazatricyclo[8.4.0.0 ^{3,7}]tetradeca-1(14),10,12-trien-9-yl}-N-[(furan-2-yl)methyl]acetamide	0.073
CNP0210248	Ethyl 2-cyano-3-[(3,4-dichlorophenyl)amino]but-2-enoate	0.073

Model farmakofor yang telah divalidasi digunakan untuk melakukan skrining virtual basis data bahan alam dengan menggunakan website pharmit. Adapun database bahan alam yang akan diskining adalah *database Coconut nature* untuk mencari senyawa Hits berdasarkan model farmakofor yang telah dibuat dan divalidasi sebelumnya, dalam proses skrining virtual pengaturan diatur dengan menggunakan kriteria kemiripan obat yang tersedia pada website pharmit dengan menggunakan aturan *Lipinski* yaitu $1 \leq \text{MolWeight} \leq 500$, $\text{RotBonds} \leq 10$, $\text{LogP} \leq 5$, $\text{Aromatics} \leq 3$, $\text{HBA} \leq 10$, $\text{HBA} \leq 5$.

Dari hasil skrining yang telah dilakukan, menghasilkan 97,214 senyawa hits. Kemudian senyawa hits yang diperoleh dilakukan penambatan molekul dengan tujuan untuk memprediksi model pengikatan atau interaksi antara ligan-protein beserta energi ikatan (Zhao *et al.*, 2020). Penambatan molekul dilakukan dengan terlebih dahulu melakukan

preparasi makromolekul menggunakan perangkat lunak *discovery studio* dengan cara memisahkan ligan alami dan reseptor. Identitas makromolekul yang digunakan adalah 7QG7, kemudian reseptor dan ligan disimpan dalam format.pdb. Setelah proses preparasi selesai, selanjutnya dilakukan validasi metode *docking* dengan cara *mendocking* ligan alami yang akan digunakan sebagai pembanding antara senyawa uji ketika dilakukan docking.

Ligan senyawa uji yang akan didocking adalah senyawa hits yang diperoleh dari hasil penyaringan virtual berdasarkan model farmakofor data base bahan alam *coconut* yang kemudian disimpan dengan format 3D Liganuji.sdf setelah itu format ligan diubah menjadi bentuk liganuji.pdb dengan menggunakan aplikasi *Discovery Studio Visualizer*. Adapun hasil penambatan molekul berupa ukuran grid box dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Ukuran Grid Box

Ukuran Grid Box			Ukuran Grid Center			Spacing (Amstrong)	RMSD
X	Y	Z	X	Y	Z		
40	40	40	7.019	19.04	-25.429	0,375	1,48Å

Validasi metode *docking* menunjukkan nilai RMSD 1,48Å. Semakin kecil nilai suatu RMSD yang dihasilkan maka akan semakin baik karena semakin mendekati konformasi ligan alami. Pengaturan *gridbox* pada proses *docking* digunakan untuk menentukan ruang berikatan ligan yang akan di-*docking*.

Gridbox dilakukan dengan merujuk kepada ligan yang sudah berikatan dengan makromolekul protein pada saat diunduh. (Agistia *et al.*, 2013). Hasil tersebut menunjukkan bahwa metode *docking* yang digunakan telah valid dan pengaturan parameter yang digunakan telah memenuhi kriteria validasi. Parameter docking dikatakan

valid jika desain dapat menambatkan ligan alami atau kompleks ligan ke posisi semula dengan parameter nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*) kurang dari 2Å juga bergantung pada besar dan kecilnya ukuran ligan (Hevener *et al.*, 2009).

Penambatan molekul terhadap senyawa uji dari hasil skrining virtual dari *database Coconut Natural Product* diambil sebanyak 15 senyawa terbaik dari hasil skrining virtual berdasarkan nilai RMSD yang terendah. Kemudian senyawa di unduh pada website *Coconut Natural Product* dengan format 3D Sdf. Simulasi docking dilakukan dengan menggunakan parameter ukuran dan

koordinat grid yang sama pada proses validasi metode *docking* reseptor dengan Ligan alami triazin. Adapun energi bebas ikatan (ΔG) dan konstanta inhibisi (KI) dapat dilihat pada tabel 5 .

Tabel 5. Energi Bebas Ikatan (ΔG) dan Konstanta Inhibisi (KI)

ID	Senyawa	ΔG (Kkal/mol)	KI
Ligan alami (U08)	Triazin	-7. 83	1. 83 μ M.
CNP0015469	1-[2-({[3-methyl-6-(propan-2-yl)-4-{{[5-(pyridin-3-yl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl]methyl}cyclohex-2-en-1-yl]methyl}amino)ethyl]imidazolidin-2-one	-8.27	866.8 0nM
CNP0149998	8-[2-(4-hydroxy-6-oxooxan-2-yl)ethenyl]-3,7-dimethyl-1,2,3,4 tetrahydronaphthalen-1-yl acetate	-7,47	1,37 μ M
CNP0207848	4-({4-[2-(furan-3-yl)ethyl]-3-(hydroxymethyl)-4,8,8a-trimethyl-1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydronaphthalen-2-yl}oxy)-4-oxobutanoic acid	-6.99	1. 99 μ M.
CNP0152500	N-{2-[3-(methylsulfanyl)phenyl]-1,3-dioxo-octahydroimidazo[1,5-a]pyridin-7-yl}-2-(thiophen-2-yl)acetamide	-6.47	1,37 μ M
CNP0187395	18-hydroxy-1-methyl-13-oxapentacyclo[10.6.1.0 ² , ¹⁰ .0 ⁵ , ⁹ .0 ¹⁵ , ¹⁹]nonadeca-2(10),3,5(9),12(19),14-pentaene-6,11,16-trione	-6.44	1,32 μ M
CNP0345398	4-butyl-3-({2-[4-(2-chlorophenyl)piperazin-1-yl]-2-oxoethyl}sulfanyl)-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-one	-6.18	1. 83 μ M.
CNP0168174	7-(furan-3-yl)-2-hydroxy-9-methyl-6,16-dioxatetracyclo[8.7.0.0 ¹ , ¹⁴ .0 ⁴ , ⁹]heptadeca-3,12-diene-5,15-dione	-4,75	2.34 μ M
CNP0131975	N-cyclopropyl-3-(7-{{[4-methoxyphenyl]carbamothioyl}amino}-1-oxo-octahydropyrrolo[1,2-a]pyrazin-4-yl)propenamide	-4,52	2.42 μ M
CNP0424467	Ent-19-Acetoxy-15,16-Epoxy-3,13(16),14-Clerodatrien-6,18-Diol	-4,28	3.72 μ M
CNP0235053	2-{2,8-dioxo-3,9-diazatricyclo[8.4.0.0 ³ , ⁷]tetradeca-1(14),10,12-trien-9-yl}-N-[(furan-2-yl)methyl]acetamide	-4, 14	3.77 μ M
CNP0440111	C26H29N3O5	1,27	-
CNP0210248	Ethyl 2-cyano-3-[(3,4-dichlorophenyl)amino]but-2-enoate	1,6	-
CNP0355546	Ganocapenoid D	2,19	-
CNP0437318	C22H18O5	2,5	-
CNP0085993	Conipyridoin E	2,8	-

Penambatan molekul terhadap 15 senyawa uji diperoleh hasil bahwa Senyawa uji CNP0015469 memiliki energi ikatan yang terendah dibandingkan dengan ligan alami yaitu -8.27kcal/mol dengan konstanta inhibisi 866.80nM. dibandingkan dengan ligan alami

yaitu -7.83 kcal/mol dengan konstanta inhibisi 1.83 μ M.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, senyawa CNP0015469 merupakan kandidat senyawa terbaik dengan energi ikatan yang terendah yaitu -8.27kcal/mol dengan konstanta inhibisi 866.80nM. Dimana energi ikatan menunjukkan kestabilan pengikatan ligan-reseptor. Semakin kecil (semakin negatif) maka energi ikatan juga semakin stabil (kuat) ikatan yang dihasilkan (kompleks protein-ligan) sehingga waktu kontak ligan dengan reseptor akan lebih lama.

Sedangkan konstanta inhibisi diartikan sebagai nilai yang dapat menunjukkan hambatan antara ligan-protein target. Dimana semakin kecil nilai konstanta inhibisi menunjukkan semakin kecil hambatan yang terjadi dalam ikatan ligan-reseptor. Kompleks ligan-reseptor dikatakan memiliki afinitas ikatan yang baik jika memiliki nilai K_i pada skala

nanomolar (Fajar et al, 2021). Hal ini menunjukkan bahwa senyawa CNP0015469 merupakan senyawa yang memiliki afinitas terbaik karena memiliki nilai energi ikatan terendah.

Setelah proses penambatan molekul selesai selanjutnya dilakukan Visualisasi ligan alami dengan reseptor dan senyawa CNP0015469 dengan reseptor dengan menggunakan perangkat lunak *DiscoveryStudio* untuk mengetahui interaksi dan mode pengikatan kompleks ligan-reseptor. Dalam interaksi ligan-reseptor, interaksi yang biasa terjadi adalah interaksi *elektrostatik*, ikatan hidrogen, ikatan *van der waals* dan interaksi hidrofobik (Arwansyah et al, 2014).

Hasil Analisis Interaksi Ikatan antara ligan dan reseptor dengan menggunakan software *BIOVIA Discovery Studio Visualizer* 2019 dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil Interaksi Asam Amino

Senyawa	Ikatan Hidrogen	Ikatan Hidrofobik	Ikatan Van Der Waals	Presentase Kemiripan Interaksi
Ligan alami U08	LEU(B:126) ALA(B:154) ASP(B:22) ILE(B:23) PHE(B:156)	ILE(B:23) VAL(B:46)	ALA(B:52) VAL(B:24) ASP(B:157) GLY(B:130) LEU(B:160) ALA(B:129) PRO(B:125) VAL(B:155)	86 %
			VAL(B:155) VAL(B:24) ASP(B:22) ALA(B:21) GLY(B:51) GLY(B:48) ALA(B:50) ASP(B:157) ILE(B:131) PHE(B:131) SER(B:128) GLY(B:130)	
CNP0015469	LEU(B:126) ALA(B:52) VAL(B:49)	LEU(B:126) PHE(B:156) PRO(B:125) ALA(B:154) ILE(B:23) LEU(B:160) ALA(B:38) VAL(B:49) ALA(B:129)		

Konformasi yang dihasilkan oleh masing-masing senyawa menunjukkan interaksi asam

amino pada sisi aktif. Apabila di tinjau dari hasil analisis interaksi yang sudah dilakukan,

menunjukkan bahwa ligan alami memiliki 15 interaksi yang terdiri dari 5 interaksi hidrogen dengan asam amino, 9 interaksi hidrofobik dan 12 interaksi *van der waals*.

Kemudian untuk senyawa CNP0015469 terdapat 23 interaksi yaitu 3 interaksi hidrogen, 9 interaksi hidrofobik, dan 12 interaksi Van der Waals, detail interaksi dapat dilihat pada tabel di atas. Protein SARS-CoV-2 memiliki ligan alami yang diidentifikasi pada sisi aktifnya, yaitu ligan alami U08, selain itu interaksi inhibitorynya juga dipengaruhi oleh adanya interaksi *van der waals* yang kuat (Mirza dan Froeyen, 2020).

Seperti pada senyawa CNP0015469 yang dapat menyaingi afinitas ligan alami protein SARS-CoV2 dibanding senyawa lain. Jika dilihat dari ikatan hidrogen yang terbentuk, senyawa CNP0015469 membentuk 3 ikatan hidrogen, ikatan hidrogen merupakan interaksi spesifik yang paling penting dalam proses interaksi ligan dan reseptor (Muttaqin *et al.*, 2019). Ikatan ini memiliki kekuatan berikatan dengan reseptor sehingga dapat terbentuk meskipun jarak antara ligan dan reseptor cukup jauh. Semakin banyak ikatan hydrogen semakin kuat afinitas ligan dengan reseptor sehingga baik digunakan sebagai inhibitor (Faqih *et al.*, 2019).

CNP0015469 dalam interaksinya secara keseluruhan, menghasilkan ikatan *van der waals* dan ikatan hidrofobik yang jauh lebih banyak dibandingkan ligan alami (Tabel 6). Hal ini menyebabkan interaksi *van der waals* dan interaksi hidrofobik antara senyawa CNP0015469 dengan protein SARS-CoV-2 terbentuk cukup kuat. CNP0015469 yang berikatan hidrogen juga merupakan salah satu residu yang berpengaruh besar dalam aktivitas penghambatan terhadap inhibitor SARS-CoV2. Berdasarkan tabel 6, interaksi antara senyawa CNP0015469 dengan asam amino menunjukkan presentase kemiripan yang tinggi yaitu 86%

terhadap ligan alami, adanya kesamaan residu asam amino yang dihasilkan antara ligan (CNP0015469) dengan ligan alami menunjukkan bahwa CNP0015469 mampu menghambat aktifitas reseptor target dan berpotensi memiliki fungsi yang sama dengan ligan alami (Arwansyah *et al.*, 2014).

Dari hasil penambatan molekul yang telah dilakukan terhadap 15 senyawa uji diidentifikasi 1 senyawa hit yang paling baik yaitu CNP0015469, senyawa CNP0015469 memiliki afinitas yang lebih kuat dibandingkan dengan ligan alami (U08). Energi ikatan menggambarkan afinitas atau kemampuan suatu senyawa untuk dapat berikatan dengan target protein. Nilai energi ikatan yang semakin rendah menunjukkan afinitas yang semakin kuat. Maka berdasarkan nilai energi ikatan dan konstanta inhibisi senyawa uji CNP0015469 memiliki potensi yang bagus sebagai inhibitor SARS-CoV-2.

KESIMPULAN

Hasil identifikasi senyawa bahan alam yang fit dengan farmakofor remdesivir berdasarkan uji skrining virtual sebagai inhibitor SARS-CoV-2 yaitu 9 senyawa hit terdiri dari 16 senyawa aktif dan 15 decoy set dengan nilai AUC100% = 0,53. Sedangkan hasil senyawa hit dari skrining virtual data base bahan alam yaitu terdapat 97,214 senyawa.

Hasil prediksi aktivitas hit senyawa bahan alam dari model farmakofor berdasarkan penambatan molekul pada database *Coconut Natural Product* yang berisi 4,544,971 konformer dari 404,547 molekul. Dari 15 senyawa uji yang dilakukan penambatan molekul ditemukan 1 senyawa uji yang memiliki potensi terbaik yaitu senyawa CNP0015469 dengan energi ikatan yang terendah yaitu -8.27kcal/mol dengan konstanta inhibisi 866.80nM yang memiliki aktivitas lebih kuat bila dibandingkan dengan

ligan alami (U08) Sehingga di prediksi berpotensi menghambat inhibitor SARS-CoV-2

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih peneliti berikan terhadap semua pihak, khususnya kedua orang tua, dosen pembimbing, Fakultas sains dan teknologi, program studi farmasi, universitas mandala waluya dan juga rekan serta teman-teman yang telah memberikan dukungan, do'a, saran, masukan dan apapun itu selama penelitian ini berlangsung hingga selesai.

DAFTAR PUSTAKA

- Agistia, D.D. *et al.* (2013). Interaksi senyawa aktif dari Aegle marmelos Correa sebagai anti inflamasi dengan reseptor Cox-1 dan Cox-2', *Traditional Medicine Journal*, 18(2), pp. 80–87. Available at: <https://jurnal.ugm.ac.id/TradMedJ/article/view/7983>.
- Arba, M. *et al.* (2020) .Pemodelan Farmakofor untuk Identifikasi Inhibitor Heat Shock Proteins-90 (HSP-90)', *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*, 6(2), pp. 229–236.
- Arwansyah *et al* (2014) 'Simulasi Docking Senyawa Kurkumin dan Analognya Sebagai Inhibitor Reseptor Androgen pada Kanker Prostat', *Current Biochemistry*, 1(1), pp. 11–19. Available at: <https://doi.org/10.29244/cb.1.1.11-19>.
- Cahaya *et al* (2022) 'Transformation of the Education Sector during the COVID-19 Pandemic in Indonesia', *Education Research International*, 2022. Available at: <https://doi.org/10.1155/2022/8561759>.
- COVID-19 Treatment Guidelines Panel, 2020, COVID-19 Treatment Guidelines. <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/>
- Chen, N. *et al.* (2020) 'Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study', *The Lancet*, 395(10223), pp. 507–513.
- Fajar *et al* (2021) 'Narra J Neuromuscular Symptoms and the Possible Analysis', *Narra J*, 1(3), pp. 1–16.
- Faqih *et al* (2019) 'Skrining Turunan Flavonoid Sebagai Kandidat Inhibitor Protease nsP2 dari Virus Chikungunya Menggunakan Molecular Docking', *JC-T (Journal Cis-Trans): Jurnal Kimia dan Terapannya*, 3(1), pp. 34–44. Available at: <https://doi.org/10.17977/um0260v3i12019p034>.
- Hevener *et al* (2009) 'Validation of Molecular Docking Programs for Virtual Screening against Dihydropteroate Synthase Kirk', *xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference*, pp. 1–7.
- Huang, C. *et al.* (2020) 'Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China', *The Lancet*, 395(10223), pp. 497–506.
- Islam, M.A. *et al.* (2023) 'Variant-specific deleterious mutations in the SARS-CoV-2 genome reveal immune responses and potentials for prophylactic vaccine development', *Frontiers in Pharmacology*, 14(February), pp. 1–19.
- Mirza, M.U. and Froeyen, M. (2020) 'Structural elucidation of SARS-CoV-2 vital proteins: Computational methods reveal potential drug candidates against main protease, Nsp12 polymerase and Nsp13 helicase', *Journal of Pharmaceutical Analysis [Preprint]*.
- Muchtaridi, M. *et al.* (2017) 'Molecular docking and 3D-pharmacophore modeling to study the interactions of chalcone derivatives with estrogen receptor alpha', *Pharmaceuticals*, 10(4), pp. 1–12.
- 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.
- Sliwoski, G.R., Meiler, J. and Lowe, E.W. (2014)

- 'Computational Methods in Drug Discovery Prediction of protein structure and ensembles from limited experimental data View project Antibody modeling, Antibody design and Antigen-Antibody interactions View project', *Computational Methods in Drug Discovery*, 66(1), pp. 334–95.
- Tchesnokov, E.P. *et al.* (2019) 'Mechanism of inhibition of ebola virus RNA-dependent RNA polymerase by remdesivir', *Viruses*, 11(4), pp. 1–16.
- Tsika, A.C. *et al.* (2022) 'Binding Adaptation of GS-441524 Diversifies Macro Domains and Downregulates SARS-CoV-2 de-MARylation Capacity', *Journal of Molecular Biology*, 434(16).
- Williamson *et al* (2020) 'Clinical benefit of remdesivir in rhesus macaques infected with SARS-CoV-2 Brandi', *Human Vaccines and Immunotherapeutics*, 9(April), p. 105933.
- Zhao, S. *et al.* (2020) 'Preliminary estimation of the basic reproduction number of novel coronavirus (2019-nCoV) in China, from 2019 to 2020: A data-driven analysis in the early phase of the outbreak', *International Journal of Infectious Diseases*, 92, pp. 214–217.

Jurnal Pharmacia Mandala Waluya (JPMW) is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.

