

MOLECULAR DOCKING DAN UJI TOKSISITAS REMDESIVIR, LOPINAVIR, RITONAVIR DAN FAVIPIRAVIR TERHADAP M-PROTEASE SARS-CoV-2

Anna Yuliana^{1*}, Oktaviani Ayu Saputri¹, Salsabila Adlina²

¹Prodi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Bakti Tunas Husada Tasikmalaya

²Prodi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Perjuangan Tasikmalaya

*Email: anna_yuliana@universitas-bth.ac.id

Received: 06/11/2021 , Revised: 21/12/2021 , Accepted: 22/01/2022, Published: 28/02/2022

ABSTRAK

Protease inhibitor Lopinavir, Ritonavir, Remdesivir yang bekerja pada RNA polimerase virus (*Main Protease*) diprediksi dapat memberikan aktivitas baik dalam pengikatan dengan reseptor secara *in silico* dan potensial sebagai penghambat COVID-19. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui toksisitas Remdesivir, Lopinavir, Ritonavir, dan Favipiravir dengan menggunakan software *Toxtree* dan mengetahui interaksi dan kestabilan obat Remdesivir, Lopinavir, Ritonavir, dan Favipiravir dengan reseptor M-Protease SARS-CoV-2 menggunakan metode *Molecular Docking* dan *Molecular Dynamic*. Senyawa obat uji dianalisis menggunakan *lipinski rule's of five*, uji toksisitas menggunakan program *Toxtree*, simulasi *Molecular Docking* menggunakan Autodock 1.5.6 dan simulasi *Molecular Dynamic* menggunakan MOE (*Molecular Operating Environment*). Hasil *Molecular Docking* favipiravir dengan reseptor 5RF3 sebesar -6.32 kkal/mol, lopinavir dengan reseptor 5RL4 sebesar -17.86 kkal/mol, obat Ritonavir dengan reseptor 5RL5 sebesar -17.19 kkal/mol, dan obat Remdesivir dengan reseptor 5R83 sebesar -14.90 kkal/mol. Hasil *Molecular Dynamic* senyawa obat Favipiravir, Lopinavir, Remdesivir, dan Ritonavir dilihat dari hasil *procheck ramachandran* hasil persentase *most favoured region* 50% dan *disallowed region* 15% dan kecocokan hasil residu asam amino, uji toksisitas menggunakan *Toxtree* diperoleh kategori kelas III, tidak bersifat karsinogenik genotoksik dan non genotoksik. Senyawa obat uji memiliki interaksi yang kuat dan stabil sehingga dapat dijadikan sebagai kandidat yang berpotensi untuk pengobatan anti SARS-CoV-2.

Kata kunci : Antivirus, *Main Protease*, *Molecular Docking*, *Molecular Dynamic*, Uji Toksisitas

ABSTRACT

Lopinavir, Ritonavir, and Remdesivir, which act on viral RNA polymerase (Main Protease), are predicted to provide activity both in binding to receptors in silico and potential as COVID-19 inhibitors. The purpose of this study was to determine the toxicity of Remdesivir, Lopinavir, Ritonavir, and Favipiravir using Toxtree software and to determine the interaction and stability of Remdesivir, Lopinavir, Ritonavir, and Favipiravir with the SARS-CoV-2 M-Protease receptor using Molecular Docking and Molecular Dynamic methods. The test drug compounds were analyzed using the Lipinski rule of five, a toxicity test using the Toxtree program, a Molecular Docking simulation using Autodock 1.5.6, and a Molecular Dynamic simulation using MOE (Molecular Operating Environment). Molecular docking results in favipiravir with 5RF3

receptors of -6.32 kcal/mol, lopinavir with 5RL4 receptors of -17.86 kcal/mol, Ritonavir with 5RL5 receptors of -17.19 kcal/mol, and Remdesivir with 5R83 receptors of -14.90 kcal/mol. The results of the Molecular Dynamic drug compounds Favipiravir, Lopinavir, Remdesivir, and Ritonavir seen from the results of the Ramachandran procheck the percentage of most favored region of 50% and disallowed region of 15% and the match of amino acid residue results. The toxicity test using Toxtree obtained category III class, not genotoxic, carcinogenic, and non-genotoxic. The test drug compounds have strong and stable interactions so that they can be used as potential candidates for anti-SARS-CoV-2 treatment.

Keywords: Antiviral, Main Protease, Toxicity Test, Molecular Docking, Molecular Dynamic

PENDAHULUAN

Virus SARS-CoV-2 sebelumnya bernama 2019-nCoV adalah virus yang menyebabkan penyakit klinis COVID-19 (*Corona Virus Disease-19*), juga merupakan virus dengan jenis RNA baru yang termasuk dalam keluarga *coronavirus* (Mansilla *et al.*, 2020). Patogenesis SARS-CoV-2 masih belum pasti diketahui namun dugaan sementara tidak berbeda dengan SARS-COV yang umum diketahui. SARS-CoV-2 akan menginfeksi sel-sel pada saluran nafas yang melapisi alveolus. SARS-CoV-2 berikatan dengan reseptor dalam membuat jalan masuk kedalam sel. Glikoprotein yang terdapat pada *envelope spike* virus akan berikatan dengan reseptor seluler berupa ACE2 pada SARS-CoV-2. Dalam sel, SARS-CoV-2 melakukan penggandaan materi genetik dan mensintesis protein yang dibutuhkan, kemudian membentuk virion baru yang muncul dipermukaan sel (Susilo *et al.*, 2020)

Terapi farmakologi yang diharapkan dapat mengatasi infeksi SARS-CoV-2 salah satunya adalah dengan pemberian antivirus. Target aksi obat atau vaksin diantaranya adalah glikoprotein atau protein *spike* (S) pada permukaan sel virus. Antivirus yang dapat bekerja aktif dalam sel inang sangat berpotensi membunuh virus.

Reseptor *Main protease* (Mpro) merupakan salah satu target utama yang telah teridentifikasi sebagai target kerja obat COVID-19, M-pro juga dikenal sebagai *3-chymotrypsin-like protease* (3CLpro), memiliki peran dalam penyelesaian proses replikasi dan transkripsi virus (Prajapat *et al.*, 2020). Urutan protein M-Pro 2019-nCoV mirip dengan urutan protein SARS-CoV dan MERS-CoV, yang terutama terlibat dalam siklus replikasi (Harrison, 2020).

Menurut (Shah *et al.*, 2020) protease inhibitor Lopinavir, Ritonavir, Remdesivir yang bekerja pada RNA polimerase virus dapat memberikan aktivitas baik dalam

pengikatan dengan reseptor secara *in silico* dan potensial sebagai penghambat COVID-19. Selain itu obat Favipiravir disetujui oleh pemerintah Cina untuk mengobati COVID-19.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui toksisitas Remdesivir, Lopinavir, Ritonavir, dan Favipiravir secara dengan menggunakan software Toxtree dan mengetahui interaksi dan kestabilan obat Remdesivir, Lopinavir, Ritonavir, dan Favipiravir dengan reseptor M-Protease SARS-CoV-2 menggunakan metode *Molecular Docking dan Molecular Dynamic*.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Peralatan terdiri dari perangkat keras (*hardware*) dan lunak (*software*) *computer*. Perangkat berupa personal *computer* laptop dengan spesifikasi processor Intel (R) celeron (R) CPU N3350 @ 1.10 GHz, memori (RAM) 4.00 GB, tipe system 64-bit *Operating System*, dan perangkat lunak yang digunakan adalah, Chemdraw Profesional 16.0, MarvinSketch, Autodock 1.5.6, Molegro Molecular Viewer, MOE, Toxtree dan program yang berbasis web seperti PDBSum.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah PDB file hasil identifikasi reseptor coronavirus jenis *main protease* (MPro) yang diunduh (5RH9, 5RHA, 5RF3, 5R83, 5R84, 7L5D, 5RL4, 5RL5, 7ADW) dari <http://www.rcsb.org> dan 4 senyawa aktif obat antivirus (Remdesivir, Lopinavir, Ritonavir, Favipiravir)

Jalannya Penelitian

1. Preparasi Ligan

Preparasi ligan dilakukan dengan menggambar struktur kimia pada Chemdraw Profesional 16.0 lalu *copy* di marvin sketch, dalam bentuk 2 dimensi selanjutnya dilakukan optimasi geometri pada ligan, diprotonasi dengan PH 7,4, *save* format.mrv. Lalu dilakukan konformasi *conformers* dan hasilnya disimpan dengan tipe file .mol2 (Ruswanto *et al.*, 2015).

2. Drug Scan

Analisis pengamatan obat yang baik berdasarkan *rules of five* menggunakan aplikasi *Marvinsketch*.

3. Uji Toksisitas

Uji toksisitas dilakukan menggunakan *software ToxTree*. Paramater yang dilihat adalah prediksi parameter *Cramer Rules, Benigni/Bossa rulebase*, dan *Kroes TTC decision tree. Cramer Rules* untuk melihat tingkat toksisitas dilihat dari

gugus fungsi. *Kroes TTC decision tree* untuk memperkirakan ambang batas gambaran senyawa obat pada manusia. *Benigni/Bossa rulebase* untuk mengetahui senyawa yang dapat menyebabkan karsinogenisitas dan mutagenisitas (Ruswanto et al., 2015).

4. Identifikasi Reseptor

Reseptor protein corona virus diperoleh berdasarkan literature dari (Shah et al., 2020) bahwa protease inhibitor Lopinavir, Ritonavir, Remdesivir, dan Favipiravir ini memberikan aktivitas yang lebih baik secara *in silico* dan berinteraksi dengan reseptor protein M-Pro (5R7Z, 5R80 dan 5R81) dengan nilai *dock score* -7.542 , -6.829 dan -6.928 kkal/mol, secara respektif.

5. Analisis Reseptor

Analisis reseptor dilakukan dengan melihat ligplot protein ramachandran PDB hasil analisis target reseptor pada situs <http://www.ebi.ac.uk/pdbsum/>. Reseptor terpilih yang dapat diakses dengan 4 karakter kode PDB (Protein Data Bank), kemudian akan muncul profil data dari protein target (Ruswanto, Garna, et al., 2018).

6. Validasi Metode Docking

Validasi dilakukan untuk perangkat lunak *docking* yaitu AutodockTools- 1.5.6 dengan menggunakan reseptor terpilih hasil tabel dan dianalisis melalui web Pdbsum. Metode analisis *docking* dikatakan baik jika nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*) yang dihasilkan lebih kecil atau sama dengan 2\AA (Adnin et al., 2019).

7. Molecular Docking Ligan Uji dan Visualisasi Interaksi terhadap Protein Target

Proses *molecular docking* menggunakan software AutodockTools 1.5.6 dengan protein target atau reseptor dan struktur senyawa uji. Senyawa uji di *docking*-kan pada ligan *binding site* reseptor sesuai dengan *grid box* yang telah dipakai pada proses validasi. Hasil yang diperoleh adalah *energy best ligand pose* atau berupa *binding affinity* senyawa ligan. Selanjutnya dari proses *molecular docking* dapat dilihat interaksi antara ligan dengan sisi aktif reseptor dengan menggunakan software Biovia *Discovery Studio* (Ruswanto, Garna, et al., 2018).

8. Simulasi Molecular Dynamic Ligan Uji

Proses simulasi *Molecular Dynamic* terhadap ligan inhibitor, dilakukan menggunakan software MOE (*Molecular*

Operating Environment) versi 2009. Sistem simulasi melibatkan pengaruh temperatur dan pelarut serta menggunakan solvasi born. Temperature simulasi adalah 310 K (Prasetia, 2011).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis sifat fisikokimia ligan uji dilakukan berdasarkan aturan *Lipinski's rule of five* yang dikembangkan oleh Christopher A. Lipinski. Aturan Lipinski dapat menunjukkan tingkat hidrofob/hidrofilitas molekul obat sebelum dilakukan simulasi

molecular docking, dapat membantu membedakan antara molekul mirip obat dan non-obat dengan mempertimbangkan tingkat penyerapan dan permeabilitasnya melalui lapisan ganda lipid dalam tubuh manusia (Bharti & Shukla, 2021). Aturan ini menetapkan bahwa molekul harus memiliki massa molekul <500 g / mol, koefisien partisi (log P) <5, donor ikatan hidrogen kurang dari 5, akseptor donor hidrogen kurang dari 10, dan refraktivitas molar antara 40-130 (Ruswanto, Mardianingrum, *et al.*, 2018).

Tabel 1. Hasil *Drug Scan* Ligan Uji

Nama Senyawa	<i>Drug Scan</i>				
	Berat Molekul	Donor Proton	Akseptor Proton	Log P	<i>Refractory Molar</i>
	< 500 g/mol	< 5	< 10	< 5	40-130
Remdesivir	602,576	5	14	2,01	61,81
Lopinavir	628,800	4	8	4,69	179,36
Ritonavir	720,944	4	8	5,22	194,59
Favipiravir	157.104	3	6	-0,79	42,90

Tabel 1 menunjukkan bahwa obat Remdesivir, Lopinavir, Ritonavir, dan Favipiravir tidak sepenuhnya memenuhi persyaratan dari segi berat molekul, yang artinya kemampuan senyawa menembus lipid bilayernya kurang baik. Obat Ritonavir juga tidak lolos dalam parameter log p karena nilainya >5 berarti kemampuan senyawa Ritonavir untuk proses absorpsi membutuhkan energi yang tinggi. pada parameter *refractory molar* ada 3 obat yang

tidak memenuhi standar ketentuan, yaitu Remdesivir, Lopinavir, dan Ritonavir karena memiliki hasil >130, sehingga obat tersebut tidak mudah dalam membentuk dipol sesaat atau untuk mengimbangi suatu molekul lain.

Tabel 2. Hasil Uji Toksisitas *Toxtree* Ligan Uji

Senyawa	Parameter		
	<i>Crammer Rules</i>	<i>Benigni / Rulebase</i>	<i>Croes TTC Decision Tree</i>
Remdesivir	Kelas III	Peringatan untuk karsinogenisitas genotoksik dan non genotoksik	Penilaian risiko membutuhkan data toksisitas spesifik senyawa.
Lopinavir	Kelas III	<i>Negative</i> untuk karsinogenisitas genotoksik dan non genotoksik	Zat tidak diharapkan menjadi ancaman soal keamanannya
Ritonavir	Kelas III	<i>Negative</i> untuk karsinogenisitas genotoksik dan non genotoksik	Risiko diabaikan (probabilitas rendah risiko kanker seumur hidup lebih besar dari 1 dalam 10 ⁶)
Favipiravir	Kelas III	<i>Negative</i> untuk karsinogenisitas genotoksik dan non genotoksik	Zat tidak diharapkan menjadi ancaman soal keamanannya

Berdasarkan Tabel 2, pada parameter *cramer rule's* bahwa obat Remdesivir, Lopinavir, Ritonavir, dan Favipiravir memiliki toksisitas tinggi (kelas III) yaitu dengan konsentrasi yang tinggi dari seluruh obat tidak dapat dijamin keamanan penggunaannya. Kelas III berarti bahwa substansi dari struktur kimia dari segi keamanan memberikan pengaruh awal yang tidak terlalu kuat. Tetapi substansi dari struktur kimia kemungkinan dapat memberikan toksisitas yang cukup berarti (Lestari, 2015).

Parameter Kroes TTC *decision tree* obat Remdesivir membutuhkan data toksisitas spesifik senyawa untuk bisa dapat dilihat dengan jelas. Resiko karsinogen Ritonavir dapat diabaikan karena ambang batas paparannya yaitu tidak lebih dari 0,09

g/BB/hari. Hal tersebut berdasar pada analisis data dosis-respon untuk senyawa karsinogenik. Ambang ini bernilai 86-97% dengan kemungkinan bahwa beberapa resiko dapat dikurangi jika diberikan pada atau lebih rendah dari 0,15 g/hari serta senyawa tersebut menjadi bersifat *genotoxic carcinogen*. Substansi dari struktur kimia tersebut tidak dianjurkan secara umum untuk bahan makanan tetapi cukup menentukan jika substansi tersebut ada pada makanan, sebagai contoh sebagai kontaminan pengobatan (Ruswanto *et al.*, 2015). Hasil parameter *Benigni/Bossa rulebase* obat Remdesivir, memiliki struktur yang berkontribusi sebagai obat genotoksik karsinogenik atau *alert*. Sedangkan obat yang lainnya (lopinavir, favipiravir,

ritonavir) karsinogenisitas dan mutagenisitasnya tidak aktif.

Tabel 3. *Ramachandran Plot Statistic Reseptor*

Kode Reseptor	<i>Most Favored Region</i> (>50%)%	<i>Disallowed Region</i> (<15%)%
5RHA	90,5	0,4
5RH9	90,5	0,8
5RF3	88,6	0,4
5R83	89,0	0,4
5R84	86,7	0,8
7L5D	91,2	0,4
5RL4	90,5	0,4
5RL5	89,7	0,8
7ADW	89,0	0,4

Dilihat dari hasil Tabel 3, Analisis Ramachandran Plot bahwa semua reseptor menunjukkan struktur yang stabil karena presentasi sebaran residu pada wilayah yang sangat disukai (*most favored region*) >50% dan pada wilayah yang tidak disukai (*disallowed region*) <15% yang artinya memenuhi persyaratan. Suatu struktur protein dinyatakan baik jika residu asam amino yang berada pada daerah kuadran I yaitu *most favored region* (daerah yang disukai) lebih besar dari 50% dan residu didaerah kuadran IV yaitu *disallow region* (daerah yang tidak diinginkan) lebih kecil dari 15% (Amelia, 2019; Lovell *et al.*, 2003).

Validasi *molecular docking* dilakukan untuk mencari metode yang valid yang akan digunakan untuk docking

senyawa uji yang ditandai dengan perolehan RMSD kurang dari 2Å (Rachmania *et al.*, 2018).

Berdasarkan Tabel 4 diketahui bahwa 9 reseptor *Main Protease* (M-Pro) yang terpilih dengan kode 5RH9, 5RHA, 5RF3, 5R83, 5R84, 7L5D, 5RL4, 5RL5, 7ADW memiliki nilai RMSD yang sesuai dengan literatur yaitu <2Å (Rachmania *et al.*, 2018). Sehingga dalam proses validasi tersebut dikatakan valid karena semakin mendekati konformasi asal. Untuk melihat valid atau tidaknya reseptor juga dapat dilihat dari bentuk tumpang tindihnya atau superposisi dari native ligan yang dilakukan sebelum dilakukan *redocking* dan ligan hasil *redocking* (Yasin *et al.*, 2020).

Hasil dari validasi *molecular docking* ini akan dibandingkan dengan hasil *molecular docking* ligan uji, karena ligan uji yang digunakan merupakan senyawa obat yang sudah ada dipasaran dan belum ada obat poten resmi yang digunakan untuk menangani virus SARS-CoV-2, Adapun yang dibandingkannya yaitu energi ikatan (*binding affinity*) dan residu asam amino apa saja yang berkontak pada reseptor.

Tabel 4. Hasil Validasi *Docking* Ligan Uji

No	Reseptor	Gridbox			RMSD (Å)
		X	Y	Z	
1	5RH9	9,099	1,065	21,28	1,31
2	5RHA	9,349	-1,793	21,631	1,75
3	5RF3	5,036	0,681	18,508	1,71
4	5R83	8,584	-0,763	20,25	1,97
5	5R84	8,3	-2,55	21,42	1,73
6	7L5D	13,18	3,306	21,048	1,58
7	5RL4	9,251	-0,934	21,173	0,75
8	5RL5	9,575	-1,044	21,237	0,78
9	7ADW	2,195	1,714	16,254	1,08

Reseptor hasil validasi yang telah sesuai dimasukkan ke dalam *Autodock* berikut ligan senyawa uji yang telah di preparasi, 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, *grid box* meliputi koordinat x, y dan z untuk mengatur letak parameter box pada makromolekul protein (Praja & Pratiwi, 2018). Hasil *docking* antara ligan dan protein target akan menghasilkan berbagai konformasi dari senyawa yang diuji. Dari hasil *docking* yang harus di perhatikan yaitu energi ikatan (*binding energy*). Konformasi terbaik dapat dilihat melalui *binding energy* (ΔG) yang memiliki satuan kcal/mol (Yasin et al., 2020). Nilai energi ikatan ini menjelaskan terjadi spontanitas molekul atau senyawa untuk berikatan dengan reseptor atau protein

target. *Binding affinity* yang bernilai kurang dari nol (0) menunjukkan ikatan senyawa dan protein target terjadi secara spontan (Adelina, 2018; Allouche, 2012). Dapat diketahui bahwa semakin kecil energi ikatan, maka interaksi antara ligan dan enzim akan semakin disukai dan semakin baik karena hanya dibutuhkan sedikit energi untuk berinteraksi antara ligan uji dengan reseptor target (Frimayanti et al., 2021; Prasetya, 2011).

Dapat diketahui keempat obat yang digunakan memiliki nilai *binding affinity* yang rendah, sehingga berpotensi sebagai inhibitor untuk aktivitas reseptor dalam pengobatan anti SARS-CoV-2.

Data selanjutnya untuk melihat interaksi obat dengan reseptor *Main Protease* dari virus SARS-CoV-2 ini yaitu dengan melihat interaksi asam amino yang diperoleh. Berdasarkan Gambar 1 terjadi interaksi antara obat Remdesivir dengan

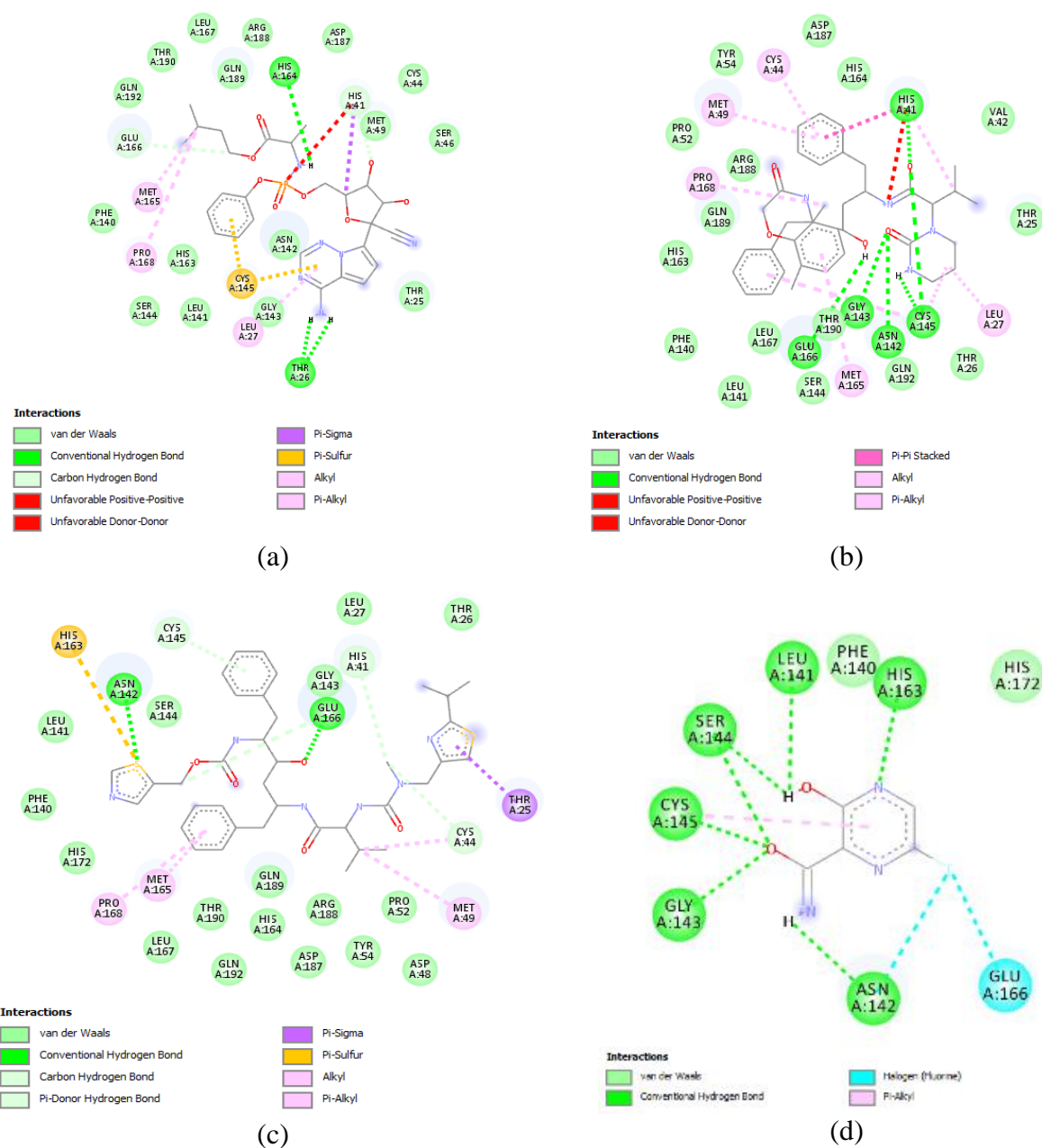
reseptor 5R83 berupa ikatan hidrogen His164. dengan residu asam amino Thr26 dan

Tabel 6. Perbedaan Residu Asam Amino Hasil *Molecular Docking* dan *Molecular Dynamic*

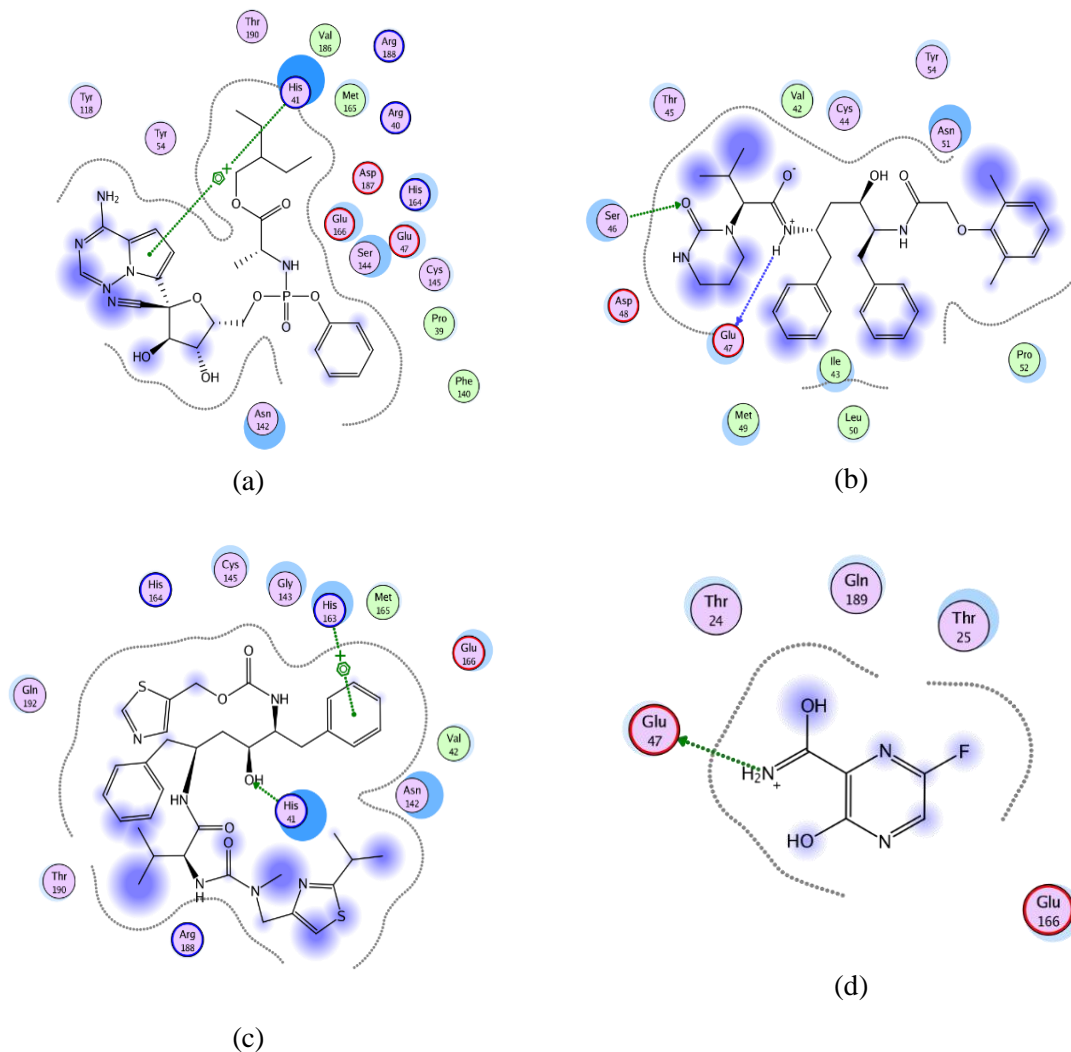
Ligan Uji	<i>Molecular Docking</i>	<i>Molecular Dynamic</i>
Remdesivir-5R83	Thr25, Thr26, Leu27, Gly143, Cys145, Asn142, Leu141, Ser144, Leu141, Ser144, Phe140, Met165, Glu166, Thr190, Leu167, Gln189, Arg188, His164, Asp187, His41, Met49, Cy44, Ser46	Tyr188, Tyr54, Thr190, Val186, His41, Met165, Arg188, Arg40, Asp187, His164, Glu166, Ser144, Glu47, Cys145, Pro39, Phe140, Asn142
Lopinavir-5RL4	Val42, Thr25, Leu27, Thr26, Cys145, Asn142, Gln192, Asn142, Gly143, Thr190, Glu166, Ser144, Leu167, Leu141, Phe140, His163, Gln189, Pro168, Arg188, Pro52, Met49, Tyr54, Cys44, Asp187, His164, His41	Asn51, Tyr54, Cys44, Val42, Thr45, Ser46, Asp48, Glu47, Ileu43, Met49, Leu50, Pro52
Ritonavir-5RL5	Thr26, Leu27, His41, Gly143, Glu166, Cys145, Ser144, Asn142, His163, Leu141, Phe140, His172, Pro168, Met165, Leu167, Thr190, Gln189, His164, Gln192, Arg188, Asp187, Tyr54, Pro52, Asp48, Met49	Gln192, His164, Cys145, Gly143, His163, Met165, Glu166, Val42, Asn142, His41, Arg188, Thr190
Favipiravir-5RF3	Glu166, Asn142, Gly143, Cys145, Ser144, Leu141, His163, Phe140, His41	Glu47, Thr24, Gln189, Thr25, Glu166

Berdasarkan Tabel 6 dapat diketahui perbedaan jumlah residu asam amino yang diperoleh dan kecocokan hasil simulasi *molecular docking* ligan uji terhadap reseptor target. Kecocokan asam amino pada perbandingan interaksi hasil simulasi *molecular docking* dan *molecular dynamic* mempengaruhi pada mekanisme dan aktivitas suatu senyawa ligan uji terhadap reseptor atau protein target. Semakin banyak

kecocokan yang diperoleh dapat dikatakan bahwa ligan uji ini memiliki penghambatan yang baik terhadap reseptor target. Selama simulasi berlangsung terjadi perubahan interaksi sehingga terdapat pengurangan jumlah interaksi, karena pada *molecular dynamic* terdapat penambahan pengaruh termodinamika yang diatur menyerupai keadaan didalam tubuh manusia (Frimayanti *et al.*, 2021).



Gambar 1. Keterangan : (a) visualisasi interaksi 2D Remdesivir-5R83, (b) visualisasi interaksi 2D Lopinavir-5RL4, (c) Visualisasi interaksi 2D Ritonavir-5RL5, (d) Visualisasi interaksi 2D Favipiravir-5RF3



Gambar 2. Interaksi Asam amino hasil simulasi *molecular dynamic* (a) Remdesivir-5R83 (b) Lopinavir-5RL4 (c) Ritonavir-5RL5 (d) Favipiravir-5RF3

Hasil simulasi *molecular dynamic* ligan uji Remdesivir dengan reseptor 5R83 dapat dilihat pada Gambar 2, Terdapat 11 residu asam amino yang tidak mengalami perubahan, 2 diantaranya membentuk ikatan hidrogen, yaitu His41, His164. Adapun sisanya membentuk ikatan hidrofobik dengan residu asam amino Thr190, Met165, Arg188, Asp187, Glu166, Ser144, Cys145, Phe140, Asn142, oleh karena itu

menandakan bahwa sudah terbentuk kompleks secara stabil antara ligan dengan reseptor pada suhu 310 K.

Simulasi *molecular dynamic* dapat dilihat kestabilan konformasi protein dengan menggunakan analisis Ramachandran plot yang terbentuk. Analisis Ramachandran ini menggunakan file pdb hasil simulasi dinamika molekuler. Penentuan kestabilan protein tersebut dapat dianalisis residu non

glisin di daerah terlarang pada plot yang dihasilkan (Gaffar *et al.*, 2016) Pada Tabel 7 residu asam amino pada daerah sudut dihedral (phi) dan sudut dihedral y (psi) peptida. Berdasarkan tabel diketahui bahwa protein masih memiliki kestabilan yang baik. Dikatakan stabil karena Kualitas struktur protein dikatakan baik jika residu pada *disallow region* (daerah yang tidak diinginkan) yaitu 7,22% lebih kecil dari 15% dan residu asam amino yang berada pada *most favoured region* (daerah yang disukai) yaitu 79,08% yang berarti lebih besar dari 50% (Amelia, 2019) (Lovell *et al.*, 2003).

Hasil simulasi molecular dynamic obat Lopinavir dengan reseptor 5RL5 dapat dilihat pada Gambar 2, mengalami perubahan jenis dan jumlah residu asam amino yang berkontak pada daerah penambatannya namun terdapat 5 residu yang tidak mengalami perubahan yaitu residu asam amino Tyr54, Cys44, Val42, Met49, dan Pro52 yang berikatan secara hidrofobik. Pada saat simulasi ligan tidak keluar dari protein yang menandakan sudah terbentuk kompleks secara stabil antara ligan dengan reseptor pada suhu 310 K.

Tabel 7. Procheck statistic Ramachandran Plot Remdesivir-5R83

Category		No. of residue	% tage
Most favoured region	[A, B, L]	208	79,08
Generously allowed region	[~a,~b,~c]	36	13,68
Disallowed region	[XX]	19	7,22

Tabel 8. Procheck statistic Ramachandran Plot Lopinavir-5RL4

Category		No. of residue	% tage
Most favoured region	[A, B, L]	203	77,18
Generously allowed region	[~a,~b,~c]	37	14,07
Disallowed region	[XX]	23	8,74

Adapun untuk melihat kestabilan konformasi protein nya dapat dilihat pada gambar plot Ramachandran Pada Tabel 8 dapat diketahui residu asam amino pada daerah sudut dihedral (phi) dan sudut dihedral y (psi) peptide. Berdasarkan data tersebut diketahui bahwa protein masih

memiliki kestabilan yang baik karena reQsidu pada *disallow region* sebesar 77,18% dan pada *most favoured region* nya sebesar 14,07%.

Hasil simulasi *molecular dynamic* pada obat Ritonavir dapat dilihat pada Gambar 2 mengalami perubahan jenis dan

jumlah residu asam amino yang berkontak pada daerah penambatannya, kendati demikian masih ada kontak residu asam amino yang sama dengan hasil molecular docking, diantaranya residu asam amino

Gln192, His164, Cys145, Gly143, Met165, Glu166, Asn142, Arg188, dan Thr190 yang berinteraksi secara hidrofobik. Selain itu terdapat asam amino His163 dan His41 yang berinteraksi melalui ikatan hidrogen.

Tabel 9. Procheck statistic Ramachandran Plot Ritonavir-5RL5

Category		No. of residue	% tage
Most favoured region	[A, B, L]	238	90,5
Generously allowed region	[~a,~b,~c]	24	9,12
Disallowed region	[XX]	1	0,38

Untuk melihat kestabilan protein yang terjadi dapat diketahui dari residu asam amino pada daerah sudut dihedral (*phi*) dan sudut dihedral *y* (*psi*) peptide dengan kualitas struktur protein. Berdasarkan Tabel 9 diketahui bahwa protein masih memiliki kestabilan yang baik karena residu pada daerah *disallow region* sebesar 0,38% dan pada Dari hasil simulasi

molecular dynamic ligan uji Favipiravir-5RF3 dapat dilihat pada Gambar 2, obat ini mengalami perubahan jenis dan jumlah residu asam amino yang berkontak pada daerah penambatannya, kendati demikian masih ada 1 kontak residu asam amino yang sama dengan hasil *molecular docking* yang memiliki interaksi hidrofobik dengan residu asam amino Glu166.

Tabel 10. Procheck statistic Ramachandran Plot Favipiravir-5RF3

Category		No. of residue	% tage
Most favoured region	[A, B, L]	237	90,11
Generously allowed region	[~a,~b,~c]	23	8,74
Disallowed region	[XX]	3	1,14

Untuk melihat kestabilan protein yang terjadi dapat diketahui dari residu asam amino pada daerah sudut dihedral (*phi*) dan sudut dihedral *y* (*psi*) peptide. Berdasarkan Tabel 10 tersebut diketahui bahwa protein masih memiliki kestabilan yang baik karena residu pada *disallow*

region sebesar 1,14% dan pada *most favoured region* nya sebesar 90,11%.

Oleh karena itu dengan terdapatnya kecocokan asam amino yang hasil *molecular dynamic* dan *molecular docking*, yang artinya obat antivirus dan reseptor M-Pro ini stabil terhadap perubahan

termodinamika (Frimayanti, 2021). penelitian dinamika molekuler dapat diketahui bahwa terdapat perubahan interaksi hasil simulasi Molecular Dynamic dan penambatan molekuler, hal tersebut dikarenakan oleh adanya perbedaan dalam program autodock dan MOE. Proses simulasi AutoDock menerapkan system semi-fleksibel, yaitu enzim bersifat rigid sedangkan ligan bersifat fleksibel sehingga dapat dengan mudah membentuk kelat atau ikatan. Sedangkan pada MOE, system yang diterapkan adalah sistem fleksibilitas tinggi, yaitu enzim dan ligan bersifat fleksibel serta keterlibatan pelarut dalam system tersebut, sehingga ligan akan sulit membentuk ikatan (Prasetia, 2011).

KESIMPULAN

Hasil uji toksisitas menggunakan program *Toxtree* menunjukkan bahwa obat Remdesivir, Ritonavir, Lopinavir, dan Favipiravir termasuk kedalam kategori kelas III, tidak bersifat karsinogenik genotoksik dan nongenotoksik. Interaksi antara obat Remdesivir, Lopinavir, Ritonavir, dan Favipiravir dapat berikatan kuat dan stabil terhadap reseptor *M-Protease* SARS-CoV-2 dengan hasil *Molecular Docking* berturut-turut sebesar -15,81 kkal/mol, -17,86 kkal/mol, -17,19 kkal/mol, dan -6,32

kkal/mol. Hasil *Molecular Dynamic* memperkuat gagasan tersebut dengan terdapatnya kecocokan asam amino dengan hasil *molecular docking* serta plot Ramachandran protein yang sesuai sehingga obat tersebut stabil dan dapat dijadikan sebagai kandidat yang berpotensi untuk pengobatan anti SARS-CoV-2.

DAFTAR PUSTAKA

- Adelina, R. (2018). Mekanisme Katekin Sebagai Obat Antidislipidemia (Uji In Silico). *Buletin Penelitian Kesehatan*, 46(3), 147–154. <https://doi.org/10.22435/bpk.v46i3.899>
- Adnin, A., Suma, T., & Wahyuningsih, T. D. (2019). *1081 Synthesis , Cytotoxicity Evaluation and Molecular Docking Study of N - Phenylpyrazoline Derivatives*. 19(4), 1081–1090. <https://doi.org/10.22146/ijc.45777>
- Allouche, A. (2012). Software News and Updates Gabedit — A Graphical User Interface for Computational Chemistry Softwares. *Journal of Computational Chemistry*, 32(October), 174–182. <https://doi.org/10.1002/jcc>
- Adnin, A., Suma, T., & Wahyuningsih, T.

- D. (2019). 1081 Synthesis , Cytotoxicity Evaluation and Molecular Docking Study of N - Phenylpyrazoline Derivatives. 19(4), 1081–1090.
<https://doi.org/10.22146/ijc.45777>
- Allouche, A. (2012). Software News and Updates Gabedit — A Graphical User Interface for Computational Chemistry Softwares. *Journal of Computational Chemistry*, 32(October), 174–182.
<https://doi.org/10.1002/jcc>
- Amelia, F. (2019). Modeling Struktur Protein Vaksin H5N1 HA BTB Menggunakan I-Tasser. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1689–1699.
- Arwansyah, Ambarsari, L., & Sumaryada, T. I. (2014). Simulasi Docking Senyawa Kurkumin Dan Analognya Sebagai Inhibitor Enzim 12-Lipoksigenase. *Current Biochemistry, I(in silico)*, 36–39.
- Bare, Y., Maulidi, A., Sari, D. R. T., & Tiring, S. S. N. D. (2019). Studi in Silico Prediksi Potensi 6-Gingerol sebagai inhibitor c-Jun N-terminal kinases (JNK). *Jurnal Jejaring Matematika Dan Sains*, 1(2), 59–63.
<https://doi.org/10.36873/jjms.v1i2.211>
- Bharti, R., & Shukla, S. K. (2021). Molecules against Covid-19: An in silico approach for drug development. *Journal of Electronic Science and Technology*, June 2020, 100095.
<https://doi.org/10.1016/j.jnlest.2021.100095>
- 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>
- Frimayanti, N., Nasution, M. R., & Etavianti, E. (2021). Molecular docking and molecular dynamic simulation of 1,5-benzothiazepine chalcone derivative compounds as potential inhibitors for Zika virus helicase. *Jurnal Riset Kimia*, 12(1), 44–52.
<https://doi.org/10.25077/jrk.v12i1.365>
- Gaffar, S., Masyhuri, A. A., Hartati, Y. W., & Rustaman, R. (2016). Studi in Silico Single Chain Variable Fragment (Scfv) Selektif Terhadap Hormon Basic Natriuretic Peptide (Bnp). *Chimica et Natura Acta*, 4(2), 52.
<https://doi.org/10.24198/cna.v4.n2.10671>
- Głowacki, E. D., Irimia-Vladu, M., Bauer,

- S., & Sariciftci, N. S. (2013). Hydrogen-bonds in molecular solids-from biological systems to organic electronics. *Journal of Materials Chemistry B*, 1(31), 3742–3753. <https://doi.org/10.1039/c3tb20193g>
- Lestari, T. (2015). Studi Interaksi Senyawa Turunan 1, 3-Dibenzoiltiourea sebagai Ribonukleotida Reduktase Inhibitor. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 7(3), 163–169.
- Lovell, S. C., Davis, I. W., Adrendall, W. B., de Bakker, P. I. W., Word, J. M., Prisant, M. G., Richardson, J. S., & Richardson, D. C. (2003). Structure validation by C alpha geomF. Altschul, S., Gish, W., Miller, W., W. Myers, E., & J. Lipman, D. (1990). Basic Local Alignment Search Tool. *Journal of Molecular Biology*. <http://onlinelibrary.wiley.com/store/10.1002/prot.10286/asset/10286ftp.pdf?v=1&t=gwhx9jy0&s=b3b0f129a5acf7f4513aea04d22aad7ee4f4a89d>
- Mansilla, E., Martínez, R. R., Marín, G. H., Filho, I. Z., Rivas, E., Rivas, J., Carvalho, K. A. T. de, Dayer, M. R., & Samadikuchaksaraei, A. (2020). Macrolide-Clarithromycin Task-Force for the Treatment and Prophylaxis of Covid-19 as a Single Agent. *Pharmacology & Pharmacy*, 11(06), 85–104. <https://doi.org/10.4236/pp.2020.116009>
- Muttaqin, F. Z., Pratama, M. F., & Kurniawan, F. (2019). Molecular Docking and Molecular Dynamic Studies of Stilbene Derivative Compounds As Sirtuin-3 (Sirt3) Histone Deacetylase Inhibitor on Melanoma Skin Cancer and Their Toxicities Prediction. *Journal of Pharmacopolium*, 2(2), 112–121. <https://doi.org/10.36465/jop.v2i2.489>
- Nurbaiti, S., Hertadi, R., Martoprawiro, M. A., & Akhmaloka. (2009). The Role of Interface Domain Interactions on Thermal Stability of DNA polymerase I ITB-1. *The Open Structural Biology Journal*, 3(1), 16–25. <https://doi.org/10.2174/1874199100903010016>
- Praja, R. A., & Pratiwi, D. (2018). Study of Molecular Placement of Sscopoletin Compounds from Mine (Morinda citrifolia l.) in Enzim Ace as Antihipertension. *Farmagazine*, 5(1), 31–39.

- Prajapat, M., Sarma, P., Shekhar, N., Avti, P., Sinha, S., Kaur, H., Kumar, S., Bhattacharyya, A., Kumar, H., Bansal, S., & Medhi, B. (2020). Drug targets for corona virus.pdf. *Indian Journal of Pharmacology*, 1–28. https://doi.org/10.4103/ijp.IJP_115_20
- Prasetya, T. (2011). Simulasi Dinamika Molekul Kompleks Histone Deacetylase (HDAC) Kelas II Homo Sapiens Dengan Suberoylanilide Hydroxamic Acid (SAHA) Dan Turunannya Sebagai Inhibitor Kanker Serviks. In *Skripsi* (pp. 1–61). Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.
- Purnomo, H. (2013). *Kimia Komputasi Untuk Farmasi dan Ilmu Terkait (Uji In siliko Senyawa Antikanker)*. Pustaka Pelajar.
- Rachmania, R. A., Hariyanti, H., Zikriah, R., & Sultan, A. (2018). Studi In Silico Senyawa Alkaloid Herba Bakung Putih (*Crinum Asiaticum* L.) pada Penghambatan Enzim Siklooksigenase (COX). *Jurnal Kimia VALENSI*, 4(2), 124–136. <https://doi.org/10.15408/jkv.v4i2.7686>
- 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/alchemy.14.2.14396.236-254>
- Ruswanto, R., Mardiah, M., Mardianingrum, R., & Novitriani, K. (2015). Sintesis Dan Studi in Silico Senyawa 3-Nitro-N'-(Pyridin-4-Yl) Carbonyl]Benzohydrazide Sebagai Kandidat Antituberkulosis. *Chimica et Natura Acta*, 3(2). <https://doi.org/10.24198/cna.v3.n2.9183>
- Ruswanto, R., Mardianingrum, R., Lestari, T., Nofianti, T., Tuslinah, L., & Nurmalik, D. (2018). In silico study of the active compounds in bitter melon (*Momordica charantia* L) as antidiabetic medication. *Pharmaciana*, 8(2), 177–194. <https://doi.org/10.12928/pharmaciana.v8i2.8993>
- Shah, B., Modi, P., & Sagar, S. R. (2020). In silico studies on therapeutic agents for COVID-19: Drug repurposing approach. *Life Sciences*, 252(April), 117652. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.1176>

Siswandono. (2016). *Kimia Medisinal 1* (Siswandono (ed.); Edisi 1). Airlangga University Press.

Suhadi, A., Rizarullah, R., & Feriyani, F. (2019). Simulasi Docking Senyawa Aktif Daun Binahong Sebagai Inhibitor Enzyme Aldose Reductase. *Sel Jurnal Penelitian Kesehatan*, 6(2), 55–65.

<https://doi.org/10.22435/sel.v6i2.1651>

Susilo, A., Rumende, C. M., Pitoyo, C. W., Santoso, W. D., Yulianti, M., Sinto, R., Singh, G., Nainggolan, L., Nelwan, E. J., Khie, L., Widhani, A., Wijaya, E., Wicaksana, B., Maksum, M., Annisa, F., Jasirwan, O. M., Yuniastuti, E., Penanganan, T., New, I., ... Cipto, R. (2020). *Coronavirus Disease 2019: Tinjauan Literatur Terkini Coronavirus Disease 2019: Review of Current Literatures*. 7(1), 45–67.

Vinsentricia, A., Hami Seno, D. S., & Bintang, M. (2015). In Silico Analysis of Curcuma longa Against PCAF Histon Asetiltransferase. *Current Biochemistry*, 2(2), 52–62. <https://doi.org/10.29244/cb.2.2.52-62>

Yasin, S. A., Azzahra, A., Ramadhan, N. E., & Mylanda, V. (2020). Studi Penambatan Molekuler dan Prediksi ADMET Senyawa Bioaktif Beberapa Jamu Indonesia terhadap SARS-CoV-2 Main Protease (Mpro). *Berkala Ilmiah Mahasiswa Farmasi Indonesia (BIMFI)*, 7(2), 24–41. <https://doi.org/10.48177/bimfi.v7i2.45>

Yuliana, A., Hilman Fitriaji S P, Khofi Siti Mukhaufillah, & Lina Rahmawati Rizkuloh. (2020). In Silico Study on Testing Antidiabetic Compounds Candidate from Azaphilone Mold *Monascus* sp. *Microbiology Indonesia*, 14(2), 2. <https://doi.org/10.5454/mi.14.2.2>