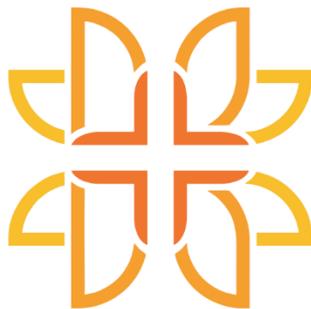


**PENAMBATAN MOLEKUL, SIMULASI DINAMIKA MOLEKUL DAN
PREDIKSI TOKSISITAS SENYAWA-SENYAWA YANG TERKANDUNG
DALAM TEH (*CAMELLIA SINENSIS*) YANG BERPOTENSI SEBAGAI
INHIBITOR MAIN PROTEASE SARS-COV-2**

Laporan Tugas Akhir

**Risna Juwinar Suharti
11161048**



**Universitas Bhakti Kencana
Fakultas Farmasi
Program Strata I Farmasi
Bandung
2021**

LEMBAR PENGESAHAN

**PENAMBATAN MOLEKUL, SIMULASI DINAMIKA MOLEKUL DAN
PREDIKSI TOKSISITAS SENYAWA-SENYAWA YANG TERKANDUNG
DALAM TEH (*CAMELLIA SINENSIS*) YANG BERPOTENSI SEBAGAI
INHIBITOR MAIN PROTEASE SARS-COV-2**

Laporan Tugas Akhir

Diajukan untuk memenuhi persyaratan kelulusan Sarjana Farmasi

**Risna Juwinar Suharti
11161048**

Bandung, 17 Juli 2021

Menyetujui,

Pembimbing Utama,



(Apt. Purwaniati, M.Si.)
NIDN. 0403018206

Pembimbing Serta,



(Dr. Apt. Fauzan Zein Muttaqin, M.Si.)
NIDN. 0424117601

ABSTRAK**PENAMBATAN MOLEKUL, SIMULASI DINAMIKA MOLEKUL DAN PREDIKSI TOKSISITAS SENYAWA-SENYAWA YANG TERKANDUNG DALAM TEH (*CAMELLIA SINENSIS*) YANG BERPOTENSI SEBAGAI INHIBITOR MAIN PROTEASE SARS-COV-2****Oleh:****Risna Juwinar Suharti
11161048**

COVID19 yang menjadi pandemi disebabkan oleh virus SARS CoV-2. Pencarian obat baru untuk COVID19 terus dilakukan dengan memanfaatkan berbagai protein target yang mungkin terhadap virus tersebut. Salah satu protein target yang mungkin adalah Main protease (M^{pro}). Main protease adalah enzim yang berperan dalam replikasi virus. Ekstrak teh (*Camellia sinensis*) terbukti memiliki senyawa aktif yang diketahui dapat menjadi penghambat aktivitas M^{pro} SARS CoV. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah senyawa-senyawa dalam ekstrak teh memiliki aktivitas terhadap main protease SARS CoV-2 atau tidak. Penelitian ini dilakukan secara *in silico* dengan pendekatan penambatan molekul dan dinamika molekul. Berdasarkan hasil penambatan molekul dari 12 senyawa uji tersebut terhadap enzim M^{pro} diketahui ada 5 senyawa uji yang diketahui memiliki afinitas lebih baik daripada ligan alami maupun Lopinavir, yaitu senyawa *Theaflavin-3'-gallate*, *Theaflavin-3-gallate*, *Epigallocatechin gallate*, *Epigallocatechin gallate*, *Theaflavin-3'3-gallate*. Berdasarkan hasil simulasi dinamika molekul yang berjalan selama 50 ns hasil grafik menunjukkan bahwa nilai RMSD dan RMSF yang memiliki kestabilan interaksi yaitu ada pada senyawa *Theaflavin-3-gallate* dan *Epigallocatechin gallate* dimana nilai yang diperoleh $<2\text{\AA}$ dan grafik menunjukkan hasil yang stabil. Berdasarkan prediksi toksisitas secara *in silico*, Senyawa *Theaflavin-3-gallate* dan *Epigallocatechin gallate* diketahui tidak bersifat mutagen dan tidak bersifat karsinogen tetapi toksisitas terhadap jantung masih belum jelas.

Kata kunci: Dinamika Molekul, M^{pro} , SARS CoV-2

ABSTRACT**DOCKING, MOLECULAR DYNAMIC AND TOXICITY PREDICTION OF COMPOUNDS CONTAINED IN TEA (CAMELLIA SINENSIS) THAT POTENTIALS AS SARS-COV-2 MAIN PROTEASE INHIBITORS****By:****Risna Juwinar Suharti****11161048**

*The COVID19 pandemic was caused by the SARS CoV-2 virus. The search for new drugs for COVID19 continues by utilizing various possible target proteins against the virus. One possible target protein is Main protease (M^{pro}). Main proteases are enzymes that play a role in viral replication. Tea extract (*Camellia sinensis*) has been shown to have active compounds that are known to inhibit the M^{pro} SARS CoV activity. The purpose of this study was to determine whether the compounds in the tea extract had an activity for the main protease SARS CoV-2 or not. This research was conducted in silico with docking and molecular dynamics approaches. Based on the results of the docking of the 12 test compounds to the M^{pro} enzyme, it was found that there were 5 test compounds known to have better affinity than natural ligands and Lopinavir, namely Theaflavin-3'-gallate, Theaflavin-3-gallate, Epicatechin gallate, Epigallocatechin gallate, Theaflavin-3'3-gallate. Based on the results of the molecular dynamics simulation running for 50 ns, the graph results show that the value of RMSD and RMSF which has stable interactions is in the Theaflavin-3-gallate and Epigallocatechin gallate compounds where the values obtained are $<2\text{\AA}$ and the graph shows stable results. Based on the prediction of toxicity in silico, the test compound which has better activity than natural ligands and lopinavir is known not to be a mutagen and not a carcinogen but its toxicity to the heart is still unclear.*

Keywords: *Molecular Dynamic, M^{pro} , SARS CoV-2*

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmannirrahim

Assalamu'alaikum Wr. Wb

Puji dan syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan laporan tugas akhir dengan judul “PENAMBATAN MOLEKUL, SIMULASI DINAMIKA MOLEKUL DAN PREDIKSI TOKSISITAS SENYAWA-SENYAWA YANG TERKANDUNG DALAM TEH (*CAMELLIA SINENSIS*) YANG BERPOTENSI SEBAGAI INHIBITOR MAIN PROTEASE SARS-COV-2”

Dalam laporan tugas akhir ini penulis tidak lepas dari bimbingan serta dorongan dari berbagai pihak, untuk itu pada kesempatan kali ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Kedua orang tua saya yang telah memberikan dorongan moril dan materi selama penulisan laporan tugas akhir ini.
2. Apt. Purwaniati, M.Si. selaku dosen pembimbing utama yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk memberikan arahan serta saran didalam penulisan laporan tugas akhir ini dan yang selalu mendengarkan keluh kesah saya.
3. Dr. Apt. Fauzan Zein Muttaqin, M.Si. selaku dosen pembimbing serta yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk memberikan arahan serta saran didalam penulisan laporan tugas akhir ini
4. Teman teman team kimia medisinal khususnya team Docking serta teman teman seperjuangan

Dalam penulisan tugas akhir ini penulis menyadari bahwa dalam tulisan ini masih banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun untuk menyempurnakan tulisan ini

Akhirnya penulis berharap semoga Allah SWT berkenan untuk memberikan balasan dan kemuliaan kepada pihak-pihak yang telah membantu penulis dalam pelaksanaan tugas akhir ini, dan kepada pihak-pihak yang telah memberikan kritik dan saran atas tersusunnya penelitian ini

Penulis

Risna juwinar Suharti

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	ii
ABSTRAK	i
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI.....	iv
DAFTAR TABEL	vi
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
I.1 Latar belakang	1
I.2 Rumusan masalah.....	3
I.3 Tujuan dan manfaat penelitian	3
I.4 Hipotesis penelitian	3
I.5 Tempat dan waktu Penelitian	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1 SARS-COV-2.....	4
II.2 Main Protease (M ^{Pro})	8
II.3 Ekstrak Teh (Camelia Sinensin).....	8
II.3.1 Flavonoid.....	10
II.3.2 Alkaloid.....	12
II.4 Penambatan molekul	13
II.4.1 Tahapan penambatan molekul	13
II.4.2 Parameter Penambatan Molekul.....	14
II.4.3 Validasi Penambatan Molekul.....	15
II.4.4 Visualisasi Penambatan Molekul	16
II.5 Simulasi Dinamika Molekul.....	16
II.5.1 Parameter Analisis Dinamika Molekul	16
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN	19
BAB IV. ALAT DAN BAHAN.....	21
IV.1 Alat	21
IV.2 Bahan	21
BAB V. PROSEDUR PENELITIAN.....	22
V.1 Persiapan protein target dan ligan alami	22

V.2	Penyiapan ligan uji.....	22
V.3	Validasi penambatan molekul.....	22
V.4	Penambatan molekul Senyawa Uji	22
V.5	Analisis penambatan molekul.....	22
V.6	Simulasi Dinamika Molekul	23
V.7	Prediksi Toksisitas	23
BAB VI.	HASIL DAN PEMBAHASAN	24
VI.1	Persiapan protein target dan ligan alami.....	24
VI.2	Persiapan ligan uji.....	25
VI.3	Parameter sifat fisikokimia.....	29
VI.3	Validasi penambatan molekul.....	30
VI.4	Penambatan molekul Senyawa Uji	32
VI.5	Simulasi Dinamika Molekul	34
VI.6	Prediksi Toksisitas	38
BAB VII.	KESIMPULAN DAN SARAN.....	41
	DAFTAR PUSTAKA.....	42
	LAMPIRAN.....	47

DAFTAR TABEL

Tabel VI.1	Identitas Enzim Mpro	24
Tabel VI.2	Gambar Struktur 2D Ligan Uji.....	25
Tabel VI.3	Nilai Total Energy, Homo, Lumo, dan Gap Energy Hasil Optimasi.....	28
Tabel VI.4	Parameter Sifat Fiskokimia	30
Tabel VI.5	Parameter Grid Box yang Digunakan.....	31
Tabel VI.6	Hasil Penambatan Molekul.....	33
Tabel VI.7	Pergerakan Rata-rata Deviasi dan Rentang RMSD Hasil MD.....	35
Tabel VI.8	Hasil Perhitungan MMGBSA.....	37
Tabel VI.9	Tabel Hasil Prediksi Tes Ames	38
Tabel VI.10	Hasil Prediksi Tes Karsinogenik	39
Tabel VI.11	Hasil Prediksi Toksisitas Terhadap Jantung.....	39

DAFTAR GAMBAR

Gambar II.1 Detail struktur corona virus	5
Gambar II.2 Siklus hidup virus	7
Gambar II.3 Tanaman Teh (<i>Camelia sinensis</i>)	9
Gambar II.4 Struktur 2D katekin.....	10
Gambar II.5 Struktur 2D Epicatechin	10
Gambar II.6 Struktur 2D Epigallocatechin.....	10
Gambar II.7 Struktur 2D Epicatechin gallate.....	10
Gambar II.8 Struktur 2D Epigallocatechin gallate	11
Gambar II.9 Struktur 2D Theaflavin.....	11
Gambar II.10 Struktur 2D Theaflavin-3-gallate	11
Gambar II.11 Struktur 2D Theaflavin-3'-gallate	11
Gambar II.12 Struktur 2D Theaflavin-3,3'- gallate.....	111
Gambar VI.1 Visualisasi Interaksi Enzim M ^{pro} -ligan Alami FNO	32
Gambar VI.2 Visualisasi 2D interaksi enzim Mpro dengan dengan ligan 2.....	34
Gambar VI.3 Grafik RMSD.....	35
Gambar VI.4 Grafik RMSF.....	37

BAB I. PENDAHULUAN

I.1. Latar belakang

Pada bulan Desember tahun 2019, seluruh dunia dihebohkan oleh kemunculan virus baru yang dapat menyebabkan infeksi corona virus disease 2019 (COVID19). Virus tersebut menjadi wabah penyakit di kota Wuhan, China karena penyebarannya yang cukup pesat (Wang et al., 2020). Karena kejadian tersebut, pada tanggal 30 Januari 2020 *World Health Organization* (WHO) mengumumkan darurat kesehatan global (Huang et al., 2020). WHO dalam pertemuan pertamanya memperkirakan tingkat kematian COVID19 mencapai sekitar 4% (Liu and Wang, 2020).

COVID19 ini disebabkan oleh SARS CoV-2 (*Severe Acute Respiratory Syndrome Corona Virus 2*). Virus SARS CoV-2 sama halnya dengan SARS CoV merupakan keluarga dari coronaviridae dan genus Betacoronavirus (Ullrich and Nitsche, 2020). Virus SARS CoV-2 merupakan varian virus RNA yang dapat menjangkiti hewan mamalia dan unggas, serta dapat juga menjangkiti tubuh manusia sehingga dapat mengakibatkan terjadinya pneumonia (Wang et al., 2020). Bahkan di masa lalu, coronavirus yang berbeda telah menyebabkan beberapa penyakit manusia yang mengakibatkan epidemi global. Adapun coronavirus yang telah menyebabkan epidemi global antara lain adalah seperti SARS (*severe acute respiratory syndrome*), MERS (*Middle East respiratory syndrome*), dan yang terakhir adalah COVID19 (*coronavirus disease 2019*) (Umesh et al., 2020).

SARS CoV2 termasuk dalam jenis dari genus Betacoronavirus, seperti kelelawar coronavirus BatCoV RaTG13 (kemiripan urutan asam amino 96%) dan SARS CoV (kemiripan sekuens asam amino 80%). SARS CoV dan MERS CoV keduanya berasal dari zoonosis, dengan kelelawar sebagai reservoir alami mereka. Pada SARS maupun MERS Penularan ke manusia dapat terjadi melalui inang perantara. SARS-CoV-2 diperkirakan mengikuti aliran transmisi evolusioner yang serupa (Ullrich and Nitsche, 2020).

Tujuan dari terapi penyakit yang disebabkan oleh virus adalah menghambat terjadinya replikasi virus sehingga dapat mengakibatkan virus menjadi mati. Salah satu komponen penting yang terdapat dalam virus corona salah satunya adalah *Main protease* (M^{pro}). Fungsi utama dari M^{pro} yaitu melepaskan polipeptida fungsional dari poliprotein melalui

proses proteolitik (Jin et al., 2020). enzim esensial seperti RdRp atau nsp13 tidak dapat berfungsi sepenuhnya tanpa pelepasan proteolitik sebelumnya. M^{pro} merupakan enzim utama dalam siklus replikasi virus. Akibatnya, penghambatannya dapat menghentikan produksi partikel virus yang menular dan dengan demikian meringankan gejala penyakit (Ullrich,2020). Terdapat dua poliprotein yang diperlukan untuk replikasi dan transkripsi coronavirus, yaitu pp1a dan pp1b (Lu et al., 2020).

Dilihat dari topologi nya M^{pro} ini menunjukkan aktivitas protease karena memiliki bentuk yang homodimer. Pada proses pembelahan 11 situs pada poliprotein 1a(pp1a) dan pp1b ini melibatkan protease, yang selanjutnya poliprotein tersebut akan menghasilkan protein-protein yang akan dibutuhkan untuk kelangsungan hidup virus (Purwaniati, 2020).

Lopinavir merupakan antivirus yang penggunaannya telah mendapatkan izin dari *Food and Drug Administration (FDA)*. FDA menyatakan bahwa Lopinavir adalah antiviruss yang digunakan untuk mengobati HIV. Pada penelitian yang dilakukan oleh De Wilde secara in vitro menunjukkan bahwa Lopinavir memiliki aktivitas melawan virus SARS CoV melalui penghambatan M^{pro} (De Wilde et al., 2014).

Para ilmuwan lebih sering memanfaatkan tanaman herbal yang memiliki senyawa aktif secara biologis sebagai obat karena dapat mencegah dan mengobati penyakit pada manusia (Sachan, et al., 2018). Selain penggunaan obat antivirus kimiawi, antivirus berbasis bahan alam juga layak dipertimbangkan karena memiliki manfaat untuk dapat dijadikan sebagai obat COVID19. Sumber bahan kimia yang melimpah dapat diperoleh dari alam dalam bentuk tumbuhan yang memiliki senyawa aktif yang selanjutnya dapat digunakan untuk pengembangan obat, termasuk obat antivirus. Hingga detik ini, beberapa obat tradisional atau senyawa aktif yang terdapat dalam tanaman herbal sudah terbukti dapat digunakan sebagai antivirus, salah satunya adalah ekstrak teh dan beberapa senyawa aktifnya diketahui dapat menghambat aktivitas M^{pro} dari SARS CoV (Chen et al., 2005).

Berdasarkan studi pustaka yang ada, maka penelitian ini dilakukan untuk mencari senyawa dari tanaman teh sebagai penghambat Main protease(M^{pro}) pada SARS CoV 2 menggunakan studi penambatan molekul dan simulasi dinamika molekul.

I.2. Rumusan masalah

Apakah senyawa-senyawa yang terkandung dalam ekstrak teh dapat menghambat aktivitas M^{Pro} pada SARS-CoV-2. Hal tersebut merujuk kepada penelitian Chen (2005) di mana penelitian tersebut menyebutkan bahwa kandungan senyawa dari ekstrak teh memiliki aktivitas terhadap penghambatan M^{Pro} pada SARS-CoV.

I.3. Tujuan dan manfaat penelitian

Mendapatkan inhibitor enzim main protease (M^{Pro}) untuk menghambat replikasi virus pada SARS CoV2 yang dapat dikembangkan menjadi obat COVID19 dari senyawa-senyawa yang terkandung dalam teh.

I.4. Hipotesis penelitian

Ekstrak teh dan beberapa senyawa aktifnya diketahui mempunyai aktivitas penghambatan terhadap M^{Pro} dari SARS CoV. Sehingga mungkin memiliki aktivitas yang sama terhadap SARS-CoV-2, karena SARS CoV dan SARS-CoV-2 memiliki kemiripan sekuen asam amino.

I.5. Tempat dan waktu Penelitian

Tempat pelaksanaan penelitian ini laboratorium kimia komputasi Universitas Bhakti Kencana Bandung menggunakan perangkat hardware laptop pada bulan Februari-Mei 2021.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

II.1. SARS-CoV-2

Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 atau disingkat sebagai SARS-CoV-2 adalah virus yang dapat menginfeksi manusia dan mengakibatkan terjadinya sindrom pernapasan akut atau yang kerap dikenal sebagai COVID19 (Sanders et al., 2020). SARS-CoV-2 termasuk dalam family Coronaviridae sama halnya dengan virus corona yang sudah ada sebelumnya. Keluarga dari virus ini mempunyai selubung (envelope), yang terlibat dalam bagian penting untuk kelangsungan siklus hidup virus. Virus RNA ini dapat menginfeksi hewan mamalia dan unggas, juga dapat menginfeksi manusia, dan dapat menjadi penyebab penyakit akut hingga kronis (Schoeman and Fielding, 2019).

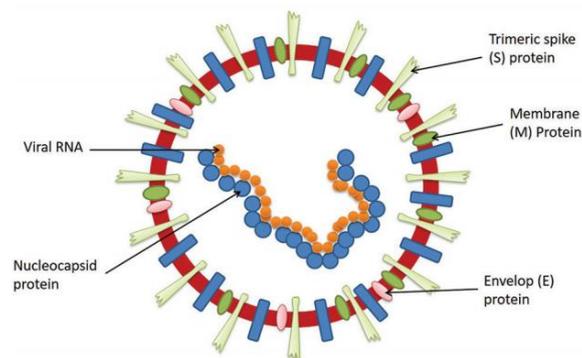
COVID19 adalah penyakit yang terjadi karena seorang individu terjangkit strain virus baru yakni SARS-CoV-2, dimana penyakit tersebut merupakan salah satu dari penyakit pernafasan akut. Pada umumnya penularan virus ini bisa melalui droplet dan kontak fisik antar orang yang terkena infeksi tersebut, tetapi beberapa menyebutkan bahwa virus tersebut dapat juga menular melalui keringat, urin dan sekresi pernafasan. Gejala yang ditimbulkannya berupa dispnea yang disertai *acute respiratory distress syndrome* (ARDS), demam, sampai batuk (Gao et al., 2020).

Acute respiratory distress syndrome, atau yang setelahnya disebut sebagai ARDS yaitu peradangan paru yang begitu parah akibat cairan yang menumpuk di sekitar dan di dalam paru-paru yang dapat menyebabkan *septic shock* akibat penurunan drastis tekanan darah dan organ tubuh tersebut kekurangan oksigen (Shah et al., 2019). Pada seseorang yang mengalami infeksi yang disebabkan oleh varian virus seperti MERS CoV, SARS CoV, sampai yang terbaru adalah SARS-CoV-2, biasanya mengalami respon imunopatologis berupa ARDS (Xu et al., 2020). ARDS yang terjadi pada seorang individu diakibatkan oleh peristiwa badai sitokin yang merupakan peristiwa terlepasnya beberapa agen proinflamasi sitokin seperti (IFN- α , IFN β , IL-33, IL-6, L- β , IL-12, IL-18, TNF- α , TGF- β , dan lain-lain) serta agen proinflamasi kemokin seperti (CXC10, CL2, CXCL 8, CXCL 9, CCL3, CCL5) (Huang et al., 2020).

Dalam kasus SARS CoV, pada umumnya individu tertular melalui infeksi droplet. Selain itu, kasus SARS CoV juga biasanya ditularkan terhadap seorang individu melalui kontak langsung

dengan individu lain yang telah terinfeksi lebih dulu. Virus juga bisa menyebar melalui urin, feses, cairan keringat, serta sekresi pernapasan. Cara kerja dari virus SARS CoV adalah, virus tersebut mengikat sel utama target yaitu enterosit dan juga pneumosit, yang kemudian akan membentuk siklus infeksi juga replikasi ketika virus tersebut masuk ke dalam tubuh. Adapun sel target lainnya dari CoV yaitu sel imun, sel saraf otak, sel epitel dan tubulus ginjal (Prajapa et al., 2020).

Protein struktural terpenting dari CoV adalah protein envelope (E), protein membrane (M), protein spike, dan Nukleoplasid protein (N) sebagaimana tertera dalam gambar II.1 di bawah ini.



Gambar 1: Detail struktural Coronavirus

Gambar II.1 Detail struktur corona virus (Prajapa et al., 2020)

Protein Spike (S)

Protein Spike yang ada pada SARS-CoV-2 sama halnya dengan protein spike pada SARS-CoV yang merupakan bagian dari struktur yang fungsinya adalah untuk memberi jalan terhadap proses saat virus tersebut masuk ke tubuh seorang individu. Adapun cara kerja virus tersebut adalah melalui pelekatan pada angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) yang selanjutnya terjadi ikatan antara protein S dan ACE2 (Purwaniati, 2020).

Protein Membran (M)

Protein M adalah protein utama pembungkus virus, yang menentukan bentuk virus, tetapi juga mengambil bagian dalam pembentukan dan pelepasan partikel mirip virus. Fungsi terpenting dari protein M yaitu sebagai pemeliharaan bentuk selubung virus, Mprotein juga berperan dalam sensitisasi inang oleh virus. (Prajapa et al., 2020).

Envelop Protein (E)

Protein E adalah protein struktural terkecil (ukuran 8,4-12 kDa) dari CoV. Protein E memiliki peran khusus dalam morfogenesis virus, terutama selama perakitan dan keluarnya virus. CoV yang kekurangan protein E menunjukkan titer virus yang lebih rendah, keturunan yang belum matang, dan tidak efisien. Protein E juga bertindak sebagai faktor virulensi. Protein E memiliki peran penting dalam perakitan CoV dan pembentukan tunas (Prajapa et al., 2020).

Protein nukleokapsid (N)

Fungsi dari protein N yaitu sebagai pembentukan dan pemeliharaan kompleks RNP, juga mengatur replikasi dan transkripsi RNA virus dalam inang, perubahan metabolisme sel inang, siklus sel inang (protein N dilaporkan menghambat CDK4), dan apoptosis. Dalam darah tepi manusia, protein N menghambat proliferasi sel melalui penghambatan sitokinesis (Prajapa et al., 2020).

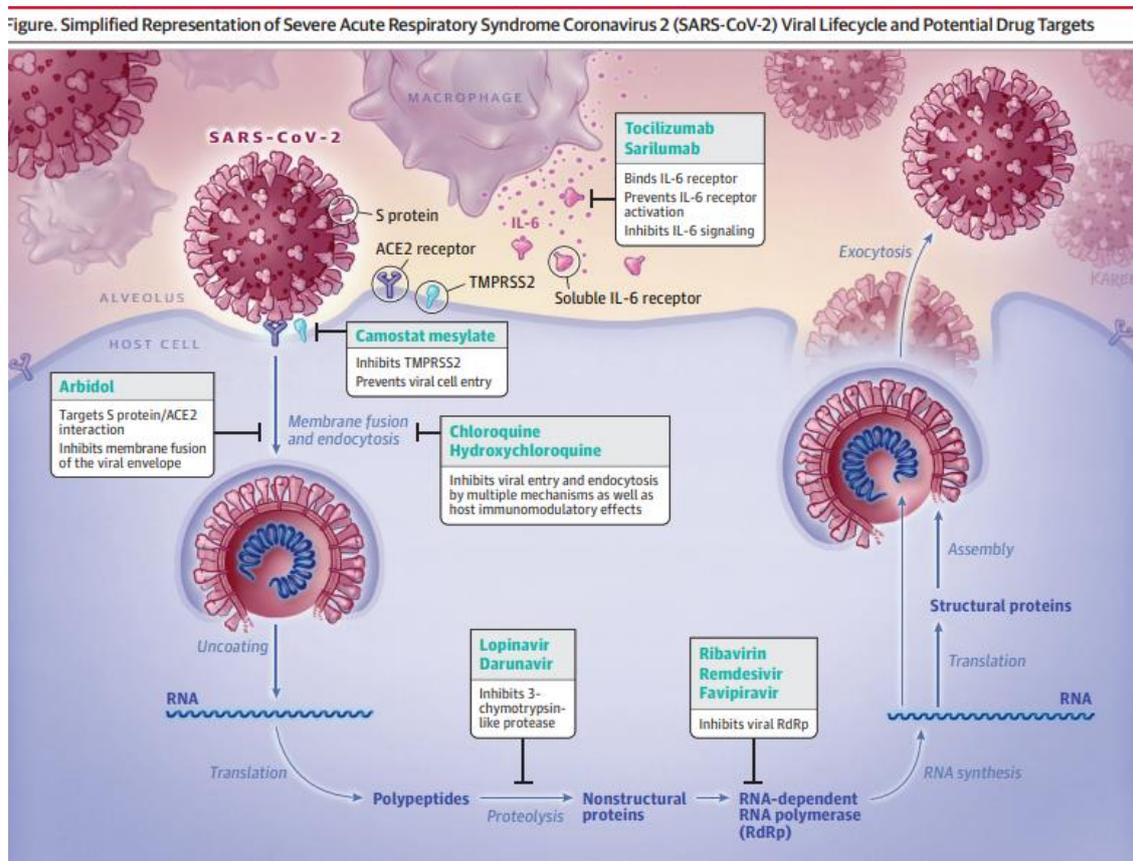
Berdasarkan penelitian Hoffmann et al (2020) sebelumnya yang meneliti mengenai SARS-CoV-2, ditemukan hasil bahwa karakteristik virus tersebut memiliki kemiripan identik sebesar 80% dengan SARS CoV. Sehingga dapat memungkinkan bahwa struktur M^{pro} pada kedua virus tersebut memiliki kemiripan.

Dari penelitian yang telah dilakukan oleh Fakih disebutkan bahwa persamaan karakteristik dari virus SARS CoV serta virus SARS-CoV-2 dapat diamati berdasarkan stuktur makromolekul dan sisi aktif dari asam aminonya. Dimana pada struktur makromolekul memiliki kemiripan yang signifikan hanya saja terdapat perbedaan pada ujung strukturnya. Sedangkan jika dilihat dari sisi aktifnya, semua sisi aktif asam amino yang ada pada SARS CoV juga terdapat pada SARS-CoV-2 yaitu His41, Phe140, Gly143, Ser144, Glu66 hanya saja pada SARS-CoV-2 ada penambahan sisi aktif asam amino yang lebih banyak yaitu Met49, Leu141, Asn142, His163, His164, Met165, Pro168, His172, Gln189, Thr190, Ala191.

Secara singkat, SARS-CoV-2 memiliki siklus hidup seperti pada gambar II.2. Berdasarkan gambar tersebut, dapat dilihat bahwa awalnya, virus melekat dengan reseptor ACE2 yang terdapat pada permukaan sel inang dengan difasilitasi protein S. Protein S adalah elemen struktur virus yang berbentuk mirip paku. Selanjutnya virus masuk ke dalam sel inang dan terjadilah pelepasan materi genetik. Kemudian virus tersebut memasuki bagian dalam sel

inang. Proses tersebut merupakan proses pelepasan materi genetik virus dan difasilitasi protein TMPRSS2 (Hoffmann et al., 2020)

Setelah terjadi pelepasan materi genetik, selanjutnya terjadi proses translasi dan replikasi yang dibantu oleh protein PL^{pro} , M^{pro} dan helikase. Protein tersebut juga membantu dalam proses pembentukan partikel virus baru hingga virus tersebut berhasil terbentuk secara sempurna (Zhavoronkov et al., 2020). Kemudian setelah itu, virion terlepas dari sel yang telah terinfeksi sebelumnya melalui proses eksositosis, kemudian virion tersebut akan menginfeksi sel inang lain yang belum terinfeksi. Dengan melihat siklus hidup SARS CoV tersebut maka dapat diketahui bahwa beberapa protein yang berperan pada siklus hidup tersebut dapat dijadikan sebagai target senyawa untuk obat antivirus (Septiana, 2020)



Gambar II.2 Siklus hidup virus (Sanders et al., 2020)

II.2. Main Protease (M^{pro})

Main protease (M^{pro}) atau *3C-like protease* ($3CL^{pro}$) atau dikenal juga sebagai NSP5 (Purwaniati, 2020), adalah komponen penting dalam struktur SARS-CoV-2. Fungsi utama dari M^{pro} yaitu melepaskan polipeptida fungsional dari poliprotein melalui proses proteolitik (Jin et al., 2020).

Situs pembelahan yang dimiliki oleh M^{pro} berjumlah lebih dari 11. Replikasi virus dapat terhambat apabila enzim M^{pro} mengalami inhibisi. Terdapat dua poliprotein yang diperlukan untuk replikasi dan transkripsi coronavirus, antara lain pp1a dan pp1b (Lu et al., 2020). Pada saat enzim terhambasi, replikasi dan transkripsi protein non-struktural dari virus akan terhambat, sehingga virus tersebut akan mengalami kematian. Enzim protease M^{pro} pada virus ini tidak sama dengan enzim protease yang dimiliki manusia, sehingga apabila inhibitor ini digunakan pada manusia maka tidak akan menimbulkan efek toksik (Zhang et al., 2020).

Setelah ditetapkan oleh spektroskopi massa, enzim ini diketahui memiliki bobot molekul sebesar 33,797 kDa. Adapun efisiensi katalitik (K_{cat}/K_m) yang dimiliki oleh SARS-CoV-2 adalah $28.500 M^{-1}S^{-1}$, di mana nilai tersebut hanya sedikit lebih besar dibandingkat efisiensi katalitik yang dimiliki oleh SARS-CoV yaitu $26.500 M^{-1}S^{-1}$, namun lebih besar daripada edisiensi katalitik rhinovirus nilai efisiensi katalitiknya sejumlah $920 M^{-1}S^{-1}$ (Purwaniati, 2020).

Enzim-enzim yg esensial pada proses replikasi seperti RdRp atau nsp13 tidak dapat berfungsi sepenuhnya tanpa pelepasan proteolitik sebelumnya. M^{pro} merupakan enzim penting dalam siklus replikasi virus. Akibatnya, penghambatannya dapat menghentikan produksi partikel virus yang menular dan dengan demikian meringankan gejala penyakit (Ullrich and Nitsche, 2020).

Dalam *Protein Data Bank* (PDB) struktur M^{pro} sudah berhasil di elusidasi ditandai dengan masuk dalam Protein data bank dengan ID PDB diantaranya 5R82, 5R7Y, 6W79, 7CA8 dan 6Y2E.

II.3 Ekstrak Teh (*Camelia Sinensis*)

Teh (*Camellia sinensis* (L.) O. Kunze.) dipercaya memiliki banyak manfaat kesehatan, dan merupakan satu dari sekian banyak tanaman yang termasuk dalam keluarga Theaceace

(Martono and Setiyono, 2014). Masyarakat Indonesia telah lama mengenal teh sebagai bahan minuman penyegar, penggunaannya sebagai minuman pun telah lama membudaya. Teh mengandung senyawa kimia yang berfungsi memunculkan kesan warna, aroma, serta rasa sehingga teh memiliki banyak peminat. Anjarsari (2016) menyatakan bahwa fungsi teh selain dimanfaatkan sebagai bahan minuman, teh juga kerap kali dimanfaatkan untuk kepentingan obat-obatan serta kosmetika.

Teh memiliki banyak sekali jenis. Teh hitam merupakan salah satu jenis teh yang dapat dibedakan dari jenis teh lain berdasarkan proses pengolahannya. Adapun proses pengolahan teh hitam adalah melalui proses pelayuan, kemudian dilanjutkan dengan proses penggilingan, kemudian proses oksimatis, dan yang terakhir adalah proses pengeringan (Wilantari, 2018). Teh memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder, sama seperti yang terkandung dalam tanaman-tanaman yang lain. Kandungan kimia pada teh secara umum terdiri dari flavonoid, alkaloid dan tanin (Diniatik et al., 2007). Turminah (2004) menyebutkan bahwa teh dapat diklasifikasikan apabila ditinjau melalui segi sistematika dengan klasifikasi sebagai berikut:

Kingdom : *Plantae*
Divisio : *Spermathophyta*
Sub divisi : *Angiospermae*
Kelas : *Dicothyledoneae*
Ordo : *Clusiale*
Famili : *Theaceae*
Genus : *Camellia*
Spesies : *Camellia assamica* dan *Camellia sinensis*

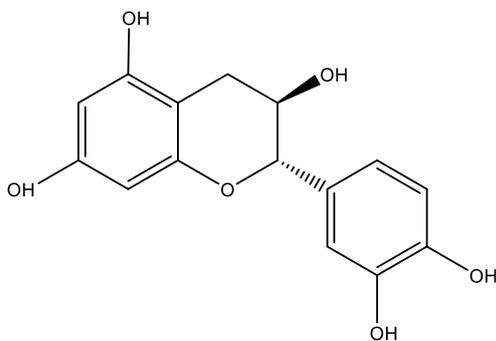


Gambar II.3 Tanaman Teh (*Camellia sinensis*)

II.3.1 Flavonoid

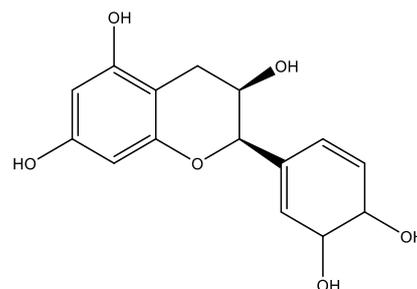
Flavanoid adalah senyawa polifenol yang terkandung di dalam teh. Senyawa ini memiliki katekol, atau biasa disebut sebagai katekin, yang berfungsi sebagai penyusun utama. Katekin disintesa melalui lintasan yang disebut phenyl-propanoid dan flavanoid. Chalcone synthase (CHS) saat ini diperkirakan sebagai enzim kunci yang berperan dalam proses biosintesa katekin di dalam daun teh (Singh et al., 2010). Adapun katekin teh bersifat antimikroba (bakteri maupun virus) dan memiliki manfaat seperti antiradiasi, antioksidan, dapat memperkuat pembuluh darah, menghambat tumbuhnya sel kanker, serta memperlancar sekresi urin (Martono and Setiyono, 2014).

Katekin di dalam daun teh tersintesis dengan empat jalur, di mana jalur tersebut disebut sebagai *isoprene pathway*, *shikimate pathway*, *polyketide pathway*, dan *amino acid pathway*. Mayoritas polifenol yang berada di daun teh disusun oleh katekin misalnya epigallocatechin (EGC), epicatechin gallate (ECG), epicatechin (EC), dan epigallocatechin gallate (EGCG).



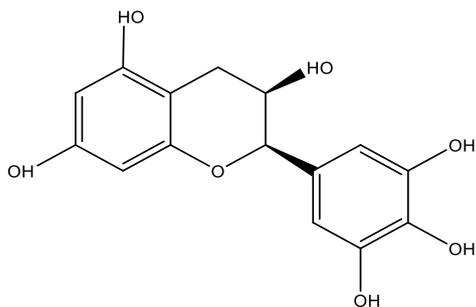
(2*S*,3*R*)-2-(3,4-dihydroxyphenyl)chromane-3,5,7-triol

Gambar II.4 Struktur 2D katekin



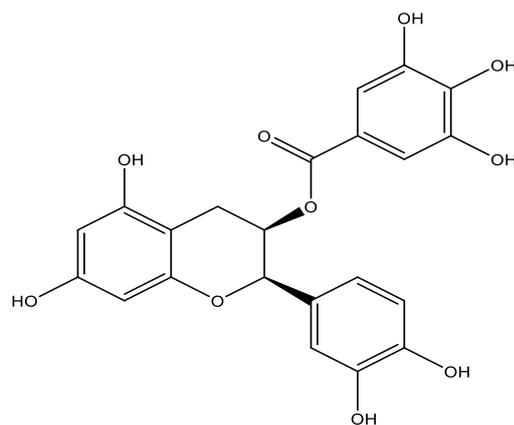
(2*R*,3*R*)-2-(3,4-dihydroxycyclohexa-1,5-dien-1-yl)chromane-3,5,7-triol

Gambar II.5 Struktur 2D Epicatechin



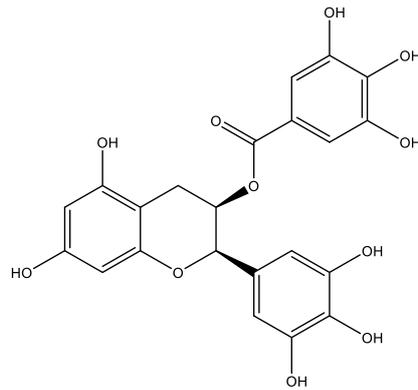
(2*R*,3*R*)-2-(3,4,5-trihydroxyphenyl)chromane-3,5,7-triol

Gambar II.6 Struktur 2D Epigallocatechin



(2*R*,3*R*)-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxychroman-3-yl 3,4,5-trihydroxybenzoate

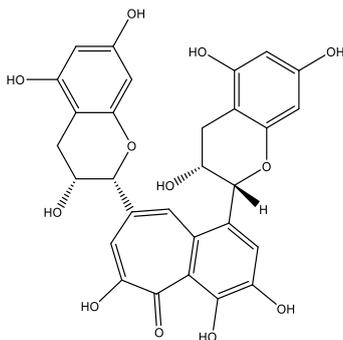
Gambar II.7 Struktur 2D Epicatechin gallate



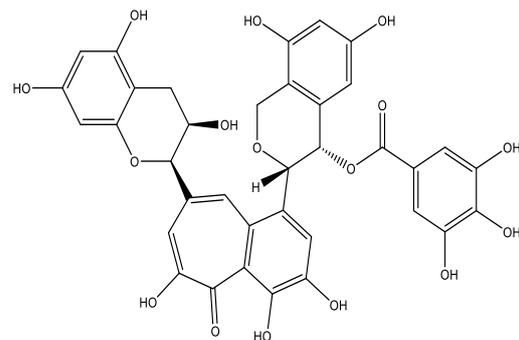
(2*R*,3*R*)-5,7-dihydroxy-2-(3,4,5-trihydroxyphenyl)chroman-3-yl 3,4,5-trihydroxybenzoate

Gambar II.8 Struktur 2D Epigallocatechin gallate

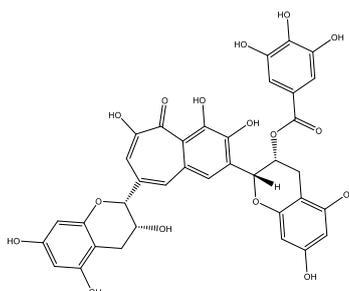
Produk teh hitam dalam proses pembuatannya mengalami proses oksidasi enzimatis yang dilakukan oleh enzim polifenol oksidase sehingga merubah jumlah kadar katekin. Oksidasi enzimatis daun teh hitam memicu *enzymatic oxidation flavan-3-ol* (katekin) sehingga memproduksi dua pigmen utama yang terdapat di dalam teh hitam. Dua pigmen utama tersebut adalah theaflavin (TF) dan thearubigin (TR). Theaflavin atau TF tersusun oleh empat senyawa utama berupa theaflavin (TF1), theaflavin-3-gallate (TF2A), theaflavin-3'-gallate (TF2B) dan yang terakhir adalah theaflavin-3,3'-digallate (TF3) (Paramita et al., 2020).



Gambar II.9 Struktur 2D Theaflavin

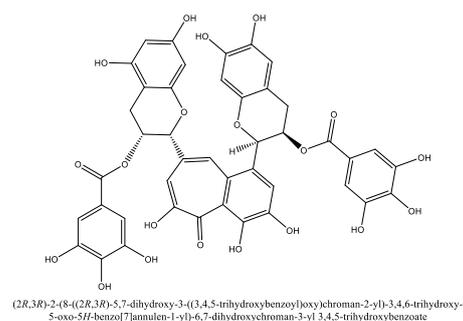


Gambar II.10 Struktur 2D Theaflavin-3-gallate



(2*R*,3*R*)-5,7-dihydroxy-2-(3,4,6-trihydroxy-5-oxo-8-((2*R*,3*R*)-3,5,7-trihydroxychroman-2-yl)-5*H*-benzo[7]annulen-2-yl)chroman-3-yl 3,4,5-trihydroxybenzoate

Gambar II.11 Struktur 2D Theaflavin-3'-gallate



(2*R*,3*R*)-2-(8-((2*R*,3*R*)-5,7-dihydroxy-3-(3,4,5-trihydroxybenzoyloxy)chroman-2-yl)-3,4,6-trihydroxy-5-oxo-5*H*-benzo[7]annulen-1-yl)-6,7-dihydroxychroman-3-yl 3,4,5-trihydroxybenzoate

Gambar II.12 Struktur 2D theaflavin-3,3'-digallate

Theaflavin adalah senyawa polifenol yang terkandung di dalam teh yang diyakini berpotensi menjadi obat herbal. Theaflavin serta derivate-nya, misalnya theaflavin gallate, terbukti memiliki spektrum luas aktivitas antivirus yang telah ditunjukkan dalam aktivitasnya terhadap beberapa virus, misalnya influenza A, influenza B, serta hepatitis C. Ekstrak teh hitam mengandung senyawa bioaktif yakni theaflavin dan theaflavin gallate. Kedua senyawa bioaktif tersebut dapat melawan virus SARS dengan cara penghambatan aktivitas SARS-CoV M^{pro} (Amalia et al., 2020).

II.3.2 Alkaloid

Alkaloid, biasanya keberadaannya berfungsi sebagai garam organik di dalam tumbuhan senyawa padat yang bentuknya serupa kristal dan mayoritas memiliki warna. Namun, pada dedaunan atau buah yang segar, biasanya alkaloid dapat memicu rasa pahit (Wilantari, 2018). Selain theobromin dan theofilin alkaloid utama dalam daun teh adalah kafein (Dewi Anjarsari, 2016).

Kafein termasuk dari alkaloid putih, di mana rumus senyawa kimianya adalah berupa $C_8H_{10}N_4O_2$ sedangkan rumus bangunnya adalah berupa *1,3,7-trimethylxanthine* (Wilantari, 2018). Kafein yang terkandung di dalam teh lebih tinggi dibandingkan kafein yang terkandung di dalam kopi. Senyawa yang termasuk purin alkaloid tersebut sifatnya basa sangat lemah di dalam larutan air atau alkohol, serta bentuk garamnya tidak stabil. Kafein biasanya berbentuk serbuk putih atau jarum putih yang mengkilap, tidak memiliki bau, dan pahit (Martono and Udarno, 2015)

Kafein memiliki efek farmakologi sebagai stimulan terhadap sistem saraf pusat serta metabolisme. Adapun penggunaan dari kafein dalam pengobatan adalah untuk mereduksi kelelahan fisik serta menambah kewaspadaan dengan mereduksi rasa kantuk. Mengonsumsi kafein secara rutin dapat memicu toleransi. Individu yang mengonsumsi kafein secara berlebihan dapat memunculkan gejala berupa insomnia, diuresis, takikardia, peningkatan energi, ganggaun saluran cerna, wajah memerah, kejang otot, aritmia, serta agitasi psikomotor (Wilantari, 2018).

II.4 Penambatan molekul

Seiring berkembangnya teknologi dalam perancangan obat, pengembangan desain obat dapat dilakukan dengan bantuan komputer. Kimia medisinal adalah ilmu terapan yang fokusnya adalah pada desain maupun reka cipta senyawa kimia obat baru beserta optimisasi dan pengembangannya guna memperoleh molekul obat yang dapat difungsikan sebagai pengobatan penyakit (Geldenhuis et al., 2006).

Computer Aided Drug Design (CADD) terbagi menjadi dua bagian yakni *Ligand Based Drug Design (LBDD)* serta *Structure Based Drug Design (SBDD)*. LBDD, yakni desain obat yang berlandaskan pada informasi ligan yang telah diketahui sebelumnya, di mana LBDD ini menggunakan informasi dari sifat fisikokimia senyawa aktif yang menjadi dasar pendesainan senyawa baru, misalnya HKSA (Hubungan Kuantitatif Struktur dan Aktivitas), penapisan virtual berbasis ligan dan pemodelan farmakofor (Sliwoski et al., 2014). SBDD yakni desain obat berlandaskan informasi dari target reseptor, di mana hal tersebut akan bertanggung jawab kepada aktivitas senyawa di tubuh yang telah diketahui sebelumnya. SBDD menggunakan informasi dari struktur reseptor target guna mendeteksi sisi bagian aktif protein yang memiliki keterkaitan dengan senyawa obat. Senyawa bisa dirancang untuk memiliki ikatan dengan reseptor serta aktivitas biologis, misalnya penambatan molekul dan simulasi dinamika molekul berdasarkan prediksi sisi aktif protein (Sliwoski et al., 2014).

Penambatan molekul atau sering disebut *docking* merupakan metode yang paling sering digunakan dalam SBDD, Penambatan molekul ini merupakan metode komputasi yang digunakan untuk memprediksikan posisi antara reseptor. Reseptor tersebut biasanya adalah protein, molekul dari asam nukleat (DNA maupun RNA) serta ligan guna mengetahui afinitasnya (Morris et al., 2008).

II.4.1 Tahapan penambatan molekul

Menurut (Farkhani, 2012), penambatan molekul terdiri dari tahap-tahap sebagai berikut:

1. Algoritma pencarian, yaitu menentukan pose yang optimal yang mungkin dari suatu ligan terhadap reseptor, sehingga diperoleh pose terstabil dari kompleks ligan reseptor. Gugus fungsional ligan nantinya berhubungan dengan residu dari asam amino reseptor. Hubungan ataupun interaksi dari gugus fungsional ligan dan residu asam amino nantinya akan menciptakan ikatan (Farkhani, 2012).

2. Scoring, yakni bertujuan untuk menghitung dan memprediksi afinitas pengikatan antara reseptor dan ligan yang terbentuk. Skor penilaian diberikan pada masing – masing pose yang akan diurutkan dan senyawa aktif dengan skor tertinggi ditetapkan sebagai pose ligan dengan protein yang paling sesuai (Farkhani, 2012).

II.4.2 Parameter Penambatan Molekul

Pada penambatan molekul ini terdapat beberapa parameter untuk analisis hasil penambatannya, parameter tersebut meliputi:

1. Interaksi Ikatan, dimana terjadi saat ligan dengan protein berinteraksi akan menciptakan kompleks. Intermolekul yang terganggu melibatkan banyak energi, contohnya: hidrofobik, ikatan hidrogen, Van der Waals, dan elektrostatik. Interaksi pemodelan intermolekul yang terdapat di dalam ligan-protein kompleks sangat rumit sebab dalam interaksi tersebut melibatkan banyak sekali derajat kebebasan serta pengetahuan yang tidak lengkap dari dampak pelarut di dalam gabungan pengikatan (Martinez et al, 2003)
2. Energi bebas Gibbs (ΔG), di definisikan sebagai energi yang timbul dari interaksi protein dengan ligan. Energi bebas Gibbs (ΔG) yang diproduksi oleh simulasi penambatan molekul mengkalkulasikan besaran energi ikatan antara ligan dan reseptor. Besaran nilai ΔG yang semakin rendah dapat diinterpretasikan sebagai afinitas antar ligan dan reseptor yang semakin baik (Romano T. Kroemer, 2007).

$$\Delta G = \Delta E_{el} + \Delta E_{vdW} + \Delta G_{pol} + \Delta G_{np}$$

Dimana tiga istilah pertama merupakan standar energi MM yaitu interaksi ikatan elektrostatik dan Van der waals. Sedangkan G pol dan G np adalah kontribusi polar dan non-polar untuk energi bebas solvasi. G pol biasanya diperoleh dengan menggunakan persamaan PB (Poisson Boltzmann) atau model GB (Generalized Born), sedangkan istilah non-polar diperkirakan dari hubungan linier dengan luas permukaan pelarut. Istilah terakhir adalah suhu absolut (T), dikalikan dengan entropi (S) (Genheden and Ryde, 2015).

3. Konstanta Inhibisi (KI), di definisikan sebagai konstanta penghambatan suatu protein oleh ligan. Dalam simulasi penambatan molekul konstanta inhibisi sering digunakan sebagai parameter untuk menentukan penambatan ligan terhadap protein. Semakin kecil nilai konstanta inhibisi menunjukkan bahwa semakin baik suatu ligan dalam menghambat suatu protein (Romano T. Kroemer, 2007).

Hubungan antara energi bebas ikatan (ΔG) dengan konstanta inhibisi ditunjukkan dalam persamaan berikut.

$$K_i = e^{-\Delta G/RT}$$

Dalam persamaan tersebut, simbol ΔG merepresentasikan energi penambatan molekul, R merepresentasikan konstanta gas, sedangkan T merepresentasikan besaran suhu (K) (Yunta, 2016). Konstanta inhibisi (K_i) merupakan penghambatan terhadap aktivitas protein oleh suatu ligan. Nilai K_i menginterpretasikan kestabilan kompleks yang terbentuk antara ligan dengan reseptor. Semakin kecil nilai K_i maka semakin tinggi afinitas ligan pada sisi aktif reseptor sehingga aktivitas senyawa semakin baik (Kim, 2008).

II.4.3 Validasi Penambatan Molekul

Validasi penambatan molekul bertujuan untuk mendapatkan pengaturan metode yang valid. Validasi penambatan molekul dalam aplikasi *Autodock* dengan cara penambatan ulang ligan alami terhadap protein target. Konformasi dan tempat ligan berinteraksi di tentukan dengan pengaturan gridbox. Dikatakan valid jika hasil penambatan ulang pada pose pengikatan paling baik mendapatkan nilai *Root Mean Square Devition* (RMSD) $< 2 \text{ \AA}$. Selanjutnya pengaturan gridbox tersebut yang digunakan dalam metode penambatan molekul senyawa uji (López-Camacho et al., 2016).

Dalam bioinformatika RMSD adalah ukuran deviasi rata - rata akar kuadrat dari posisi atom, dalam studi konformasi RMSD digunakan untuk mengukur kesamaan koordinat dalam struktur 3D. RMSD biasaya digunakan untuk ukuran kuantitatif kesamaan dua molekul atau lebih, dalam penambatan molekul RMSD berguna untuk mempelajari konfigurasi vektor ligan ketika terikat pada makromolekul dengan melihat tumpang tindih hasil penambatan ulang, semakin

rendah nilai RMSD maka semakin baik model struktur dengan struktur aslinya (Sebastian, 2016).

II.4.4 Visualisasi Penambatan Molekul

Visualisasi penambatan molekul menggambarkan interaksi ligan dengan protein yang membentuk ikatan intermolekular dengan residu asam amino. Ada tiga dasar visualisasi yaitu atomik, permukaan dan representasi grid. Representasi atom biasanya digunakan saat penilaian berdasarkan fungsi energi potensial dan paling banyak digunakan dalam visualisasi. Metode permukaan mewakili topografi molekul menggunakan fungsi geometrik. Metode grid menjelaskan molekul menggunakan diskrit 3D, fungsi yang membedakan permukaan dari interior dari molekul target (Sliwoski et al., 2014).

II.5. Simulasi Dinamika Molekul

Simulasi dinamika molekul merupakan simulasi komputer yang digunakan untuk menganalisis interaksi antara atom dan molekul sebagai fungsi waktu berdasarkan parameter hukum fisika. Simulasi dinamika molekul digunakan untuk menggambarkan pola, kekuatan, serta sifat aktifitas dari suatu protein tertentu. Protein target disini merupakan reseptor target suatu obat yang digunakan dalam desain obat baru. Kekuatan suatu molekul dihitung menggunakan komputer untuk mengetahui pergerakan molekul tersebut (Long et al., 2009).

II.5.1 Parameter Analisis Dinamika Molekul

Pada analisis dinamika molekul terdapat beberapa parameter, diantaranya meliputi:

1. *Root Mean Square Deviation* (RMSD)

Dalam simulasi dinamika molekul, analisis RMSD merupakan analisis utama yang memungkinkan untuk mengamati stabilitas, keseimbangan dan fleksibilitas suatu protein (Lindahl, 2008) . Dalam analisis dinamika molekul, gerakan struktur pada waktu tertentu dapat dianalisis dengan mengamati parameter *Root Mean Square Deviation* (RMSD). RMSD merupakan perpindahan akar rata-rata kuadrat atom pada saat simulasi dibandingkan dengan struktur awalnya atau pada konformasi awal senyawa dengan reseptor saat simulasi pertama (Long et al., 2009) .

2. *Root Mean Square Fluctuation* (RMSF)

Root Mean Square Fluctuation (RMSF) merupakan ukuran perpindahan suatu atom

atau kelompok atom tertentu terhadap struktur referensi yang dirata-ratakan berdasarkan jumlah atom. RMSF dari masing-masing residu mudah untuk dihitung melalui lintasan, tetapi yang lebih penting mereka dapat dikonversi menjadi faktor suhu yang juga ada untuk setiap atom dalam file PDB. Pergeseran konformasi setiap residu asam amino yang memberikan fleksibilitas protein (Kahana and Lancet, 2019).

3. Ikatan Hidrogen

Parameter ikatan hidrogen merupakan inti dari pembentukan dan stabilisasi struktur. Keakuratan penggabungan geometri ikatan hidrogen menjadi sangatlah penting dalam fungsi energi potensial. Dalam teori kimia, studi mengenai jumlah ikatan hidrogen yang terbentuk dari simulasi dinamika molekul memberikan analisis statistik terhadap kestabilan interaksi. Parameter yang dianalisis adalah presentase occupancy (%*occupancy*) masing-masing, dan yang dapat dikatakan stabil adalah yang memiliki nilai diatas lima puluh persen (>50%) (Lindahl, 2008).

4. *Molecular Mechanics Generalized Born Surface Area (MMGBSA)*

Molecular Mechanics Generalized Born Surface Area (MMGBSA) merupakan metode aksesibilitas pelarut untuk memperoleh energi bebas dari informasi struktural yang menghindari kompleksitas komputasi simulasi energi bebas. Pendekatan MMGBSA adalah parameter dalam perkiraan akitivitas, dimana perubahan energi bebas bersih diperlakukan sebagai jumlah komponen energi individu yang komprehensif, masing-masing dengan dasar fisik. Pada metode dinamika molekul untuk memperkirakan energi bebas ikatan, dan konstanta inhibisi (Desheng et al., 2011).

II.6 Prediksi Toksisitas

Toksisitas merupakan ukuran yang menunjukkan efek yang tidak diinginkan atau merugikan dari suatu senyawa. Prediksi toksisitas secara *in silico* merupakan pengujian toksisitas secara komputasi dengan menggunakan aplikasi komputer untuk menganalisis, memvisualisasikan dan memprediksi toksisitas dari suatu senyawa. Tujuan dilakukan prediksi toksisitas secara *in silico* antara lain untuk meminimalisir biaya, waktu dan dapat memprediksi toksisitas sebelum disintesis (Hardjono, 2017).

Prediksi toksisitas dapat dilakukan menggunakan beberapa aplikasi antara lain Toxtree, ADMET Predictor dan Pre - ADMET berbasis web (Pratiwi et al., 2016). Prediksi toksisitas

yang dilakukan meliputi tes ames, tes karsinogenik dan toksisitas terhadap jantung dengan menggunakan Pre - ADMET berbasis web.

BAB III. METODOLOGI PENELITIAN

Tujuan dari penelitian ini adalah guna menemukan calon senyawa dari ekstrak daun teh yang dapat menjadi inhibitor dari enzim M^{Pro}. Studi dilakukan secara *in silico* menggunakan pendekatan penambatan molekul dan dinamika molekul. Dalam melakukan penelitian, peneliti menggunakan bantuan aplikasi *Autodock*.

Peneliti membagi penelitian ini menjadi beberapa tahap. Tahap pertama dalam penelitian ini adalah studi pustaka. Dalam studi pustaka ini dipelajari peranan M^{Pro} pada proses replikasi SARS-CoV-2. Selain itu, dipelajari juga senyawa-senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak daun teh.

Pada persiapan protein target dilakukan dengan cara mengunduh struktur 3D dari struktur protein main protease di www.rcsb.org dengan kode PDB 7CA8. Kemudian dilakukan preparasi protein target dengan cara dilakukan pemisahan antara protein dengan ligan alami.

Kemudian akan dilakukan penyiapan ligan uji, ligan uji sebelumnya di optimasi geometri terlebih dahulu menggunakan aplikasi Gaussian 09, terhadap senyawa-senyawa yang akan di uji, dengan cara pembuatan struktur senyawa 2D dan 3D dari senyawa-senyawa yang terkandung dalam teh sebagaimana disebutkan pada jurnal chen pada tahun 2005. Aplikasi yang digunakan pada pembuatan struktur ini yaitu aplikasi ChemDraw 2D dan 3D.

Kemudian dilakukan validasi metode penambatan molekul sampai mendapatkan metode yang valid dengan kriteria nilai RMSD ≤ 2 Å. Selanjutnya dilakukan studi penambatan molekul antara enzim main protease dengan ligan alami menggunakan parameter yang sudah tervalidasi. kemudian dilakukan analisis hasil antara lain dilihat dari ΔG (energi bebas ikatan), nilai K_i (konstanta inhibisi) serta interaksi ikatan yang tercipta dari ligan dan reseptor.

Senyawa terbaik dari hasil penambatan molekul di lanjutkan ke simulasi dinamika molekul menggunakan perangkat lunak AMBER v.18 untuk melihat kestabilan antara reseptor dengan ligan yang meliputi tahapan minimisasi, pemanasan dengan suhu 310 K dan produksi selama 50 ns yang mensimulasikan pada keadaan yang mendekati fisiologis tubuh manusia, kemudian

dilakukan interpretasi hasil antara lain RMSD, RMSF dan MMGBSA. Kemudian dilakukan uji toksisitas terhadap masing – masing ligan untuk memprediksi sifat toksisitas ligan tersebut.