



Studi *In Silico* Aktivitas Analog Senyawa *Zizyphine* dari Bidara Arab (*Zizyphus spina-christi*) sebagai Antivirus SARS-CoV-2 terhadap Reseptor 3CLpro

Taufik Muhammad Fakih^{a*}, Firda Aulia Jannati^a, Annisa Meilani^a, Dwi Syah Fitra Ramadhan^b,
Fitrianti Darusman^a

^aProgram Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung
Jalan Ranga Gading No. 8, Bandung 40116 Indonesia Telp. (022) 4203368

^bProgram Studi Farmasi STIKES Mandala Waluya
Jalan Jend. AH. Nasution Blok G-37, Kendari 93561 Indonesia Telp. (0401) 3191472

*Corresponding author: taufikmuhammadf@gmail.com

DOI: 10.20961/alchemy.18.1.52188.70-79

Received 19 June 2021, Accepted 22 December 2021, Published 01 March 2022

Kata kunci:

3CLpro SARS-CoV-2;
analog *Zizyphine*;
COVID-19;
studi *in silico*;
Zizyphus spina-christi.

ABSTRAK. COVID-19 merupakan penyakit yang penularannya *human to human* yang pertama kali ditemukan di China (Kota Wuhan). Tanaman bidara arab mengandung banyak metabolit sekunder yang bermanfaat, hasil fraksinasi dari buah bidara memiliki aktivitas sebagai antivirus yang signifikan terhadap virus herpes simpleks tipe 1. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui afinitas dan interaksi antara senyawa uji *Zizyphine* dengan reseptor 3CLpro secara *in silico*. Pada penelitian ini dilakukan identifikasi aktivitas biologis menggunakan PASS *prediction* dan sifat fisikokimia pada senyawa uji *Zizyphine* menggunakan *webservice* Swiss-ADME. Senyawa uji *Zizyphine* dioptimasi secara geometris menggunakan *software* Quantum ESPRESSO versi 6.6. Konformasi senyawa uji *Zizyphine* terbaik dilanjutkan ke tahap simulasi *docking* terhadap reseptor 3CLpro yang telah dipisahkan dengan ligan alaminya dan telah divalidasi menggunakan *software* MGL Tools versi 1.5.6 yang telah dilengkapi dengan Autodock Tools versi 4.2. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa senyawa uji *Zizyphine* C memiliki afinitas yang lebih baik dibandingkan senyawa *Zizyphine* A, *Zizyphine* F, dan *Zizyphine* I dengan nilai energi bebas ikatan sebesar -9,32 kcal/mol dan konstanta inhibisi 146,89 nM, sehingga senyawa *Zizyphine* C berpotensi sebagai agen terapi COVID-19 yang bekerja terhadap reseptor 3CLpro. Selanjutnya dari hasil analisis aktivitas biologis, keseluruhan senyawa analog *Zizyphine* menunjukkan potensi sebagai antivirus. Akan tetapi dari prediksi ADME, senyawa-senyawa tersebut tidak menunjukkan profil yang baik sebagai obat oral.

Keywords:

3CLpro SARS-CoV-2;
Zizyphine analog;
COVID-19;
in silico study;
Zizyphus spina-christi.

ABSTRACT. *In Silico* Study of *Zizyphine* Analog Compound Activity of Christ's Thorn Jujube (*Zizyphus spina-christi*) as SARS-CoV-2 Antivirus against 3CLpro Receptors. COVID-19 is a disease with human-to-human transmission that was first discovered in China (Wuhan City). The arabian bidara plant (Christ's Thorn Jujube) contains many useful secondary metabolites, fractionated from bidara fruit has significant antivirus activity against herpes simplex virus type 1. The purpose of this study was to determine the affinity and interaction between the *Zizyphine* test compound and the 3CLpro receptor through *in silico*. In this study, the identification of biological activity using PASS prediction and physicochemical properties of *Zizyphine* test compounds using the Swiss-ADME *webservice*. The *Zizyphine* test compound was optimized for geometry using Quantum ESPRESSO version 6.6 software. The conformation of the best *Zizyphine* test compound was continued to the docking simulation stage for the 3CLpro receptor which has been separated from its natural ligand and has been validated using MGL Tools version 1.5.6 with Autodock Tools version 4.2 software. Based on the results, it can be concluded that the test compound *Zizyphine* C has a better affinity than *Zizyphine* A, *Zizyphine* F, and *Zizyphine* I with a binding free energy value of -9.32 kcal/mol and inhibition constant of 146.89 nM. Therefore, the compound *Zizyphine* C has potential as a COVID-19 therapeutic agent that acts against the 3CLpro receptor. Furthermore, from the results of the analysis of biological activity, all *Zizyphine* analog compounds showed potential as antiviruses. However according to ADME predictions, these compounds did not show a good profile as oral drugs.

PENDAHULUAN

Corona Virus Disease 2019 (COVID-19) merupakan penyakit yang penularannya langsung antar manusia (*human to human*). Virus COVID-19 untuk pertama kalinya ditemukan di Kota Wuhan, Provinsi Hubei, China pada bulan Desember 2019 (Lotfi *et al.*, 2020; Singhal, 2020). Total kasus COVID-19 yang terkonfirmasi secara global per tanggal 16 Mei 2021 yaitu sebanyak 162.177.367 kasus dengan 3.364.178 kasus kematian (CFR 2,1%) di 222 negara terjangkit dan 193 negara transmisi lokal. Di Indonesia sendiri total kasus COVID-19 yang

terkonfirmasi yaitu sebanyak 1.736.670 kasus dengan 47.967 kasus kematian (CFR 2,8%) (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2020). COVID-19 ini berawal dari genus betacoronavirus yang memiliki kesamaan genus dengan agen *Severe Acute Respiratory Syndrome* (SARS) dan *Middle East Respiratory Syndrom* (MERS). Virus ini masuk dan melewati membran mukosa nasal dan laring yang selanjutnya masuk ke dalam paru-paru melewati traktus respiratori menuju organ target (Ganesh *et al.*, 2021; Hu *et al.*, 2020).

SARS-CoV-2 mengkodekan dua protease yang penting untuk siklus proliferasi virus yaitu *papain-like protease* (PLpro, dikodekan dalam Nsp3), dan *chymotrypsin-like main protease* (3CLpro atau Mpro, dikodekan dalam Nsp5) (Osipiuk *et al.*, 2021). PLpro dan 3CLpro secara bersama-sama bertanggung jawab untuk memproses poliprotein virus (pp1a dan pp1b) yang menghasilkan protein virus yang matang (Mohammad *et al.*, 2020; Tahir ul Qamar *et al.*, 2020). 3CLpro (3-C like protease) yang aktif pada reaksi katalitik adalah dimer. Pembelahan oleh 3CLpro terjadi pada residu glutamin dalam posisi substrat P1 melalui dyad CYS-HIS protease, dimana sistein-tiol berfungsi sebagai nukleofil dalam proses proteolitik (Gyebi *et al.*, 2021).

Pada saat dimerisasi substrat antara dua monomer yang menyediakan celah pengikatan, dimer dyad CYS-HIS yang terpapar pelarut secara simetris terletak di sisi berlawanan dari celah dan bertindak secara mandiri (Hartini *et al.*, 2021). Karena tidak ada protease sel inang yang saat ini dikenal dengan spesifisitas yang baik maka penemuan awal obat diarahkan pada inhibitor melalui serangan elektrofilik ke sisteinat dari dyad 3CLpro. Sebaliknya disisi lain konsensus dalam penemuan obat mengarah pada pengecualian elektrofil dari kandidat obat untuk alasan utama yang berkaitan dengan keamanan dan efek samping seperti alergi, kerusakan jaringan, atau karsinogenitas (Macchiagodena *et al.*, 2020).

Bidara arab (*Ziziphus spina-christi*) merupakan salah satu tanaman yang memiliki banyak kandungan metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, fenol, kuersetin, rutin, dan terpenoid (Darusman and Fakih, 2021; Saied *et al.*, 2008). Ekstrak dari tanaman bidara arab ini juga mengandung asam beutat, asam *ceanothic*, siklopeptida, saponin glikosida, flavonoid, lipid, protein, gula bebas, dan musilago (Abalaka *et al.*, 2010). Hasil fraksinasi yang diperoleh dari buah bidara menunjukkan aktivitas sebagai antivirus yang signifikan terhadap virus herpes simpleks tipe 1 (HSV-1). Beberapa antivirus yang sebelumnya digunakan untuk terapi terhadap HSV-1, akhir-akhir ini juga digunakan dalam penanganan COVID-19 (Al-Saeedi *et al.*, 2017; Daneshmand *et al.*, 2013). Dengan demikian, dapat diprediksi bahwa metabolit sekunder yang terkandung di dalam tanaman bidara arab memiliki aktivitas dalam mencegah infeksi COVID-19.

Berdasarkan beberapa latar belakang tersebut, maka pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas antivirus senyawa analog *Zizyphine* terhadap reseptor 3CLpro secara *in silico* menggunakan metode *molecular docking* (Ramadhan *et al.*, 2020). Dari hasil penelitian ini diharapkan diperoleh data afinitas senyawa analog *Zizyphine* yang terkandung di dalam tanaman bidara arab, yaitu *Zizyphine A*, *Zizyphine C*, *Zizyphine F*, dan *Zizyphine I* terhadap reseptor SARS-2 yaitu 3CLpro. Dengan demikian, dapat memberikan informasi ilmiah mengenai kemungkinan mekanisme aksi antivirus dari senyawa analog *Zizyphine* sebagai kandidat terapi COVID-19.

METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah struktur kristal makromolekul reseptor 3CLpro SARS-CoV-2 dengan kode PDB 6M2N (Su *et al.*, 2020). Makromolekul reseptor tersebut diperoleh dari website Protein Data Bank (<http://www.rcsb.org/pdb/>) dan memiliki resolusi sebesar 2,20 Å. Senyawa yang digunakan dalam penelitian ini adalah senyawa analog *Zizyphine* yang berasal dari tanaman bidara arab (*Ziziphus spina-christi*) yang diperoleh dari website PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Perangkat lunak yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya meliputi Sistem Operasi Windows 10 dan Linux Ubuntu 18.10, MGLTools versi 1.5.6 yang dilengkapi dengan AutoDock Tools versi 4.2, Toxtree versi 3.1.0, Quantum ESPRESSO versi 6.6, serta BIOVIA Discovery Studio versi 2020. Selain itu, *hardware* yang digunakan adalah komputer dengan spesifikasi *processor* Intel (R) Core i3-6100 CPU @2.30 GHz (4 CPUs), *memory* 4096 MB RAM, Harddisk 320 GB, dan VGA Intel HD Graphics 520.

Prediksi Aktivitas Biologis Senyawa *Zizyphine*

Server Prediction of Activity Spectra for Substances (PASS) digunakan untuk memprediksi aktivitas biologis dari senyawa analog *Zizyphine* dan dapat diakses melalui website <http://www.way2drug.com/PASSOnline/predict.php>. Prediksi PASS menunjukkan spektrum aktivitas diprediksi berdasarkan *probable activity* (Pa) dan *probable inactivity* (Pi). Dalam penelitian ini aktivitas biologis yang dianalisis adalah potensi senyawa analog *Zizyphine* sebagai antivirus. Probabilitas Pa and Pi bervariasi yang

diinterpretasikan dalam rentang yang bervariasi pula, diantaranya: (i) nilai $P_a > P_i$ dianggap memiliki kemungkinan aktif; (ii) jika $P_a > 0,7$ peluang aktif secara eksperimen tinggi; (iii) jika $P_a > 0,5$ tapi lebih kecil dari 0,7 peluang aktif secara eksperimental ada, akan tetapi senyawanya mungkin berbeda dengan agen farmasi yang dikenal; (iv) jika $P_a < 0,5$ peluang untuk menemukan aktivitas secara eksperimental rendah, namun peluang untuk menemukan entitas kimia baru tinggi (Abdelli *et al.*, 2021; Shah *et al.*, 2021).

Identifikasi Profil ADME Senyawa *Zizyphine*

Profil Adsorpsi, Distribusi, Metabolisme dan Ekskresi atau yang dikenal dengan ADME dilakukan terhadap senyawa analog *Zizyphine* untuk mengamati apakah senyawa-senyawa tersebut memiliki bioavailabilitas yang baik apabila diadministrasikan sebagai obat oral. Jika tidak, maka administrasi lewat jalur yang lain atau modifikasi penghantaran direkomendasikan terhadap senyawa tersebut. Dalam memprediksikan profil ADME digunakan server SWISS-ADME (<https://www.swissadme.ch>) yang memungkinkan pengguna untuk menggambar atau memasukkan data senyawa dan menyediakan parameter seperti lipofilisitas, kelarutan dalam air, serta aturan kemiripan obat oral secara fisikokimia (Mahanthesh *et al.*, 2020; Fitriyani *et al.*, 2020).

Optimasi Geometri Senyawa *Zizyphine*

Dilakukan optimasi geometri terhadap senyawa analog *Zizyphine* menggunakan *software* Quantum ESPRESSO versi 6.6. Optimasi geometri ini bertujuan untuk memperoleh konformasi struktur yang stabil dan sesuai dengan keadaan aslinya menggunakan metode *Density Functional Theory* (DFT) dengan potensial fungsional teori B3LYP pada basis set 3-21G. Senyawa analog *Zizyphine* yang telah dilakukan optimasi geometri kemudian dimodifikasi data muatan parsial untuk digunakan sebagai input dalam simulasi *docking* (Dzubak *et al.*, 2017; Giannozzi *et al.*, 2020).

Validasi Metode *Docking* Reseptor 3CLpro

Dilakukan pengunduhan reseptor 3CLpro dari website *Protein Data Bank* (PDB) (www.rcsb.org) dengan kode PDB 6M2N sebelum dilakukan validasi metode *docking*, kemudian reseptor tersebut dipreparasi dengan menambahkan atom hidrogen dan muatan parsial. Validasi metode *docking* dilakukan menggunakan *software* MGL Tools versi 1.5.6 yang dilengkapi dengan AutoDock versi 4.2. Tahapan validasi ini dilakukan antara reseptor 3CLpro dengan ligan alaminya (*re-docking*). Parameter keberhasilan validasi metode *docking* yang diamati adalah nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD). Suatu metode *docking* dinyatakan valid dan dapat digunakan untuk simulasi *docking* senyawa analog *Zizyphine* apabila nilai RMSD-nya $< 2 \text{ \AA}$ (Acúrcio *et al.*, 2019; Makeneni *et al.*, 2018).

Simulasi *Docking* Senyawa *Zizyphine*

Simulasi *docking* dilakukan antara senyawa analog *Zizyphine* dengan reseptor 3CLpro menggunakan *software* MGL Tools versi 1.5.6 yang dilengkapi dengan AutoDock versi 4.2. Simulasi *docking* ini dilakukan untuk memprediksikan pengikatan dari molekul kecil untuk mencari konformasi yang sesuai dan membandingkan senyawa yang memiliki energi bebas ikatan (ΔG) dan konstanta inhibisi (K_i) yang terbaik dengan nilai paling negatif. Hasil *docking* ini kemudian dianalisis menggunakan *software* BIOVIA Discovery Studio 2020. Analisis terhadap interaksi molekular yang terbentuk juga diamati untuk mengidentifikasi konformasi senyawa analog *Zizyphine* pada sisi *binding site* yang meliputi ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, dan interaksi elektrostatik (Ronning *et al.*, 2010; Johnson *et al.*, 2016).

Prediksi Toksisitas Senyawa *Zizyphine*

Tahapan terakhir senyawa analog *Zizyphine* dilakukan uji toksisitas menggunakan *software* Toxtree versi 3.1.0 yang dapat diakses pada toxtree.sourceforge.net dengan parameter Cramer Rules untuk melihat tingkatan toksisitas yang diamati berdasarkan gugus fungsi penyusunnya, Kroes TTC *decision tree* untuk memperkirakan ambang batas paparan senyawa analog *Zizyphine* apabila digunakan sebagai obat pada manusia, serta *Carcinogenicity* and *Mutagenicity* untuk mengetahui senyawa tersebut bersifat karsinogenik dan mutagenik atau tidak (Alves *et al.*, 2016; Mora *et al.*, 2020).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Setiap senyawa analog *Zizyphine* diprediksi menggunakan *Server Prediction of Activity Spectra for Substances* (PASS) *prediction* server untuk mengamati aktivitas biologisnya. Prediksi dengan server tersebut dilakukan untuk mengidentifikasi aktivitas biologis yang relevan dengan yang sedang diteliti beserta dengan spektrum probabilitasnya. **Tabel 1** menunjukkan hasil analisis aktivitas biologis yang telah dilakukan terhadap *Zizyphine A*, *Zizyphine C*, *Zizyphine F*, dan *Zizyphine I*. Jenis aktivitas biologis yang ditemukan yang relevan dengan analisis molekular dari senyawa-senyawa tersebut adalah aktivitas antivirus. Seluruh senyawa pada penelitian ini menunjukkan probabilitas aktif sebagai antivirus yang ditunjukkan oleh nilai probabilitas aktif (P_a) yang lebih besar dibandingkan dengan nilai probabilitas inaktif (P_i). Senyawa analog *Zizyphine* yang dianalisis menunjukkan nilai P_a pada kisaran diantara 0,241 sampai 0,300. Nilai P_a tertinggi ditunjukkan oleh senyawa *Zizyphine F*, kemudian diikuti oleh *Zizyphine A*, *Zizyphine C*, dan *Zizyphine I*.

Tabel 1. Analisis aktivitas biologis senyawa analog *Zizyphine* menggunakan server PASS *prediction*.

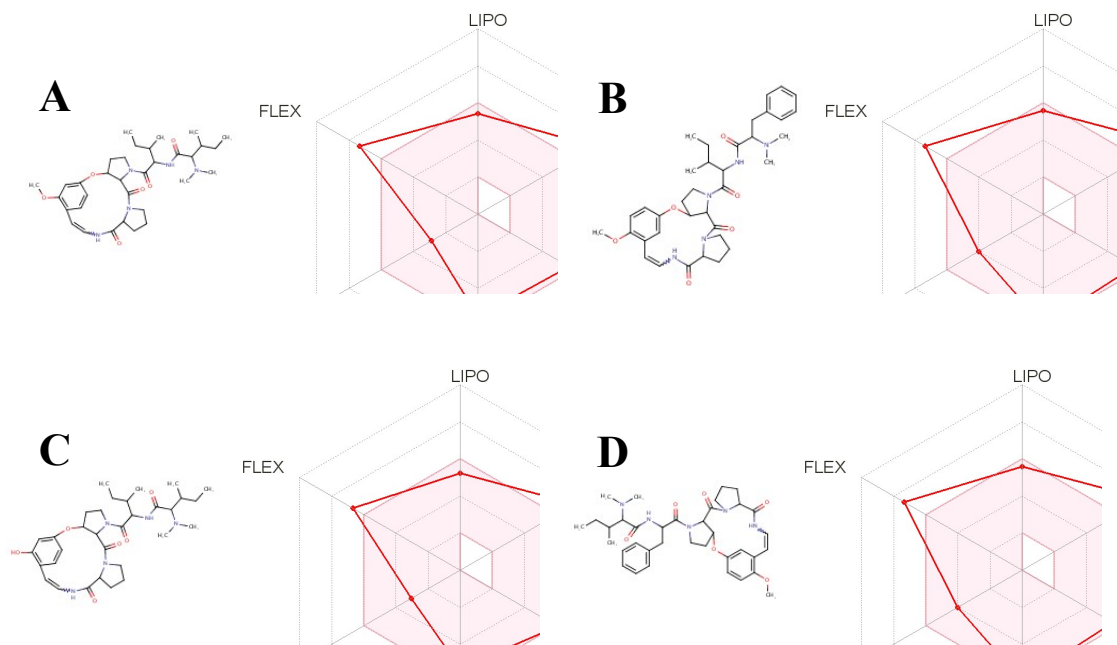
Senyawa Analog <i>Zizyphine</i>	Aktivitas Biologis	Probabilitas Aktif (P_a)	Probabilitas Inaktif (P_i)
<i>Zizyphine-A</i>	Antivirus	0,262	0,064
<i>Zizyphine-C</i>	Antivirus	0,241	0,066
<i>Zizyphine-F</i>	Antivirus	0,300	0,037
<i>Zizyphine-I</i>	Antivirus	0,236	0,069

Profil ADME senyawa analog *Zizyphine* diprediksi untuk menentukan mode penghantaran setiap senyawa apabila kedepannya akan diformulasikan sebagai obat. **Tabel 2** menampilkan profil atau kriteria *Drug-likeness* Lipinski, absorpsi gastro-intestinal (GI), dan kelarutan. Ketiga kriteria tersebut merupakan kriteria yang menggambarkan bioavailabilitas obat apabila diadministrasikan sebagai obat oral. Terlihat bahwa keempat senyawa analog *Zizyphine* memenuhi kriteria dalam absorpsi GI yang menjadikannya mudah diserap di dalam usus. Akan tetapi, berdasarkan analisis kelarutan dan kriteria *Drug-likeness* Lipinski, senyawa-senyawa tersebut tidak menunjukkan hasil yang baik sebagai obat oral. Pada kriteria kelarutan, keempat senyawa menunjukkan sifat kelarutan cukup larut dan kurang larut. Sementara dari kriteria Lipinski *rule of five*, keempat senyawa secara keseluruhan tidak memenuhi kriteria sebagai obat oral yang ditandai dengan dua kriteria Lipinski yang tidak terpenuhi. Hal ini menunjukkan bioavailabilitas obat di dalam tubuh buruk (Iheagwam and Rotimi, 2020).

Tabel 2. Prediksi ADME senyawa analog *Zizyphine* menggunakan server SWISS-ADME.

Senyawa Analog <i>Zizyphine</i>	Kriteria <i>Drug-likeness</i> Lipinski	Absorpsi GI	Kelarutan
<i>Zizyphine-A</i>	Tidak memenuhi 2 aturan	Tinggi	Cukup larut
<i>Zizyphine-C</i>	Tidak memenuhi 2 aturan	Tinggi	Kurang larut
<i>Zizyphine-F</i>	Tidak memenuhi 2 aturan	Tinggi	Cukup larut
<i>Zizyphine-I</i>	Tidak memenuhi 2 aturan	Tinggi	Cukup larut

Fenomena ini juga kemudian diperkuat dengan **Gambar 1**, yaitu radar yang menunjukkan enam prediksi parameter ADME yang berkaitan erat dengan bioavailabilitas oral suatu senyawa, antara lain LIPO (lipofilitas), SIZE (ukuran), POLAR (polaritas), INSOLU (insolubilitas), INSATU (instaurasi), dan FLEX (fleksibilitas). Zona berwarna merupakan area fisikokimia yang sesuai untuk bioavailabilitas oral. Berdasarkan analisis radar seluruh senyawa menunjukkan kriteria yang tidak memenuhi di bagian SIZE atau ukuran molekul dan FLEX atau fleksibilitas struktur kimia molekul. Hal tersebut disebabkan oleh ukuran senyawa terlalu besar yaitu lebih dari 500 Da dan memiliki struktur yang terlalu fleksibel karena jumlah ikatan yang dapat berotasinya lebih dari sembilan ikatan. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa senyawa analog *Zizyphine* tidak cocok untuk diadministrasikan lewat jalur oral dan memerlukan proses formulasi yang lain.



Gambar 1. Radar analisis ADME senyawa (A) *Zizyphine A*, (B) *Zizyphine C*, (C) *Zizyphine F*, dan (D) *Zizyphine I*.

Optimasi geometri dilakukan terhadap senyawa analog *Zizyphine* yang bertujuan untuk memperoleh konformasi struktur yang paling baik dan paling stabil sehingga akan mempermudah proses pada tahap selanjutnya, parameter optimasi geometri yang diamati yaitu nilai energi total dengan menggunakan *software* Quantum ESPRESSO versi 6.6. Pada proses optimasi geometri ini digunakan metode *Density Functional Theory* (DFT) dengan potensial fungsional teori B3LYP pada basis set 3-21G. Berdasarkan data pada [Tabel 3](#), hasil dari optimasi geometri menunjukkan bahwa secara keseluruhan senyawa *Zizyphine-A*, *Zizyphine-C*, *Zizyphine-F*, dan *Zizyphine-I* telah mencapai keadaan konvergensi karena memiliki nilai energi total negatif. Suatu senyawa dianggap stabil apabila memiliki nilai energi total yang rendah sehingga dianggap memiliki konformasi akhir yang baik ([Kotrechko et al., 2017](#)). Dengan demikian, diharapkan senyawa analog *Zizyphine* akan lebih mudah untuk membentuk interaksi molekular dengan reseptor target.

Tabel 3. Perhitungan energi total senyawa analog *Zizyphine* menggunakan *software* Quantum ESPRESSO versi 6.6.

Senyawa Analog <i>Zizyphine</i>	Energi Total
<i>Zizyphine-A</i>	-0,27618379 a.u.
<i>Zizyphine-C</i>	-0,20687547 a.u.
<i>Zizyphine-F</i>	-0,28973197 a.u.
<i>Zizyphine-I</i>	-0,21080464 a.u.

Validasi metode *docking* dilakukan dengan mengamati parameter *Rate Mean Square Deviation* (RMSD) menggunakan *software* MGL Tools versi 1.5.6 yang dilengkapi dengan Autodock Tools versi 4.2. Validasi metode *docking* ini bertujuan agar memperoleh metode yang cocok untuk tahap selanjutnya yaitu simulasi *docking* senyawa analog *Zizyphine*. Nilai RMSD yang dapat dikatakan memenuhi syarat yaitu kurang dari 2 Å karena mampu memperlihatkan metode *docking* yang digunakan menghasilkan simpangan yang tidak terlalu besar ([Kufareva and Abagyan, 2012](#)). Parameter validasi metode *docking* ini dipilih dengan jumlah pencarian konformasi sebanyak 100, ukuran *gridbox* yang digunakan pada proses validasi metode *docking* harus dapat menutupi seluruh bagian senyawa uji agar didapatkan hasil yang baik. Berdasarkan [Tabel 4](#), hasil validasi metode *docking* diperoleh nilai RMSD 0,67 Å. Dengan demikian, metode validasi *docking* ini dapat digunakan untuk melakukan simulasi *docking* terhadap senyawa analog *Zizyphine*. Karena semakin kecil nilai RMSD menunjukkan posisi ligan hasil *docking* semakin mendekati posisi ligan aslinya.

Tabel 4. Parameter validasi *docking* menggunakan *software* MGL Tools versi 1.5.6 yang dilengkapi dengan Autodock Tools versi 4.2.

Parameter Validasi	Hasil Validasi
Ukuran Grid Box	X: 64; Y: 60; Z: 60
Spacing	0,375 Å
Grid Center	X: -32,981 ; Y: -65,436 ; Z: 41,404
RMSD	0,67 Å
Energi Bebas Ikatan	-7,95 kcal/mol

Simulasi *docking* antara reseptor 3CLpro dengan senyawa analog *Zizyphine* dengan ukuran *gridbox* dan koordinat seperti pada validasi metode *docking* dilakukan setelah diperoleh parameter validasi *docking*. Hasil dari simulasi *docking* didapatkan nilai energi bebas ikatan dan konstanta inhibisi, nilai tersebut merupakan parameter kestabilan konformasi senyawa analog *Zizyphine* pada sisi afinitas dengan reseptor 3CLpro akan semakin stabil. Sama halnya dengan nilai energi bebas ikatan, *Zizyphine binding site* reseptor 3CLpro. Interaksi antara ligan dan reseptor yang stabil cenderung memiliki nilai energi yang rendah. **Tabel 5** menunjukkan bahwa afinitas yang paling baik adalah *Zizyphine C* karena memiliki nilai energi bebas ikatan yang paling kecil dibandingkan ketiga senyawa uji lain yaitu -9,32 kcal/mol, dimana semakin kecil nilai tersebut maka *C* memiliki nilai konstanta inhibisi yang terkecil, dimana semakin kecil nilai konstanta inhibisi, maka semakin baik efektif aktivitas penghambatannya. Akan tetapi, apabila dibandingkan dengan ligan alami dari reseptor 3CLpro, keseluruhan senyawa analog *Zizyphine* memiliki afinitas yang lebih baik.

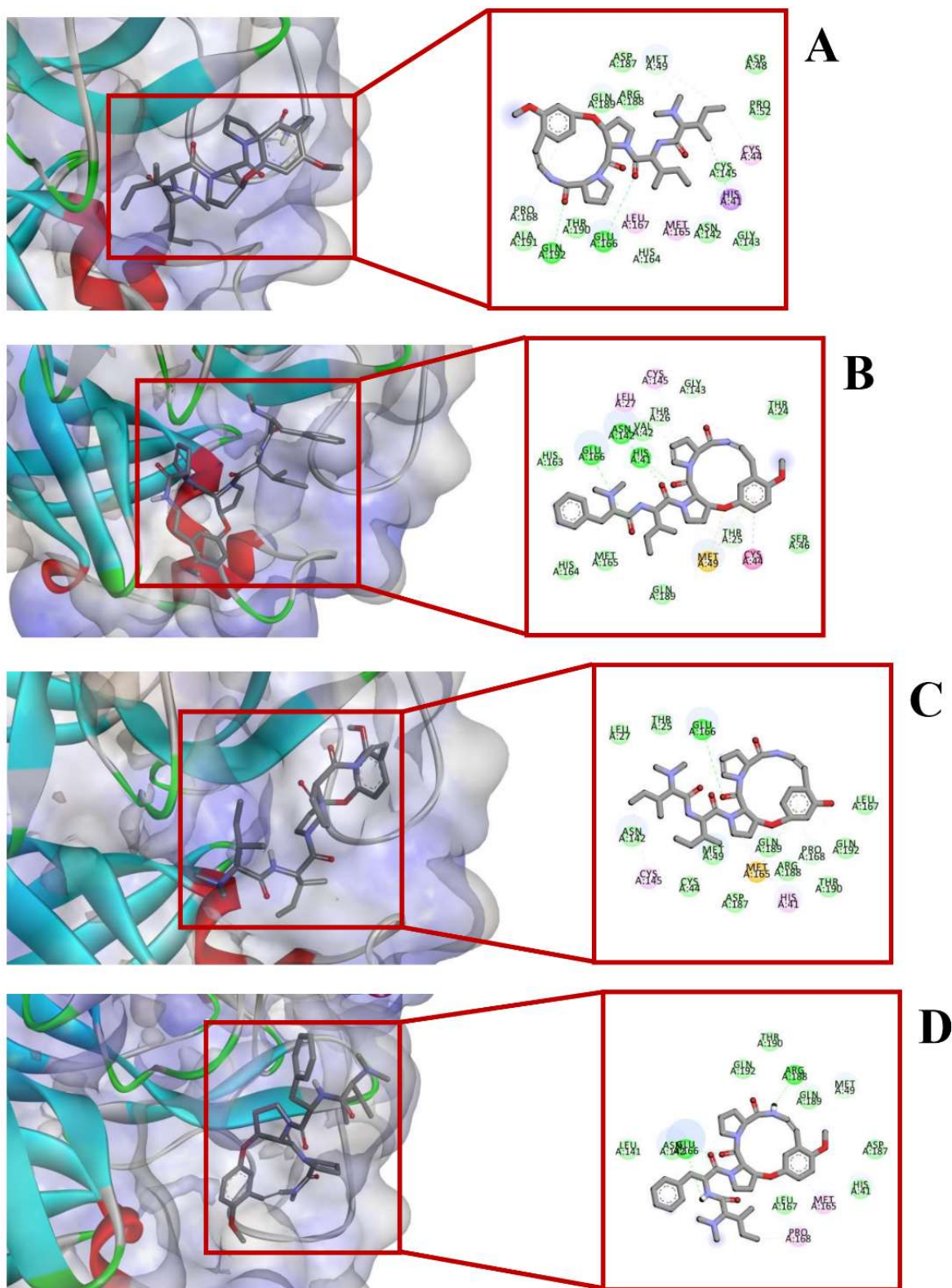
Tabel 5. Perhitungan afinitas senyawa analog *Zizyphine* menggunakan *software* MGL Tools versi 1.5.6 yang dilengkapi dengan Autodock Tools versi 4.2.

Senyawa Analog <i>Zizyphine</i>	Energi Bebas Ikatan	Konstanta Inhibisi
<i>Zizyphine-A</i>	-8,98 kcal/mol	260,41 nM
<i>Zizyphine-C</i>	-9,32 kcal/mol	146,89 nM
<i>Zizyphine-F</i>	-8,27 kcal/mol	868,22 nM
<i>Zizyphine-I</i>	-8,22 kcal/mol	945,69 nM

Konformasi yang telah terbentuk dari hasil simulasi *docking*, kemudian dianalisis menggunakan *software* BIOVIA Discovery Studio 2020. Interaksi senyawa uji *Zizyphine* terhadap reseptor 3CLpro diidentifikasi dengan tujuan untuk mengetahui lebih jauh mengenai karakteristik dari area pengikatan senyawa analog *Zizyphine*. Berdasarkan **Gambar 2**, hampir semua senyawa analog *Zizyphine* memiliki kemiripan konformasi pada sisi *binding site* reseptor 3CLpro. Akan tetapi, interaksi paling banyak dimiliki oleh *Zizyphine A* karena mampu membentuk 13 interaksi yang meliputi 6 ikatan hidrogen (terhadap Glu166, Gln192, Pro168, Glu166, His164, dan Met49) dan 7 interaksi hidrofobik (terhadap His41, Pro168, Met165, Leu167, Met49, Cys44, dan Met49). Kemudian, *Zizyphine C* mampu membentuk 13 interaksi juga dengan reseptor 3CLpro yang terdiri dari 7 ikatan hidrogen (terhadap His41, Asn142, Glu166, Gly143, Thr26, Glu166, dan Thr25), 2 interaksi elektrostatik (terhadap Met49 dan Met49), dan 4 interaksi hidrofobik (terhadap Cys145, Met49, Leu27, dan His41).

Sementara itu, *Zizyphine F* hanya mampu menghasilkan 6 interaksi (2 ikatan hidrogen dan 4 interaksi hidrofobik) dan *Zizyphine I* hanya mampu menghasilkan 9 interaksi (7 ikatan hidrogen dan 2 interaksi hidrofobik) dengan reseptor 3CLpro. Secara keseluruhan, interaksi molekular didominasi oleh adanya ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik. Namun, *Zizyphine C* mampu membentuk interaksi elektrostatik dengan residu asam amino metionin 49 (Met49) pada sisi *binding site* reseptor 3CLpro. Dengan demikian, dapat diprediksikan bahwa interaksi elektrostatik berperan penting dalam meningkatkan afinitas antara ligan dan reseptor (De Jesus *et al.*, 2014).

Tahapan terakhir dilakukan prediksi toksisitas senyawa analog *Zizyphine* dengan tiga parameter, yaitu Cramer rules, Kroes TTC, dan *Carcinogenicity and Mutagenicity* dengan menggunakan *software* Toxtree versi 3.1.0. **Tabel 6** menunjukkan hasil dari prediksi toksisitas keempat senyawa analog *Zizyphine* dan berdasarkan parameter Cramer rules didapatkan hasil senyawa uji termasuk kedalam kelas III atau memiliki potensi toksisitas yang tinggi. Kemudian parameter Kroes TTC menyatakan bahwa senyawa analog *Zizyphine* masih berada dalam ambang batas paparan dengan resiko paparan yang masih rendah. Sementara dari parameter *Carcinogenicity and Mutagenicity* didapatkan hasil negatif dan tidak menyebabkan karsinogenisitas atau mutagenisitas.



Gambar 2. Interaksi molekular senyawa (A) Zizyphine A, (B) Zizyphine C, (C) Zizyphine F, dan (D) Zizyphine I terhadap reseptor 3CLpro.

Tabel 6. Prediksi toksisitas senyawa analog *Zizyphine* menggunakan *software* Toxtree versi 3.1.0.

Senyawa Analog <i>Zizyphine</i>	Cramer Rules	Kroes TTC	Carcinogenicity and Mutagenicity
<i>Zizyphine-A</i>	High (Class III)	Substance would not be expected to be a safety concern	Negative for genotoxic
<i>Zizyphine-C</i>	High (Class III)	Substance would not be expected to be a safety concern	Negative for genotoxic
<i>Zizyphine-F</i>	High (Class III)	Substance would not be expected to be a safety concern	Negative for genotoxic
<i>Zizyphine-I</i>	High (Class III)	Substance would not be expected to be a safety concern	Negative for genotoxic

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa senyawa *Zizyphine C* memiliki afinitas yang lebih baik dibandingkan dengan senyawa *Zizyphine A*, *Zizyphine F*, dan *Zizyphine I* dengan nilai energi bebas ikatan -9,32 kcal/mol dan konstanta inhibisi 146,89 nm, sehingga senyawa tersebut diprediksi berpotensi sebagai kandidat terapi COVID-19 yang bekerja terhadap reseptor 3CLpro. Keempat senyawa analog *Zizyphine* yang diteliti memiliki potensi sebagai antivirus secara prediksi menggunakan *PASS prediction*. Akan tetapi, keempat senyawa tersebut tidak cocok untuk didistribusikan secara oral karena menunjukkan hasil prediksi bioavailabilitas yang buruk.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, atas dukungan finansial yang diberikan melalui skema hibah Penelitian Mandiri tahun 2020, No. 03/PEN-PKM/I/2021.

DAFTAR PUSTAKA

- Abalaka, M. E., Daniyan, S. Y., and Mann, A., 2010. Evaluation of the Antimicrobial Activities of Two *Ziziphus* species (*Ziziphus mauritiana* L. and *Ziziphus spinachristi* L.) on some Microbial Pathogens. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 4(4), 135–139.
- Abdelli, I., Hassani, F., Bekkel Brikci, S., and Ghalem, S., 2021. In Silico Study the Inhibition of Angiotensin Converting Enzyme 2 Receptor of COVID-19 by *Ammoides verticillata* Components Harvested from Western Algeria. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 39(9), 1–14. doi: 10.1080/07391102.2020.1763199.
- Acúrcio, R. C., Leonardo-Sousa, C., García-Sosa, A. T., Salvador, J. A., Florindo, H. F., and Guedes, R. C., 2019. Structural Insights and Binding Analysis for Determining the Molecular Bases for Programmed Cell Death Protein Ligand-1 Inhibition. *Medicinal Chemistry Communications*, 10(10), 1810–1818. doi: 10.1039/c9md00326f.
- Al-Saeedi, A. H., Al-Ghafri, M. T. H., and Hossain, M. A., 2017. Brine Shrimp Toxicity of Various Polarities Leaves and Fruits Crude Fractions of *Ziziphus Jujuba* Native to Oman And Their Antimicrobial Potency. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 5, 122–126. doi: 10.1016/j.scp.2017.03.003.
- Alves, V. M., Muratov, E. N., Capuzzi, S. J., Politi, R., Low, Y., Braga, R. C., Zakharov, A. V., Sedykh, A., Mokshyna, E., Farag, S., Andrade, C. H., Kuz'Min, V. E., Fourches, D., and Tropsha, A., 2016. Alarms about Structural Alerts. In *Green Chemistry*, 18(16), 4348–4360. doi: 10.1039/c6gc01492e.
- Daneshmand, F., Zare-Zardini, H., Tolueinia, B., Hasani, Z., and Ghanbari, T., 2013. Crude Extract from *Ziziphus Jujuba* Fruits, a Weapon against Pediatric Infectious Disease. *Iranian Journal of Pediatric Hematology and Oncology*, 3(1), 216–221.
- Darusman, F. and Fakih, T. M., 2021. Comprehensive In Silico Analysis of Christinin Molecular Behaviour from *Ziziphus spina-christi* Leaves on *Propionibacterium acnes*. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 8(1), 55–64. doi: 10.7454/psr.v8i1.1112.
- De Jesus, M. C., Ingle, B. L., Barakat, K. A., Shrestha, B., Slavens, K. D., Cundari, T. R., and Anderson, M. E., 2014. The Role of Strong Electrostatic Interactions at the Dimer Interface of Human Glutathione Synthetase. *Protein Journal*, 33(5), 403–409. doi: 10.1007/s10930-014-9573-y.
- Dzubak, A. L., Mitra, C., Chance, M., Kuhn, S., Jellison, G. E., Sefat, A. S., Krogel, J. T., and Reboredo, F. A., 2017. MnNiO₃ Revisited with Modern Theoretical and Experimental Methods. *Journal of Chemical Physics*,

- 147(17), 174703. doi: 10.1063/1.5000847.
- Fitriyani F, F., Fakih, T. M., and Tjahjono, D. H., 2020. In Silico Studies of Green Tea Catechins Against HER-2 Receptor in Breast Cancer. *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy*, 14(5), 194–199. doi: 10.5530/ctbp.2020.4s.23.
- Ganesh, B., Rajakumar, T., Malathi, M., Manikandan, N., Nagaraj, J., Santhakumar, A., Elangovan, A., and Malik, Y. S., 2021. Epidemiology and Pathobiology of SARS-CoV-2 (COVID-19) in Comparison with SARS, MERS: An Updated Overview of Current Knowledge and Future Perspectives. *In Clinical Epidemiology and Global Health*, 10, 100694. doi: 10.1016/j.cegh.2020.100694.
- Giannozzi, P., Barone, G., Bonfà, P., Brunato, D., Car, R., Carnimeo, I., Cavazzoni, C., De Gironcoli, S., Delugas, P., Ferrarini, F., Ferruti, A., Marzari, N., Timrov, I., Urru, A., and Baroni, S., 2020. Quantum ESPRESSO toward the Exascale. *Journal of Chemical Physics*, 152(15), 154105. doi: 10.1063/5.0005082.
- Gyebi, G. A., Ogunro, O. B., Adegunloye, A. P., Ogunyemi, O. M., and Afolabi, S. O., 2021. Potential Inhibitors of Coronavirus 3-Chymotrypsin-Like Protease (3CLpro): an In Silico Screening of Alkaloids and Terpenoids from African Medicinal Plants. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 39(9), 1–13. doi: 10.1080/07391102.2020.1764868.
- Hartini, Y., Saputra, B., Wahono, B., Auw, Z., Indayani, F., Adelya, L., Namba, G., and Hariono, M., 2021. Biflavonoid as Potential 3-Chymotrypsin-Like Protease (3CLpro) Inhibitor of SARS-Coronavirus. *Results in Chemistry*, 3, 100087. doi: 10.1016/j.rechem.2020.100087
- Hu, T., Liu, Y., Zhao, M., Zhuang, Q., Xu, L., and He, Q., 2020. A Comparison of COVID-19, SARS and MERS. *PeerJ*, 8, e9725. doi: 10.7717/peerj.9725.
- Iheagwam, F. N., and Rotimi, S. O., 2020. Computer-Aided Analysis of Multiple SARS-CoV-2 Therapeutic Targets: Identification of Potent Molecules from African Medicinal Plants. *Scientifica*, 2020, 1878410. doi: 10.1155/2020/1878410.
- Johnson, T. A., McLeod, M. J., and Holyoak, T., 2016. Utilization of Substrate Intrinsic Binding Energy for Conformational Change and Catalytic Function in Phosphoenolpyruvate Carboxykinase. *Biochemistry*, 55(3), 575–587. doi: 10.1021/acs.biochem.5b01215.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2020. Situasi Terkini Perkembangan (COVID-19). *Kemendes, September*.
- Kotrechko, S., Timoshevskii, A., Kolyvoshko, E., Matviychuk, Y., and Stetsenko, N., 2017. Thermomechanical Stability of Carbyne-Based Nanodevices. *Nanoscale Research Letters*, 12(1), 327. doi: 10.1186/s11671-017-2099-4.
- Kufareva, I., and Abagyan, R., 2012. Methods of Protein Structure Comparison. *Methods in Molecular Biology*, 857, 231–257. doi: 10.1007/978-1-61779-588-6_10.
- Lotfi, M., Hamblin, M. R., and Rezaei, N., 2020. COVID-19: Transmission, Prevention, and Potential Therapeutic Opportunities. *Clinica Chimica Acta*, 508, 254–266. doi: 10.1016/j.cca.2020.05.044.
- Macchiagodena, M., Pagliai, M., and Procacci, P., 2020. Inhibition of the Main Protease 3CLPro of the Coronavirus Disease 19 via Structure-Based Ligand Design and Molecular Modeling. *In arXiv*. 750, 137489.
- Mahantesh, M. ., Ranjith, D., Yaligar, R., Jyothi, R., Narappa, G., and Ravi, M., 2020. Swiss ADME Prediction of Phytochemicals Present in *Butea monosperma* (Lam.) Taub. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 9(3), 1799–1809.
- Makeneni, S., Thieker, D. F., and Woods, R. J., 2018. Applying Pose Clustering and MD Simulations to Eliminate False Positives in Molecular Docking. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 58(3), 605–614. doi: 10.1021/acs.jcim.7b00588.
- Mohammad, T., Shamsi, A., Anwar, S., Umair, M., Hussain, A., Rehman, M. T., AlAjmi, M. F., Islam, A., and Hassan, M. I., 2020. Identification of High-Affinity Inhibitors Of SARS-CoV-2 Main Protease: Towards the Development of Effective COVID-19 therapy. *Virus Research*, 288, 198102. doi: 10.1016/j.virusres.2020.198102.
- Mora, J. R., Marrero-Ponce, Y., García-Jacas, C. R., and Suarez Causado, A., 2020. Ensemble Models Based on QuBiLS-MAS Features and Shallow Learning for the Prediction of Drug-Induced Liver Toxicity: Improving Deep Learning and Traditional Approaches. *Chemical Research in Toxicology*, 33(7), 1855–1873. doi: 10.1021/acs.chemrestox.0c00030.
- Osipiuk, J., Azizi, S. A., Dvorkin, S., Endres, M., Jedrzejczak, R., Jones, K. A., Kang, S., Kathayat, R. S., Kim, Y., Lisnyak, V. G., Maki, S. L., Nicolaescu, V., Taylor, C. A., Tesar, C., Zhang, Y. A., Zhou, Z., Randall, G., Michalska, K., Snyder, S. A., Dickinson, B. C., and Joachimiak, A., 2021. Structure of Papain-Like Protease from SARS-CoV-2 and its Complexes with Non-Covalent Inhibitors. *Nature Communications*, 12(1), 743. doi: 10.1038/s41467-021-21060-3.

- Ramadhan, D. S. F., Fakih, T. M., and Arfan, A., 2020. Activity Prediction of Bioactive Compounds Contained in *Etlingera elatior* Against the SARS-CoV-2 Main Protease: An In Silico Approach. *Borneo Journal of Pharmacy*, 3(4), 235–242. doi: 10.33084/bjop.v3i4.1634.
- Ronning, D. R., Iacopelli, N. M., and Mishra, V., 2010. Enzyme-Ligand Interactions that Drive Active Site Rearrangements in the *Helicobacter Pylori* 5'-Methylthioadenosine/S-Adenosylhomocysteine Nucleosidase. *Protein Science*, 19(12), 2498–2510. doi: 10.1002/pro.524.
- Saied, A. S., Gebauer, J., Hammer, K., and Buerkert, A., 2008. *Ziziphus spina-christi* (L.) Willd.: A multipurpose fruit tree. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 55(7), 929–937. doi: 10.1007/s10722-007-9299-1.
- Shah, F. H., Lim, K. H., and Kim, S. J., 2021. Do Fever-Relieving Medicines Have Anti-COVID Activity: An Insight. *Future Virology*, 16(4). doi: 10.2217/fvl-2020-0398.
- Singhal, T., 2020. A Review of Coronavirus Disease-2019 (COVID-19). *Indian Journal of Pediatrics*, 87(4), 281–286. doi: 10.1007/s12098-020-03263-6.
- Su, H. xia, Yao, S., Zhao, W. feng, Li, M. jun, Liu, J., Shang, W. juan, Xie, H., Ke, C. qiang, Hu, H. chen, Gao, M. na, Yu, K. qian, Liu, H., Shen, J. shan, Tang, W., Zhang, L. ke, Xiao, G. fu, Ni, L., Wang, D. wen, Zuo, J. ping, Jiang, H. liang, Bai, F., Wu, Y., Ye, Y., and Xu, Y. Chun., 2020. Anti-SARS-CoV-2 Activities In Vitro of Shuanghuanglian Preparations and Bioactive Ingredients. *Acta Pharmacologica Sinica*, 41(9), 1167–1177. doi: 10.1038/s41401-020-0483-6.
- Tahir ul Qamar, M., Alqahtani, S. M., Alamri, M. A., and Chen, L. L., 2020. Structural Basis of SARS-CoV-2 3CLpro and Anti-COVID-19 Drug Discovery from Medicinal Plants. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 10(4), 313–319. doi: 10.1016/j.jpha.2020.03.009.