

POTENSI SENYAWA AKTIF DAUN NIMBA (*Azadirachta indica*) SEBAGAI ANTICOVID-19 SECARA *IN SILICO*

Yannur Romadhana Sholawatus Sholehah, Yoni Rina Bintari, Dini Sri Damayanti*
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: *Spike protein* diketahui berperan penting dalam masuknya virus ke dalam sel *host*. *Spike protein* akan diaktifkan oleh TMPRSS2 untuk dapat berikatan dengan reseptor *Angiotensin Converting Enzyme 2* (ACE-2). *A. indica* diketahui mengandung banyak senyawa aktif yang memiliki potensi sebagai antiviral. Namun *screening* untuk daun nimba sebagai antiviral untuk COVID-19 belum pernah dilakukan. Pada penelitian ini bertujuan untuk menganalisa potensi senyawa aktif daun nimba sebagai antiviral terhadap *spike protein* dan TMPRSS2 dalam mencegah perlekatan SARS-CoV-2 secara *in silico*.

Metode: Penelitian dilakukan dengan metode komputasional (*docking*) menggunakan *Autodock Tools*. Validasi metode *docking* dengan nilai RMSD (*root mean square deviation*) $\leq 2\text{\AA}$. Parameter potensi senyawa aktif *A. indica* dalam mencegah perlekatan *spike protein* dan TMPRSS2 adalah energi bebas dan residu asam amino. selain itu juga diprediksi sifat fisikokimia, profil farmakokinetik dan toksisitas menggunakan pkCSM.

Hasil: Senyawa terbaik yang dilihat berdasarkan nilai energi bebas dan persentase kemiripan residu asam amino dan kesamaan ikatan hidrogen terhadap *spike protein* yaitu quercetin (ΔG -6.9 kkal/mol, 60%, 100%). Quercetin memenuhi kriteria lipinski dan parameter ADMET serta tidak bersifat toksik. Senyawa terbaik yang dilihat berdasarkan nilai energi bebas dan persentase kemiripan residu asam amino terhadap TMPRSS2 yaitu nimbin (ΔG -8.8 kkal/mol, 27%, 0%). Nimbin memenuhi kriteria Lipinski namun memiliki nilai VDSS yang rendah sehingga diduga kurang dapat berdistribusi dengan baik.

Kesimpulan: Senyawa aktif quercetin memiliki potensi sebagai anticovid-19 dengan mencegah proses perlekatan *spike protein*.

Kata Kunci : *Antiviral; COVID-19; Azadirachta indica; SARS-CoV-2, in silico*

*Korespondensi:

Dini Sri Damayanti

Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang

Alamat: Jl MT Haryono 193 Kota Malang, Jawa Timur Indonesia, 65145

Email: dinisridamayanti@unisma.ac.id

POTENTIAL OF ACTIVE COMPOUNDS OF NIMBA LEAVES (*Azadirachta indica*) AS AN ANTICOVID-19 IN SILICO

Yannur Romadhana Sholawatus Sholehah, Yoni Rina Bintari, Dini Sri Damayanti*
Faculty of Medicine University of Islam Malang

ABSTRACT

Introduction: Spike proteins are known to play an important role in the entry of viruses into host cells. The spike protein will be activated by TMPRSS2 to bind to the *Angiotensin Converting Enzyme 2* (ACE-2) receptor. *A. indica* is known to contain many active compounds that have potential as antivirals. However, screening for neem leaves as an antiviral for COVID-19 has never been done. This study aimed to analyze the potential of the active compound in neem leaves as an antiviral against spike protein and TMPRSS2 in preventing the attachment of SARS-CoV-2 *in silico*.

Method: The research was conducted using a computational method (*docking*) using *Autodock Tools*. Validation of the docking method with the RMSD value (*root mean square deviation*) $\leq 2\text{\AA}$. The parameters of the potential of the active compound *A. indica* in preventing the attachment of spike protein and TMPRSS2 were free energy and amino acid residues. In addition, the physicochemical properties, pharmacokinetic and toxicity profiles were also predicted using pkCSM online tools.

Results: The best compound that was seen based on the free energy value and the percentage of similarity of amino acid residues and similarity of hydrogen bonds to spike protein was quercetin (ΔG -6.9 kkal/mol, 60%, 100%). Quercetin meets Lipinski criteria and ADMET parameters and is not toxic. The best compound seen based on the free energy value and the percentage of similarity of amino acid residues to TMPRSS2 was nimbin (ΔG -8.8 kkal/mol, 27%, 0%). Nimbin meets Lipinski's criteria but has a low VDSS value so it is suspected that it is not well distributed.

Conclusion: The active compound quercetin has potential as an anticovid-19 by preventing the attachment of spike protein.

Keywords: *Antiviral; COVID-19; Azadirachta indica; SARS-CoV-2, in silico*

*Correspondence:

Dini Sri Damayanti

Faculty of Medicine, University of Islam Malang

Address: Jl MT Haryono 193 Malang City, East Java Indonesia, 65145

Email: dinisridamayanti@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

COVID-19 dilaporkan pertama kali di Wuhan yang awalnya dilaporkan sebagai kasus pneumonia yang penyebabnya masih belum jelas¹. Kemudian dengan bertambahnya kasus COVID-19 yang menyebar di berbagai negara akhirnya *World Health Organization* (WHO) menetapkan COVID-19 sebagai pandemic². SARS-CoV-2 merupakan virus RNA rantai tunggal sebagai penyebab dari COVID-19¹.

Patofisiologi COVID-19 diawali sejak *spike protein* SARS-CoV-2 akan berikatan dengan *Type II Transmembrane Protease* (TMPRSS2) serta reseptor *Angiotensin Converting Enzyme 2* (ACE-2) pada sel *host*³. TMPRSS2 merupakan faktor penting dalam masuknya SARS-CoV-2, namun TMPRSS2 dapat diabaikan untuk pengembangan obat dan homeostasis sehingga menjadi target terapeutik yang menarik⁴. TMPRSS2 berperan dalam mengaktivasi *spike protein* dengan cara membelah *spike protein* menjadi S1 dan S2 *site* yang kemudian akan melakukan fusi dengan sel *host*⁵. *Spike protein* juga memiliki peranan penting dalam penyebaran virus serta pathogenesis pada sel *host* dengan berikatan pada TMPRSS2⁴. Hal ini menjadikan *spike protein* juga menjadi target terapeutik yang menarik untuk menghambat masuknya SARS-CoV-2 ke dalam sel *host*⁶.

Saat ini dengan perkembangan pengobatan COVID-19, pengobatan menggunakan herbal dapat menjadi pilihan terapi. Salah satu herbal yang dapat digunakan adalah daun nimba. Daun nimba merupakan salah satu tanaman obat serbaguna yang dapat berperan sebagai antibakteri, antivirus, dan antiinflamasi⁷. Penelitian yang dilakukan oleh Damayanti dkk didapatkan senyawa-senyawa yang terkandung pada *A.indica* seperti nimbin, gedunin, salannin, 7-desacetyl-7-benzoylazadiradione, nimbolide, 17-hydroxyazadiradione, 7-deacetyl-7-benzoylgedunin, 6-desacetylnimbinene, epicatechine, quercetin, heptacosane, stigmasterol, beta sitosterol, kaempferol, myricetin, chlorogenic acid, linoleoyl chloride dan nimbiol. Potensi nimba sebagai antivirus didukung oleh penelitian sebelumnya bahwa daun nimba memiliki efek antivirus terhadap coxsackievirus B-4 dengan menginaktivasi virus serta menghambat siklus replikasi virus⁸. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui potensi senyawa aktif yang terdapat dalam daun nimba dalam mencegah perlekatan virus SARS-CoV-2 dengan menggunakan metode penelitian secara komputasi (*docking*).

Docking atau penambatan molekul merupakan prosedur untuk mengetahui gambaran interaksi antara ligan dengan reseptor⁹. Penelitian secara komputasi memiliki keunggulan karena mengurangi pemakaian alat dan bahan secara berlebihan serta efisiensi waktu dan biaya dalam melakukan percobaan¹⁰. Penelitian yang dilakukan ini terdiri dari dua tahapan. Tahapan pertama dilakukan untuk mengetahui mekanisme senyawa aktif *A. indica*

dalam menghambat *spike protein* dan TMPRSS2 secara *in silico* dengan cara *molecular docking* senyawa obat dengan reseptor yang dipilih. Untuk tahapan kedua dengan tujuan memprediksi senyawa aktif dari daun nimba apabila akan diberikan secara peroral karena pemberiannya yang mudah dan paling aman. Tahapan ini dilakukan dengan memprediksi parameter fisikokimia, ADMET (Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Ekskresi dan Toksisitas) menggunakan aplikasi PkCSM Online Tools¹¹.

METODE PENELITIAN

Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode komputasional secara *in silico* dengan melakukan penambatan molekul protein target yaitu *spike protein* dan TMPRSS2 dengan obat kontrol bisoxatin dan cephaaranthine dan senyawa aktif daun nimba. Parameter potensi senyawa aktif sebagai antivirus adalah energi bebas dan residu asam amino. Senyawa aktif daun nimba diuji sifat fisikokimianya dengan parameter *Lipinski rules of five*, farmakokinetik dengan parameter ADMET (absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi dan toksisitas)

Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan April-Mei 2022 di Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang.

Alat

Alat yang digunakan untuk melakukan penambatan molekul adalah laptop dengan spesifikasi Windows 10, processor Intel(R) Core (TM) i5-7200U CPU 2.50 GHz, RAM 8GB, koneksi internet minimal 10 mbps, software *Autodock Tools* versi 1.5.6, aplikasi *biovia discovery studio* visualizer, website protein data bank dan website PubChem untuk mendapatkan kode SMILES dari senyawa aktif daun nimba serta aplikasi *pkCSM online tools*.

Bahan

Struktur tiga dimensi *spike protein* (ID PDB: 6VXX) dan TMPRSS2 (ID PDB: 7MEQ) yang didapatkan dari website protein data bank (PDB). Struktur senyawa aktif daun nimba yaitu nimbin (CID: 108058), nimbandiol (CID: 157277), nimbolide (CID: 12313376), ascorbic acid (CID: 54670067), 17-hydroxyazadiradione (CID: 52951892), nimbiol (CID: 11119228), quercetin (CID: 5280343), β -sitosterol (CID: 222284), 7-desacetyl-7-benzoylazadiradione (CID: 545800354), salannin (CID: 6437066), stigmasterol (CID: 5280794), 6-desacetylnimbinene (CID: 102285347), 7-desacetyl-7-benzoylgedunine (CID: 52952112), gedunin (CID: 12004512), myricetin (CID: 5281672), kaempferol (CID: 5280863)

chlorgenic acid (CID: 1794427), epicatechine (CID: 72276), linoleoyl chloride (CID: 9817754), dan heptacosane (CID: 11636) yang didapatkan dari PubChem. Struktur bisoxatin (CID: 28689) dan cepharanthine (CID: 10206) sebagai kontrol yang didapatkan dari PubChem.

Uji Validasi Penambatan Molekul Antara Protein Target dengan Obat Kontrol

Sebelum dilakukan uji penambatan molekul, langkah pertama yang dilakukan adalah dengan melakukan tes validasi. Hal ini dilakukan dengan menambatkan protein target yaitu *spike protein* dengan obat kontrol bisoxatin dan TMPRSS2 dengan obat kontrol cepharanthine dengan melakukan pengulangan docking sebanyak 16x. Uji validitas dikatakan valid jika didapatkan nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) apabila bernilai $\leq 2\text{\AA}^{12}$.

Preparasi Ligan dan Protein

Proses awal untuk uji penambatan molekul adalah mengunduh struktur ligan senyawa aktif *A. indica* dan obat kontrol yaitu bisoxatin dan cepharanthine pada PubChem serta pengunduhan struktur protein target yaitu *spike protein* dan TMPRSS2 pada *protein data bank*. Kemudian langkah selanjutnya adalah melakukan preparasi protein target dengan menghilangkan molekul air dan ligan dengan menggunakan aplikasi *biovia discovery studio visualizer*.

Uji Penambatan Molekul Antara Senyawa Aktif Daun Nimba (*Azadirachta indica*) terhadap *spike protein* dan TMPRSS2

Setelah ligan dan protein target dilakukan proses preparasi kemudian dilakukan proses *docking* atau penambatan molekul dengan menggunakan *Autodock Tools*. Proses penambatan memperhatikan ukuran gridbox dengan rincian pada **tabel 1**.

Tabel 1. Ukuran Grid Box

	<i>Spike Protein</i>	TMPRSS2
Center_X	7.431	6.128
Center_Y	22.010	-6.821
Center_Z	12.486	12.967
Size_X	126	126
Size_Y	126	126
Size_Z	126	126

Keterangan: Grid box diatur pada saat akan melakukan penambatan pada *AutodockTools*

Prediksi Sifat Fisikokimia dan Farmakokinetik Senyawa Aktif Daun Nimba (*Azadirachta indica*) terhadap *Spike Protein* dan TMPRSS2

Prediksi sifat fisikokimia dengan menggunakan parameter hukum lima Lipinski. Prediksi sifat farmakokinetik dengan menggunakan parameter absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan

toksistas (ADMET). Keduanya diuji menggunakan *pkCSM online tool* dengan menyalin kode SMILES yang terdapat pada PubChem lalu tempelkan kode pada *website pkCSM online tools* kemudian pilih ADMET. Hasil yang ditampilkan akan dianalisis berdasarkan parameter masing-masing.

Teknik Analisis Data

Analisis data yang digunakan dengan melakukan uji validitas terhadap ligan dan protein dengan melihat nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) yang akan dikatakan valid apabila bernilai $\leq 2\text{\AA}$. Hasil dari uji penambatan molekul akan dianalisa menggunakan parameter energi ikatan bebas serta residu asam amino antara ligan dengan protein target yang akan dibandingkan dengan hasil antara ligan dengan obat kontrol.

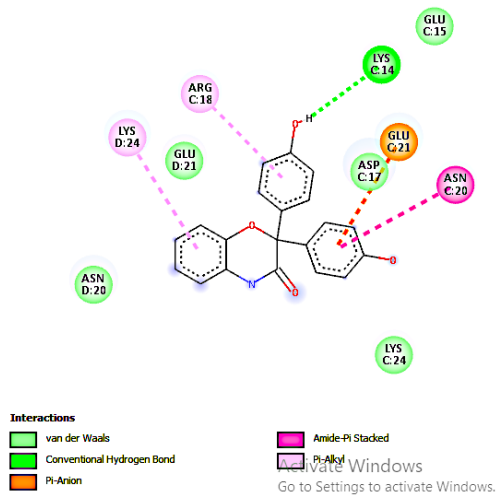
Hasil dari prediksi sifat fisikokimia akan dianalisa menggunakan aturan *Lipinski's rule of five*. Parameter *lipinski's rule of five* yaitu massa molekul senyawa kurang dari 500 dalton, nilai lipofilitas kurang dari 5, ikatan hidrogen donor kurang dari 5 dan ikatan hidrogen aseptor kurang dari 10.

Hasil dari prediksi sifat farmakokinetik akan dianalisa berdasarkan profil absorbs dengan menggunakan parameter absorbs intestinal. Sedangkan untuk profil distribusi akan dianalisa dengan menggunakan parameter *Volume Distribusi Steady State* (VDss) dan permeabilitas *Blood Brain Barrier* (BBB). Profil metabolisme akan dianalisa dengan menggunakan parameter CYP2D6 dan CYP3A4 inhibitor. Profil ekskresi akan dianalisa menggunakan parameter *Clearance Total* (CLTOT) dan profil toksistas akan dianalisa dengan menggunakan parameter LD50.

HASIL PENELITIAN

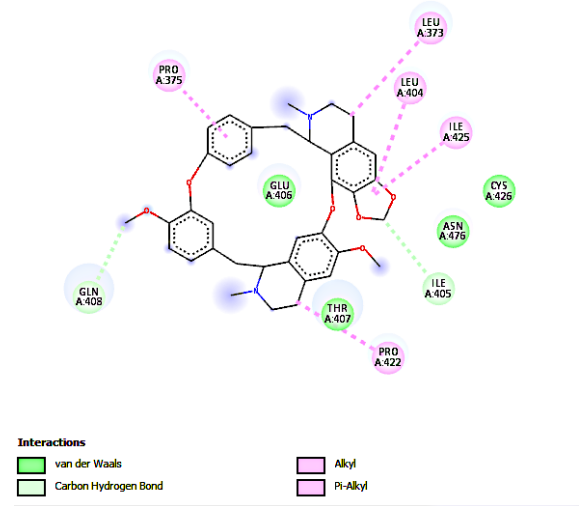
Hasil Data Uji Validitas Penambatan Molekul

Hasil penambatan secara komputasional antara *spike protein* dan TMPRSS2 pada senyawa aktif daun nimba ditunjukkan pada **Tabel 1** dan **Tabel 2**. *Spike protein* yang ditambatkan dengan bisoxatin sebagai obat kontrol menghasilkan ΔG -6.8 kkal/mol dengan 9 residu asam amino yang ditunjukkan pada **gambar 1**. TMPRSS2 yang ditambatkan dengan cepharanthine sebagai obat kontrol menghasilkan ΔG -9.9 kkal/mol dengan 11 residu asam amino yang ditunjukkan pada **gambar 2**.



Gambar 1. Bisoxatin.

Keterangan: (1); Interaksi *spike protein* terhadap bisoxatin (2); Interaksi TMPRSS2 dengan cepharanthine (--) Conventional Hydrogen Bond; (--) Carbon Hydrogen Bond; (●) Van der Waals; (--) Pi-Alkyl; (--) Pi-Anion; (--) Amide Pi-Stacked;



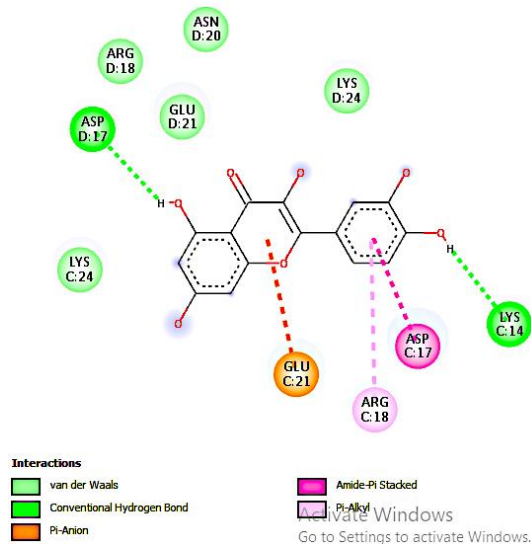
Gambar 2. Cepharanthine

Hasil Data Penambatan Molekul Senyawa Aktif *A. indica* Terhadap *Spike Protein*

Setelah dilakukan penambatan, didapatkan 8 senyawa aktif daun nimba yang memiliki energi bebas terendah yaitu 17-hydroxyazadiradione, 7-deacetyl-7-benzoylgedunine, nimbin, 7-desacetyl-7-benzoylazadiradione, gedunin, stigmasterol, nimbolide dan quercetin yang ditunjukkan pada **Tabel 1**. Tujuh dari delapan senyawa tersebut memiliki prosentase kemiripan residu asam amino

berkisar dari 30%-40% namun tidak memiliki kemiripan ikatan hidrogen. Namun pada senyawa quercetin, nilai prosentase kemiripan residu asam amino sebesar 60% dan kemiripan ikatan hidrogen sebesar 100%.

Quercetin memiliki nilai ΔG -6.9 kkal/mol, nilai prosentase kemiripan residu asam amino 60% dan kemiripan ikatan hidrogen sebesar 100%. Sehingga dapat disimpulkan bahwa senyawa quercetin memiliki persamaan mekanisme kerja dengan bisoxatin meskipun afinitasnya lebih rendah dibanding tujuh senyawa lainnya.



Gambar 3. Interaksi Senyawa aktif *A. indica* Terhadap *Spike Protein*

Keterangan: Interaksi quercetin terhadap *spike protein* (--) Conventional Hydrogen Bond; (--) Carbon Hydrogen Bond; (●) Van der Waals; () Pi-Alkyl; (--) Pi-Anion; (--) Amide Pi-Stacked; (--) Pi-sigma

Tabel 1. Hasil Energi Ikatan Bebas (ΔG) dan Residu Asam Amino Senyawa Aktif *A. indica* dan Bisoxatin Terhadap Spike Protein

No.	Nama Senyawa	CID	Binding Affinity (Kkal/mol)	Residu Asam Amino	Pers.Residu As. Amin dengan bisox: (%)	Pers. Ikatan Hidrogen dengan bisoxatin (%)
1.	Bisoxatin (kontrol)	28689	-6.8	Ikatan Hidrogen: LYS14 Ikatan Van Der Walls: GLU21, ASN20, GLU15, ASP17, LYS24 Pi anion: GLU21 Ikatan pi- Alkyl: LYS24, ARG18 Amide pi- Stacked: ASN20	100	100%
2.	17-hydroxyazadiradione	52951892	-8.8	Ikatan Hidrogen: LYS24 Ikatan Van Der Walls: ARG18, GLU21, ASP17, ASN20, GLU21	40	0
3.	7-deacetyl-7-benzoylgedunine	52952112	-8.6	Ikatan Hidrogen: GLU21 Ikatan Van Der Walls: ARG18, ASN20, LYS24, GLU21, ASP17, LYS14 Ikatan Alkyl: LYS14	40	0
4.	Nimbin	108058	-7.9	Ikatan Van Der Walls: ASN20, ARG18, LYS24, GLU21, ASP17 Ikatan Alkyl: LYS14	40	0
5.	7-desacetyl-7-benzoylazadiradione	52951892	-7.8	Ikatan Van Der Walls: ASP17, GLU21, ASN20, LYS24, ARG18 Ikatan Alkyl: LYS14	40	0
6.	Gedunin	12004512	-7.7	Ikatan Hidrogen: GLU21 Ikatan Van Der Walls: LYS14, ARG18, ASP17, ASN20, LYS24, GLU21	40	0
7.	Stigmasterol	5280794	-7.4	Ikatan Van Der Walls: GLU21, ASP17, ALA23, ASN20, LYS24 Ikatan Alkyl: LYS24	40	0
8.	Nimbolide	12313376	-7.3	Ikatan Hidrogen: GLU21 Ikatan Van Der Walls ASP17, ASN20, LYS24, GLU21 Ikatan Alkyl: LYS14	30	0
9.	Quercetin	5280343	-6.9	Ikatan Hidrogen: ASP17, LYS14 Ikatan Van Der Walls: LYS24, ARG18, GLU21, ASN20, Pi-anion: GLU21 Ikatan pi-Alkyl: ARG18	60	100%
10.	Nimbandiol	157277	-6.7	Ikatan Hidrogen: GLU21, ASP17 Ikatan Van Der Walls: ARG18, LYS14, ASN20, LYS24	20	0
11.	Salannin	6437066	-6.6	Ikatan Hidrogen: ASN20, GLU21 Ikatan Van Der Walls: ASP17, GLU21, ARG18, ASN20, LYS24	40	0
12.	Myricetin	5281672	-6.2	Ikatan Hidrogen: LYS14, LYS24 Ikatan Van Der Walls: GLU15, ASP17, ASN20, LYS24, GLU21 Ikatan pi- Anion: GLU21 Ikatan pi-Alkyl: ARG18	80	100
13.	Chlorogenic Acid	1794427	-6.2	Ikatan Hidrogen: ASN20, LYS14, ARG18 Ikatan Van Der Walls: GLU15, ASN20, GLU21, ASP17 Ikatan pi-Alkyl: ALA23, LYS24	60	100
14.	Nimbiol	11119228	-6.2	Ikatan Hidrogen: LYS14 Ikatan Van Der Walls: ARG18, LYS24, GLU21, ASP17	40	100
15.	Kaempferol	5280863	-5.7	Ikatan Hidrogen: ASP17	40	0

				Ikatan Van Der Walls: ASN20 , LYS24 , GLU21 , ASP17 , ILE16		
16.	6-desacetylnimbinene	102285347	-5.1	Ikatan Van Der Walls: LEU26, ILE12, SER8, ASN11, LYS14, LEU19	0	0
17.	Epicatechine	72276	-4.9	Ikatan Hidrogen: LEU36, GLN34, LEU33, SER3 Ikatan Van Der Walls: VAL9, ASN6, ILE5 Ikatan Alkyl: ILE2	0	0
18.	β -sitosterol	222284	-4.7	Ikatan Van Der Walls: ARG18, GLU15 , VAL22, LEU19, SER8 Ikatan Alkyl: LEU19, LEU26, ILE12	10	0
19.	Ascorbic acid	54670067	-4.6	Ikatan Van Der Walls: ARG18, GLU21 , LYS24 , ASP17 , ASN20 Ikatan Alkyl: LEU26, ILE12, LEU19	40	0
20.	Heptacosane	11636	-4.1	Ikatan Hidrogen: LYS24, ASN20 Ikatan Van Der Walls: GLU28, ASN27, ASN20 Ikatan Alkyl: ALA23	10	0
21.	Linoleoyl Chloride	9817754	-3.1	Ikatan Hidrogen: SER29 Ikatan Van Der Waals: GLU15 Ikatan Alkyl: ILE12, LEU26, LEU19, VAL22	10	0

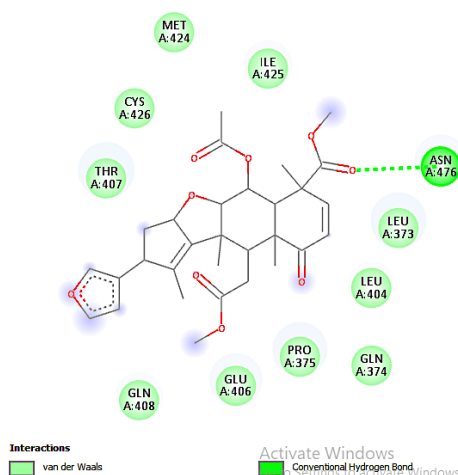
Keterangan: Data hasil *docking* atau penambatan molekul senyawa aktif *A. indica* terhadap *spike protein*. Senyawa yang di bold dianggap sebagai sisi aktif dari protein target (*spike protein*) serupa dengan residu asam amino obat kontrol yang digunakan (bisoxatin).

Hasil Data Penambatan Molekul Senyawa Aktif *A. indica* Terhadap TMPRSS2

Setelah dilakukan penambatan dengan TMPRSS2, didapatkan 9 senyawa yang memiliki nilai energi bebas terendah yang ditunjukkan pada **Tabel 2**. Meskipun nilai energi bebas pada penambatan TMPRSS2 lebih tinggi daripada kontrol, namun nilai energi bebas yang lebih kecil dari ΔG -7 kkal/mol dianggap memiliki afinitas terhadap protein target. Senyawa-senyawa tersebut antara lain 17-hydroxyazadiradone, nimbin, quercetin, 7-deacetyl-7-benzoylgedunine, 7-desacetyl-7-benzoylazadiradione, gedunin,

stigmasterol, nimbolide dan myricetin. 9 senyawa tersebut memiliki nilai prosentase residu asam amino berkisar 0-27% dan tidak memiliki kemiripan ikatan hidrogen.

Berdasarkan nilai energi bebas, kemiripan residu asam amino dan kemiripan ikatan hidrogen didapatkan senyawa terbaik yaitu nimbin dan nimbolide. Nimbin dengan nilai energi bebas ΔG -8.8 kkal/mol, nilai prosentase kemiripan residu asam amino 27% dan kemiripan ikatan hidrogen 0%. Sedangkan nimbolide ΔG -7.2 kkal/mol, nilai prosentase kemiripan residu asam amino 27% dan kemiripan ikatan hidrogen 0%.



Gambar 4. Interaksi Nimbin Terhadap TMPRSS2

Keterangan: Interaksi *nimbin* terhadap TMPRSS2. (●) Van der Waals; (—) Conventional Hydrogen Bond; (---) Unfavorable Aceptor-Aceptor

Tabel 2. Hasil Energi Ikatan Bebas (ΔG) dan Residu Asam Amino Senyawa Aktif A. *Indica* dan Cepharanthine Terhadap Tmprss2

No.	Nama Senyawa	CID	Binding Affinity	Residu Asam Amino	Pers. Residu As.Amino Dengan Cepharanthine (%)	Pers. Ikatan Hidrogen Dengan Cepharanthine (%)
1.	Cepharanthine (kontrol)	10206	-9.9	Ikatan Carbon Hidrogen: GLN408, ILE405 Ikatan Van Der Waals: THR407, GLU406, ASN476, CYS426 Ikatan Alkyl: PRO375, LEU373, LEU404, ILE425, PRO422	100	100%
2.	17-hydroxy-azadiradione	52951892	-9.1	Ikatan Hidrogen konvensional: ASN247 Ikatan Van Der Waals: ALA262, ALA399, TRP267, LEU263, ALA266, SER448, GLU260, TRP380, LEU248	0	0
3.	Nimbin	108058	-8.8	Ikatan Hidrogen konvensional: ASN476 Ikatan Van Der Waals: THR407, CYS426 , MET424, ILE425, LEU373, LEU404, PRO375, GLU406 , GLN374, GLN408 Ikatan Alkyl: MET478	27	0
4.	Quercetin	5280343	-8.8	Ikatan Hidrogen konvensional: TRP461, SER436, GLN438 Ikatan Van Der Waals: LYS342, SER460, THR459, VAL473, TYR474, GLY472, ASP435, CYS437, SER441, GLY439, VAL280, GLY464	0	0
5.	7-deacetyl-7-benzoylgedunine	52952112	-8.1	Ikatan Hidrogen konvensional: THR407, ASN476 Ikatan Van Der Waals: GLU406 , GLN408, VAL479, PRO422, PRO375, GLN374, LEU404, LEU373, MET371, MET478, ILE425, ILE456	9	0
6.	7-desacetyl-7-benzoylazadiradione	52951892	-8.3	Ikatan Hidrogen konvensional: GLN408 Ikatan Van Der Waals: GLN374, PRO375, LEU404, LEU373, GLU406 , MET371, MET478, ILE425, ASN476 , ILE456, PRO422, VAL479	9	0
7.	Gedunin	12004512	-7.6	Ikatan Van Der Waals: LYS342, HIS296, LEU302, CYS297, CYS281, GLN438, GLY439, SER460, SER441, CYS437, SER436, THR459, TRP461, GLY462	0	0
8.	Stigmasterol	5280794	-7.4	Ikatan Van Der Waals: TYR485, ASP482, ARG150, TRP168, SER163, THR481, VAL479, MET478, CYS148	0	0

9.	<i>Nimbolide</i>	12313376	-7.2	Ikatan Hidrogen konvensional: GLY370 Ikatan Van Der Walls: MET372, LEU404, GLN374, ILE 405, GLU406 , THR407 , LEU373, MET371, ILE425, ASN476 , VAL479	27	0
10.	<i>Myricetin</i>	5281672	-7.1	Ikatan Hidrogen konvensional: GLY323, THR309 Ikatan Van Der Waals: GLY325, PHE311, ASN277, TYR322, GLN276, VAL275, HIS307, TRP306	0	0
11.	<i>6-desacetylnimbinene</i>	102285347	-6.9	Ikatan Van Der Walls: PHE194, TYR195, ILE242, ASN193, PRO288, PRO363, PHE357, ASN358 Ikatan Alkyl: VAL246, ALA243	0	0
12.	<i>Chlorogenic Acid</i>	1794427	-6.9	Ikatan Hidrogen konvensional: TRP306, THR309, HIS274, TYR322 Ikatan Van Der Walls: TYR326, GLY325, GLY323, PHE311, VAL278, ASN277, VAL275, GLN276, HIS307, TRP308	0	0
13.	<i>Epicatechine</i>	72276	-6.8	Ikatan Hidrogen konvensional: LEU248, TRP380, SER448 Ikatan Van Der Waals: ALA266, TRP267, ASN247, TRP453, THR447, GLN377	0	0
14.	<i>Kaempferol</i>	5280863	-6.8	Ikatan Hidrogen konvensional: TYR337, PRO335, SER333 Ikatan Van Dee Waals: SER339, GLU299, LYS300, VAL298, ASN303, VAL331, ASN336, HIS334, ASN304, PRO305	0	0
15.	<i>Nimbandiol</i>	157277	-6.7	Ikatan Hidrogen konvensional: ALA243 Ikatan Van Der Walls: PRO363, PHE194, ASN193, ILE242, PRO288, PHE357 Ikatan Alkyl: TYR195, VAL246	0	0
16.	<i>Nimbiol</i>	11119228	-6.7	Ikatan Hidrogen konvensional: GLY323, ASN277 Ikatan Van Der Waals: VAL278, VAL275, GLN276, HIS307, GLNN327, TRP306 Ikatan pi alkyl: HIS274, PHE311	0	0
17.	<i>Salannin</i>	6437066	-6.6	Ikatan Hidrogen konvensional: LEU373, MET372, THR407 Ikatan Van Der Walls: MET371, GLN374, PRO375, LEU404, GLU406 , GLN408, MET424,	18	0

				PRO422, MET478, ILE456, ILE425, ASN476		
18.	<i>Ascorbic acid</i>	54670067	-5.8	Ikatan Hidrogen konvensional: SER441, GLY462, GLY464 Ikatan Van Der Walls: GLN438, TRP461, GLY439, SER463, THR459, SER436, GLY472, CYS465, CYS437	0	0
19.	<i>β-sitosterol</i>	222284	-5.6	Ikatan Van Der Walls: ILE314 Ikatan Alkyl: PRO264, LEU360, LEU315, ARG316	0	0
20.	<i>Heptacosane</i>	11636	-4.1	Ikatan Hidrogen konvensional: SER436, GLY464, GLY472 Ikatan Van Der Waals: VAL473, TRP461, GLY462, ASP435, ALA466, CYS465, SER441, GLY439, GLN438	0	0
21.	<i>Linoleoyl Chloride</i>	9817754	-2.8	Ikatan Van Der Waals: GLN431, LYS401, ASN433, GLY259, GLY258 Ikatan Alkyl: PHE429, ALA400, VAL434	0	0

Keterangan: Data hasil *docking* atau penambatan molekul senyawa aktif *A. indica* terhadap TMPRSS2. Senyawa yang di bold dianggap sebagai sisi aktif dari protein target (TMPRSS2) serupa dengan residu asam amino obat kontrol yang digunakan (cepharanthine)

Hasil Uji Sifat Fisikokimia Senyawa Aktif Daun Nimba (*Azadirachta indica*) Berdasarkan Lipinski's Rules of Five

Sembilan senyawa aktif daun nimba yang memiliki hasil paling baik pada penambatan *spike protein* dan TMPRSS2 adalah nimbin, nimbolide,

quercetin, stigmasterol, 17-hydroxyazadiradione, 7-desacetyl-7-benzoylazadiradione, 7-deacetyl-7-benzoylgedunin, gedunin, dan myricetin. Sembilan senyawa tersebut memenuhi parameter hukum Lipinski. Namun yang memiliki kelarutan paling baik adalah quercetin, 7-desacetyl-7-benzoylazadiradione dan myricetin.

Tabel 3. Hasil Uji Sifat Fisikokimia Senyawa Aktif *A. indica*

No.	Nama Senyawa	Rumus Kimia	Parameter Lipinski Rule of Five				Pemenuhan Hukum Lima Lipinski
			BM	LogP	HBA	HBD	
1.	Bisoxatin (kontrol)	<u>C₂₀H₁₅NO₄</u>	333.4	3.37	4	3	Memenuhi
2.	Cepharanthine (kontrol)	<u>C₃₇H₃₈N₂O₆</u>	606.7	6.8	8	0	Memenuhi
3.	Nimbin	<u>C₃₀H₃₆O₉</u>	540.6	3.92	9	0	Memenuhi
4.	Nimbandiol	<u>C₂₆H₃₂O₇</u>	456.5	2.92	7	2	Memenuhi
5.	Nimbolide	<u>C₂₇H₃₀O₇</u>	466.5	3.74	7	0	Memenuhi
6.	Nimbiol	<u>C₁₈H₂₄O₂</u>	273.3	4.37	2	1	Memenuhi
7.	Ascorbic acid	<u>C₆H₈O₆</u>	176.1	-1.40	6	4	Memenuhi
8.	Salannin	<u>C₃₄H₄₄O₉</u>	596.7	5.29	9	0	Memenuhi
9.	Quercetin	<u>C₁₅H₁₀O₇</u>	302.2	1.98	7	5	Memenuhi
10.	β-sitosterol	<u>C₂₉H₅₀O</u>	414.7	8.02	1	1	Memenuhi
11.	Stigmasterol	<u>C₂₉H₄₈O</u>	412.7	7.80	1	1	Memenuhi
12.	17-hydroxyazadiradione	<u>C₂₈H₃₄O₆</u>	466.5	4.52	6	1	Memenuhi

13.	7-desacetyl-7-benzoylazadiradione	<u>C₃₃H₃₆O₅</u>	284,2	2,87	5	2	Memenuhi
14.	6-desacetyl-nimbinene	<u>C₂₆H₃₂O₆</u>	440.5	3.95	6	1	Memenuhi
15.	7-deacetyl-7-benzoylgedunin	<u>C₃₃H₃₆O₇</u>	544.6	5.85	7	0	Memenuhi
16.	Gedunin	<u>C₂₈H₃₄O₇</u>	485.5	4.56	7	0	Memenuhi
17.	Myricetin	<u>C₁₅H₁₀O₈</u>	318.2	1.69	8	6	Memenuhi
18.	Chlorogenic Acid	<u>C₁₆H₁₈O₉</u>	354.3	-0.64	8	6	Memenuhi
19.	Epicatechine	<u>C₁₅H₁₄O₆</u>	290.2	1.54	6	5	Memenuhi
20.	Linoleoyl Chloride	<u>C₁₈H₃₁ClO</u>	298.8	6.56	1	0	Memenuhi
21.	Heptacosane	<u>C₂₇H₅₆</u>	366.7	10.38	0	0	Memenuhi
22.	Kaempferol	<u>C₁₅H₁₀O₆</u>	286.2	2.28	6	4	Memenuhi

Keterangan: Data yang ditunjukkan merupakan hasil uji sifat fisikokimia berdasarkan hukum lima Lipinski yang meliputi Berat Molekul (BM), Lipofilisitas (LogP), *Hydrogen bond acceptor* (HBA), *Hydrogen bond donor* (HBD).

Hasil Uji Sifat Farmakokinetik dan Toksisitas Senyawa Aktif Daun Nimba (*Azadirachta indica*)

Hasil uji sifat farmakokinetik (ADMET) dari senyawa aktif *A. indica* meliputi absorbs dengan menggunakan parameter absorbs intestinal, profil distribusi dengan menggunakan parameter VDSS dan BBB, profil metabolisme dengan menggunakan parameter CYP2D6 inhibitor dan CYP3A4 inhibitor, profil ekskresi dengan menggunakan

parameter CLTOT, profil toksisitas menggunakan parameter LD50 ditunjukkan pada **Tabel 4**.

Sembilan senyawa terbaik pada penambatan terhadap *spike protein* dan TMPRSS2 didapatkan bahwa quercetin dan nimbolide memenuhi seluruh parameter ADMET.

Tabel 4. Hasil Uji Sifat Farmakokinetik Senyawa Aktif *A. indica*

Nama Senyawa	Absorbsi	Distribusi		Metabolisme		Eksresi	Toksisitas
	Absorbsi intestinal (%)	VDSS (LogL/Kg)	BBB (Log BB)	CYP2D6 Inhibitor	CYP3A4 Inhibitor	CLTOT (Log ml/min/Kg)	LD50 pada manusia (g/Kg)
Bisoxatin	95.27	-0.92	-0.45	Tidak	Ya	0.07	117,376
Cepharanthine	92.84	-0.44	-0.77	Tidak	Tidak	0.74	143,024
Nimbin	100	-0.19	-1.12	Tidak	Tidak	0.42	138,88
Nimbandiol	93.36	-0.13	-0.64	Tidak	Ya	0.46	149,408
Nimbolide	100	0.02	-0.67	Tidak	Tidak	0.24	132,944
Nimbiol	91.96	0.74	0.10	Tidak	Tidak	0.68	134,68
Ascorbic acid	39.15	0.21	-0.98	Tidak	Tidak	0.63	59,528
Salannin	100	-0.06	-1.09	Tidak	Ya	0.25	158,2
Quercetin	77.20	1.55	-1.09	Tidak	Tidak	0.40	138,376
β-sitosterol	94.46	-1.93	0.78	Tidak	Tidak	0.628	142,912
Stigmasterol	94.97	0.17	0.77	Tidak	Tidak	0.618	142,24
17-hydroxyazadiradione	100	0.10	-0.30	Tidak	Ya	0.117	129,024
7-desacetyl-7-benzoylazadiradione	100	0.25	-0.22	Tidak	Ya	0.004	167,608

6-desacetyl-nimbinene	97.59	0.01	-0.34	Tidak	Ya	0.517	167,608
7-deacetyl-7-benzoylgedunin	100	0.14	-0.67	Tidak	Ya	-0.07	146,44
Gedunin	100	0.13	-0.64	Tidak	Ya	0.06	167,888
Myricetin	65.93	1.31	-1.49	Tidak	Tidak	0.42	139,832
Chlorogenic Acid	36.37	0.58	-1.40	Tidak	Tidak	0.30	54,488
Epicatechine	68.82	1.02	-1.05	Tidak	Tidak	0.18	135,968
Linoleoyl Chloride	91.19	0.39	0.81	Tidak	Tidak	0.23	99,064
Heptacosane	87.60	0.31	1.12	Tidak	Tidak	2.09	97,44
Kaempferol	74.29	1.27	-0.93	Tidak	Tidak	0.47	137,144

Keterangan: Data di atas merupakan hasil uji prediksi sifat farmakokinetik dan toksisitas senyawa aktif d *A. indica* menggunakan parameter absorpsi intestinal, *Volume distribution steady state* (Vdss), *Blood Brain Barrier* (BBB), sitokrom P450 (CYP2D6, CYP3A4) inhibitor, *Clearance Total* (CLTOT), Oral Rat Acute Toxicity (LD50).

PEMBAHASAN

Penambatan Senyawa Aktif Daun Nimba (*Azadirachta indica*) Terhadap *Spike Protein*

Pada penambatan molekul ini menggunakan parameter energi bebas (ΔG) dan residu asam amino. Diperoleh nilai energi bebas dari *spike protein* dengan bisoxatin sebesar ΔG -6.8 kkal/mol dengan jumlah 10 residu asam amino dan memiliki ikatan hidrogen pada asam amino LYS14.

Parameter energi bebas menunjukkan kemampuan berinteraksi dengan sisi aktif molekul¹¹. Sehingga semakin kecil nilainya maka semakin tinggi afinitas antar reseptor dengan sisi aktif ligan semakin tinggi dan sebaliknya jika semakin tinggi nilai energi bebas maka afinitas antar reseptor dengan sisi aktif ligan semakin rendah¹³. Parameter residu asam amino menunjukkan kemiripan aktivitas dan interaksi ligan yang diujikan dengan kontrol. Semakin banyak kemiripan residu asam amino pada ligan uji yang dibandingkan dengan kontrol maka aktivitas dan jenis interaksi antar ligan uji dan kontrol¹⁴. Kemiripan ikatan hidrogen menunjukkan kemiripan aktivitas antara ligan uji dengan kontrol. Ikatan hidrogen merupakan ikatan yang dapat menstabilkan ikatan antara ligan dengan reseptor.

Penelitian ini menggunakan bisoxatin sebagai obat kontrol dari *spike protein*. pada penelitian sebelumnya disebutkan bahwa bisoxatin berpotensi untuk menghambat *spike protein* untuk berikatan dengan ACE-2. *Spike protein* berperan penting dalam masuknya SARS-CoV-2¹⁵.

Hasil penelitian secara *in silico* disimpulkan bahwa semua senyawa aktif *A. indica* memiliki afinitas yang cukup tinggi terhadap *spike protein*. Namun demikian, senyawa aktif yang memiliki afinitas terbaik adalah quercetin dengan nilai ΔG -6.9 kkal/mol. Nilai energi bebas quercetin lebih rendah

daripada bisoxatin, ini berarti ikatan antara quercetin dengan *spike protein* lebih baik dibandingkan ikatan bisoxatin dengan *spike protein*. Quercetin memiliki gugus fungsi fenolik serta interaksi hidrogen dengan LYS14 yang sangat mirip dengan bisoxatin sehingga mekanisme kerja dari quercetin memiliki kesamaan dengan mekanisme kerja bisoxatin terhadap *spike protein*.

Nilai prosentase kemiripan residu asam amino dan prosentase kemiripan ikatan hidrogen quercetin 60% dan 100%. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki cara kerja yang mirip dengan kontrol dengan menghambat *spike protein* berikatan dengan ACE-2. Hal ini dikarenakan quercetin dapat berikatan dengan asam amino yang sama dengan kontrol sehingga berpotensi untuk digunakan sebagai anticovid-19.

Terdapat dua senyawa yang memiliki nilai energi bebas paling rendah yaitu 17-hydroxyazadiradione ΔG -8.8 kkal/mol dan 7-deacetyl-7-benzoylgedunin ΔG -8.6 kkal/mol. Nilai prosentase kemiripan residu asam amino dan prosentase kemiripan ikatan hidrogen 17-hydroxyazadiradione 40% dan 0%, 7-deacetyl-7-benzoylgedunin 40% dan 0%. Keduanya memiliki kemiripan residu asam amino 40% sehingga memiliki afinitas terhadap *spike protein* namun lebih rendah jika dibandingkan kontrol dan quercetin.

Dari hasil di atas dapat disimpulkan bahwa ketiga senyawa aktif *A. indica* tersebut yaitu quercetin diduga memiliki potensi sebagai anticovid-19 melalui kemiripan penghambatan *spike protein*.

Penambatan Senyawa Aktif Daun Nimba (*Azadirachta indica*) Terhadap TMPRSS2

Pada penambatan molekul ini menggunakan parameter energi bebas (ΔG) dan residu asam amino. Diperoleh nilai energi bebas dari TMPRSS2 dengan cepharanthine sebesar ΔG -9.9 kkal/mol dengan jumlah 11 residu asam amino dan memiliki ikatan

karbon hidrogen pada asam amino GLN408 dan ILE405.

Transmembrane serine protease 2 (TMPRSS2) adalah protein penting untuk proses infeksi SARS-CoV-2 karena dapat menyebabkan terjadinya aktivasi proteolitik dan masuknya SARS-CoV-2 ke dalam sel *host*¹⁶. TMPRSS2 membelah *spike protein* di beberapa situs termasuk S1/S2 *cleavage site*. TMPRSS2 *inhibitor* menjadi pilihan untuk terapi guna memblokir masuknya virus SARS-CoV-2 pada sel *host*¹⁹. Penelitian ini menggunakan cepharranthine sebagai obat kontrol dari TMPRSS2 yang bekerja sebagai inhibitor dalam perlekatan dan masuknya SARS-CoV-2 dengan sel *host*¹⁷.

A. indica dari penelitian sebelumnya diduga mempunyai potensi sebagai antivirus yang dalam hal ini adalah untuk COVID-19. Hasil penelitian secara *in silico* disimpulkan bahwa semua senyawa aktif *A. indica* memiliki afinitas yang cukup tinggi terhadap TMPRSS2. Senyawa yang memiliki hasil terbaik berdasarkan parameter energi bebas, prosentase residu asam amino dan prosentase ikatan hidrogen adalah nimbin.

Nimbin memiliki nilai energi bebas ΔG -8.8 kkal/mol, nilai prosentase kemiripan residu asam amino 27% dan prosentasi ikatan hidrogen 0% sehingga dapat dikatakan bahwa nimbin mampu berikatan dengan TMPRSS2 namun afinitas lebih rendah dibanding kontrol. Nilai prosentase kemiripan residu asam amino dan kemiripan ikatan hidrogen yang rendah juga menunjukkan bahwa aktivitas nimbin tidak begitu mirip dengan aktivitas cepharranthine dalam menghambat TMPRSS2 dalam perlekatan SARS-CoV-2.

Terdapat senyawa aktif yang memiliki nilai energi bebas tertinggi yaitu 17-hydroxyazadiradione ΔG -9.1 kkal/mol. Nilai prosentase kemiripan residu asam amino dan prosentase kemiripan ikatan hidrogen 17-hydroxyazadiradione 0% dan 0%. hal ini diartikan dapat berikatan dengan baik pada TMPRSS2 meskipun tidak sebaik kontrol. Akan tetapi senyawa tersebut tidak memiliki kemiripan residu asam amino dan ikatan hidrogen sehingga diduga tidak memiliki kemiripan aktivitas dengan kontrol.

Fisikokimia Senyawa Aktif Daun Nimba (*Azadirachta indica*)

Fisikokimia senyawa aktif *A. indica* digunakan parameter *Lipinski's Rules of Five* dengan kriteria berikut ini, massa molekul senyawa kurang dari 500 dalton, nilai lipofilisitas atau LogP kurang dari 5, ikatan hidrogen aseptor (HBA) kurang dari 10, ikatan hidrogen donor (HBD) kurang dari 5. Senyawa akan dikatakan memenuhi aturan *Lipinski's Rules of Five* jika memenuhi minimal 2 dari 4 syarat tersebut¹⁸.

Berat molekul diatas 500 dalton akan sulit berdifusi menembus membrane sel, nilai LogP lebih

dari 5 akan mengakibatkan senyawa memiliki kecenderungan sifat toksisitasnya lebih tinggi karena akan tertahan lebih lama pada lipid bilayer dan membuat selektifitas ikatan pada enzim berkurang karena senyawa terlalu terdistribusi luas di dalam tubuh, sedangkan jumlah aseptor dan donor hidrogen menunjukkan tingginya kapasitas ikatan hidrogen yang berarti semakin tinggi energi yang diperlukan untuk dapat terjadinya proses absorbs¹⁹.

Seluruh senyawa aktif *A. indica* memenuhi kriteria *Lipinski's Rules of Five* termasuk dua senyawa terbaik yaitu quercetin dan nimbin. Sehingga dapat disimpulkan bahwa senyawa-senyawa tersebut memiliki kelarutan yang tinggi dan bioavailabilitas yang tinggi jika diberikan secara oral.

Farmakokinetik dan Toksisitas Senyawa Aktif Daun Nimba (*Azadirachta indica*)

Uji farmakokinetik senyawa aktif *A. indica* menggunakan profil absorpsi dengan parameter absorbs intestinal, profil distribusi menggunakan parameter *Volume Distribution Steady State* (VDSS) dan *Blood Brain Barrier* (BBB), profil metabolisme menggunakan parameter CYP2D6 *inhibitor* dan CYP3A4 *inhibitor*, profil ekskresi menggunakan parameter *total clearance* (CLTOT) serta profil toksisitas menggunakan parameter LD50.

Pada profil absorpsi dengan parameter absorpsi intestinal didapatkan bahwa dua senyawa terbaik quercetin dan nimbin memiliki nilai absorpsi intestinal lebih dari 30%. Nimbin memiliki nilai absorpsi yang lebih baik dibanding quercetin yaitu 100% sedangkan untuk quercetin memiliki nilai absorpsi sebesar 77%. Untuk dapat dikatakan suatu senyawa dapat terserap baik oleh intestinal manusia, nilai parameter absorpsi intestinal harus lebih dari 30%²⁰. Sehingga yang dapat disimpulkan bahwa kedua senyawa tersebut dapat diserap oleh intestinal manusia²⁰.

Profil distribusi menggunakan parameter *volume distribution steady state* (VDSS) yang menggambarkan jumlah dosis dari sebuah obat yang perlu didistribusikan untuk mencapai konsentrasi yang sama di dalam plasma darah. VDSS akan dikatakan tinggi jika berada di atas 0.45 dan dikatakan rendah jika berada di bawah -0.15. Hasil penelitian menunjukkan quercetin memiliki nilai logVDSS 1.55 LogL/Kg sedangkan nimbin memiliki nilai VDSS yang cukup rendah yaitu -0.19 LogL/Kg. Hal ini menunjukkan bahwa nimbin kurang dapat terdistribusi dengan baik. Parameter profil distribusi selanjutnya adalah *Blood Brain Barrier* (BBB) yang menunjukkan konsentrasi senyawa yang dapat menembus sawar otak. Suatu senyawa dapat dikatakan menembus sawar otak jika nilai logBBB lebih dari 0.3 dan dikatakan tidak dapat menembus sawar otak jika logBBB kurang dari -1. Dari kedua senyawa aktif quercetin dan nimbin hanya quercetin yang memiliki nilai logBBB

>-1 sehingga diduga tidak dapat menembus sawar otak dan tidak bersifat neurogenik.

Profil metabolisme dilihat dari parameter CYP2D6 *inhibitor* dan CYP3A4 *inhibitor*. Jika ditemukan CYP2D6 *inhibitor* dan CYP3A4 *inhibitor* dapat dikatakan bahwa tidak terjadi proses oksidasi pada hepar sehingga senyawa tidak akan diinaktivasi dan akan menjadi terus aktif sehingga menyebabkan senyawa tersebut menjadi toksik. Dari hasil penelitian ini, didapatkan kedua senyawa terbaik *A.indica* tidak memiliki CYP2D6 *inhibitor*, dan CYP3A4 *inhibitor*. Dengan demikian disimpulkan bahwa senyawa quercetin dan nimbin tersebut dapat dimetabolisme dengan baik oleh hepar dan tidak bersifat toksik.

Profil eksresi menggunakan parameter *Total Clearance* (CLTOT) yang menggambarkan proses *clearance* senyawa yang didistribusikan. Semakin tinggi nilai CLTOT maka semakin cepat proses pengeluaran senyawa tersebut. Hasil penelitian menunjukkan bahwa quercetin dan nimbin dieksresi dengan baik.

Profil toksisitas dilihat dari nilai LD50 yang merupakan jumlah senyawa yang diberikan yang dapat menyebabkan kematian pada 50% kelompok hewan uji. Dua senyawa terbaik memiliki nilai LD50 >138,000 gr/kg yang dikategorikan dalam relatif tidak membahayakan berdasarkan klasifikasi toksisitas Loomis²¹.

Dua senyawa di atas berasal dari golongan yang berbeda-beda. quercetin termasuk senyawa golongan flavonoid yang dapat memiliki sifat antivirus, antioksidan, anti-mutagenik dan antiinflamasi serta antikarsinogenik²². Sedangkan senyawa nimbin berasal dari golongan limonoid yang dapat berperan sebagai antimikroba²⁴.

Dari masing-masing parameter didapatkan bahwa quercetin memiliki hasil yang lebih baik karena memenuhi seluruh parameter ADMET.

KESIMPULAN

Berdasarkan ketiga indikator yaitu penambatan molekuler (*molecular docking*) dengan parameter nilai energi bebas dan residu asam amino serta kemiripan ikatan hidrogen, uji sifat fisikokimia berdasarkan parameter hukum Lipinski dan uji sifat farmakokinetik berdasarkan parameter ADMET didapatkan bahwa quercetin merupakan senyawa terbaik dalam menghambat *spike protein* dalam perlekatan SARS-CoV-2.

SARAN

Berdasarkan hasil yang didapatkan dari penelitian ini, ada beberapa saran untuk menunjang penelitian berikutnya. Diperlukan adanya studi lanjutan baik secara *in vitro* maupun *in vivo* untuk mengetahui potensi senyawa aktif *A. indica* dalam mencegah perlekatan SARS-CoV-2.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada dosen pembimbing, dosen penguji seminar hasil dan segala pihak yang telah membantu dan memberikan arahan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Susilo A, Jasirwan C, Wafa S, Maria S, Rajabto W, Muradi A et al. Mutasi dan Varian Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): Tinjauan Literatur Terkini. Jurnal Penyakit Dalam Indonesia. 2022;9(1):59.
2. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Pedoman Pencegahan Dan Pengendalian Coronavirus Disese (Covid-19). 5th ed. Jakarta Selatan: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2020.
3. Wiersinga W, Rhodes A, Cheng A, Peacock S, Prescott H. Pathophysiology, Transmission, Diagnosis, and Treatment of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). JAMA. 2020;324(8):782.
4. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Herrler T, Erichsen S et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. Cell. 2020;181(2):271-280.e8.
5. Glowacka I, Bertram S, Müller M, Allen P, Soilleux E, Pfefferle S et al. Evidence that TMPRSS2 Activates the Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Spike Protein for Membrane Fusion and Reduces Viral Control by the Humoral Immune Response. Journal of Virology. 2011;85(9):4122-4134.
6. Trougakos I, Stamatelopoulos K, Terpos E, Tsitsilonis O, Aivalioti E, Paraskevis D et al. Insights to SARS-CoV-2 life cycle, pathophysiology, and rationalized treatments that target COVID-19 clinical complications. Journal of Biomedical Science. 2021;28(1).
7. Dubey S, Kashyap P. Azadirachta indica: A Plant With Versatile Potential. Rajiv Gandhi University of Health Sciences Journal of Pharmaceutical Sciences. 2014;4(2):39-46.
8. Alzohairy M. Therapeutics Role of Azadirachta indica (Neem) and Their Active Constituents in Diseases Prevention and Treatment. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2016;2016:1-11.
9. Makatita F, Wardhani R, Nuraini. Riset In Silico Dalam Pengembangan Sains Di Bidang Pendidikan, Studi Kasus: Analisis Potensi Cendana Sebagai Agen Anti-Aging. Jurnal Abdi. 2020;2(1):59-67.
10. Dona R, Frimayanti N, Ikhtiarudin I, Iskandar B, Maulana F, Silalahi N. Studi In

- Silico, Sintesis, dan Uji Sitotoksik Senyawa P-Metoksi Kalkon terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*. 2019;6(3):243.
11. Ferreira L, dos Santos R, Oliva G, Andricopulo A. Molecular Docking and Structure-Based Drug Design Strategies. *Molecules*. 2015;20(7):13384-13421.
 12. Pratama MRF. Studi Docking Molekular Senyawa Turunan Kuinolin Terhadap Reseptor Estrogen- α . **J Surya Med**. 2016;2(1):1-7. doi:10.33084/jsm.v2i1.215
 13. Mukesh B, Rakesh K. Molecular Docking: A Review. *International Journal of Research in Ayurveda & Pharmacy*. 2011;2 (6):1746-1751.
 14. Saputri K, Fakhmi N, Kusumaningtyas E, Priyatama D, Santoso B. Docking Molekular Potensi Anti Diabetes Melitus Tipe 2 Turunan Zerumbon Sebagai Inhibitor Aldosa Reduktase Dengan Autodock-Vina. *Chimica Et Natura Acta*. 2016;4(1):16-20.
 15. Wang M, Zhao R, Gao L, Gao X, Wang D, Cao J. SARS-CoV-2: Structure, Biology, and Structure-Based Therapeutics Development. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2020;10.
 16. Wang G, Shi L, Ren Y, Liu Q, Liu H, Zhang R et al. Anti-hepatitis B virus activity of chlorogenic acid, quinic acid and caffeic acid in vivo and in vitro. *Antiviral Research*. 2009;83(2):186-190.
 17. Abbasi A, Kiyani D, Hamid S, Saalim M, Fahim A, Jalal N. Spiking dependence of SARS-CoV-2 pathogenicity on TMPRSS2. *Journal of Medical Virology*. 2021;93(7):4205-4218.
 18. Li S, Liu W, Chen Y, Wang L, An W, An X et al. Transcriptome analysis of cepharanthine against a SARS-CoV-2-related coronavirus. *Briefings in Bioinformatics*. 2021;22(2):1378-1386.
 19. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Herrler T, Erichsen S et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*. 2020;181(2):271-280.e8.
 20. La Kilo A, Aman L, Sabihi I, La Kilo J. Studi Potensi Pirazolin Tersubstitusi 1-N dari Thiosemicarbazon sebagai Agen Antiamuba melalui Uji In Silico. *Indo J Chem Res*. 2019;7(1):9-24.
 21. Han Y, Zhang J, Hu C, Zhang X, Ma B, Zhang P. In silico ADME and Toxicity Prediction of Ceftazidime and Its Impurities. *Frontiers in Pharmacology*. 2019;10.
 22. Loomis dan Hayes. *Loomis's Essentials of Toxicology*. Fourth Edition. London: Academic Press, inc. 1996;805
 23. Handayani R, Muchlis F. Review: Manfaat Asam Klorogenat Dari Biji Kopi (Coffea) Sebagai Bahan Baku Kosmetik. *Fitofarmaka: Jurnal Ilmiah Farmasi*. 2021;11(1):43-50.