

STUDI IN SILICO : POTENSI SENYAWA AKTIF DAUN NIMBA (*Azadirachta indica*) SEBAGAI ANTIVIRAL TERHADAP SARS-COV-2

Annisa Isfadhila Masduki, Andri Tilaqza, Dini Sri Damayanti*
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: Terdapat senyawa aktif yang dapat berperan sebagai anti virus pada SARS-CoV-2 salah satunya terdapat pada Daun nimba atau *Azadirachta indica*. RNA-dependent RNA-polymerase (RdRp) dan Main protease (Mpro) merupakan protein penting dalam replikasi SARS-CoV-2. Namun screening senyawa aktif yang menghambat RdRp dan Mpro terhadap SARS-CoV-2 belum dilakukan pada daun nimba sehingga perlunya dilakukan penelitian ini untuk mengetahui tingkat aktivitasnya yang dilakukan menggunakan *in silico*.

Metode: Penelitian menggunakan metode *in silico* dengan aplikasi Autodock Tools versi 1.5.6 untuk menilai Penghambatan (inhibisi) kontanta serta eargi ikatan. Didapatkan Senyawa aktif *A. indica* didapatkan dari jurnal penelitian dan database Dr. Duke sedangkan protein target RdRp (ID:7BV2) dan Mpro (ID:7NBR) didapatkan dari website Protein Data Bank dengan native ligand Remdesivir dan Boceprevir. Visualisasi ikatan residu asam amino dilakukan dengan BIOVIA Discovery Studio sedangkan pada uji prediksi menggunakan fisikokimia, farmakokinetik dan toksisitas dengan pkCSM.

Hasil: Daun nimba memiliki senyawa aktif dengan afinitas terbaik terhadap RdRp yaitu Quercitrin (ΔG -5,70 kkal/mol, 66,77 μ M, 80%), Myricetin (ΔG -5,82 kkal/mol, 54,56 μ M, 20%), Hyperoside (ΔG -5,75 kkal/mol, 61,16 μ M, 20%), dan Isomargolonone (ΔG -6,41 kkal/mol, 20,08 μ M, 20%). Sedangkan yang memiliki afinitas terbaik terhadap Mpro yaitu Rutin (ΔG -7,68 kkal/mol, 2,34 μ M, 55,6%), Hyperoside (ΔG -7,06 kkal/mol, 6,71 μ M, 44,4%), Quercitrin (ΔG -8,17 kkal/mol, 1,02 μ M, 33,3%) dan Isomargolonone (ΔG -7,75 kkal/mol, 2,10 μ M, 33,3%). Hasil pkCSM menunjukkan bahwa Myricetin dan Isomargolonone memenuhi kriteria Lipinski dan ADMET.

Kesimpulan: Senyawa aktif daun Quercitrin, Myricetin, Hyperoside, Rutin dan Isomargolonone memiliki potensi sebagai antivirus dalam mencegah replikasi atau penggandaan SARS-CoV-2.

Kata Kunci : Antiviral; SARS-CoV-2; COVID-19 ; *Azadirachta indica*; metode *in silico*; RdRp; Mpro.

*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

STUDY IN SILICO : POTENTIAL OF ACTIVE COMPOUNDS OF NIMBA LEAVES (*Azadirachta indica*) AS AN ANTIVIRAL OF SARS-COV-2

Annisa Isfadhila Masduki, Andri Tilaqza, Dini Sri Damayanti*
Faculty of Medicine University of Islam Malang

ABSTRACT

Introduction: Neem leaves (*Azadirachta indica*) contain various active compounds that have potential as antiviral against SARS-CoV-2. Mpro and RdRp are proteins that important for the SARS-CoV-2 replication process. However, the screening of the active compounds of neem leaves in inhibiting RdRp and Mpro against SARS-CoV-2 is unknown, so it is necessary to conduct research to determine its activity.

Method: This research was conducted using *in silico* method by the Autodock Tools 1.5.6 version in determining free bond energy and inhibition constants. The active compounds of *A. indica* leaves were obtained from research journals and databases of Dr. Duke while the target proteins RdRp (ID:7BV2) and Mpro (ID:7NBR) were obtained from the Protein Data Bank website with Remdesivir and Boceprevir as native ligand. The binding similarity of amino acid residues were visualized by BIOVIA Discovery Studio while physicochemical, pharmacokinetic and toxicity values were predicted by pkCSM.

Results: The active compounds in *Azadirachta indica* leaves that have good affinity for RdRp are Quercitrin (ΔG -5,70 kkal/mol, 66,77 μ M, 80%), Myricetin (ΔG -5,82 kkal/mol, 54,56 μ M, 20%), Hyperoside (ΔG -5,75 kkal/mol, 61,16 μ M, 20%), and Isomargolonone (ΔG -6,41 kkal/mol, 20,08 μ M, 20%). While the active compounds that have good affinity for the Mpro are Rutin (ΔG -7,68 kkal/mol, 2,34 μ M, 55,6%), Hyperoside (ΔG -7,06 kkal/mol, 6,71 μ M, 44,4%), Quercitrin (ΔG -8,17 kkal/mol, 1,02 μ M, 33,3%) and Isomargolonone (ΔG -7,75 kkal/mol, 2,10 μ M, 33,3%). The pkCSM values showed that Myricetin and Isomargolonone have good ADMET result and Lipinski's criteria.

Conclusion: The active compound of Quercitrin, Myricetin, Hyperoside, Rutin and Isomargolonone has potential as an antiviral by preventing the replication process of SARS-CoV-2.

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

*Correspondence:

Dini Sri Damayanti

Faculty of Medicine, University of Islam Malang

PENDAHULUAN

Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 atau yang lebih dikenal dengan SARS – CoV – 2 adalah novel coronavirus yang mengakibatkan pada penyakit sistem pernapasan yaitu *Coronavirus disease 2019* atau COVID – 19. Pandemi covid-19 ditetapkan pada bulan maret 2020 oleh WHO (world health organization). Setelah pertama kali ditemui pada pasien dengan pneumonia di Wuhan, Hubei, China, bulan Desember 2019¹. Pengobatan pada pasien COVID-19 sendiri dilakukan dengan pengobatan simptomatis dan pada kasus berat dibantu dengan alat ventilasi. Beberapa obat yang digunakan dalam pengobatan COVID-19 antara lain remdesivir, lopinavir, ribavirin, tocilizumab, dan beberapa obat lainnya yang digunakan sebagai pengobatan COVID-19². Dalam pengobatannya, masyarakat mencari alternatif tanaman herbal sebagai terapi tambahan pada pengobatan COVID-19. Tanaman herbal sendiri banyak dilaporkan memiliki efek terapeutik atau farmakologi terhadap manusia atau mamalia lainnya³. Beberapa diantaranya memiliki efek sebagai antivirus salah satunya adalah *Azadirachta indica* juga dilaporkan memiliki efek antiviral terhadap *Human coxsackieviruses B4*³.

Azadirachta indica atau Nimba, yang banyak ditemukan di Bali, Lombok, Subang, dan Pantai Utara Jawa Timur, memiliki manfaat terapeutik pada suatu penyakit dan kandungan senyawa dari daun nimba sering digunakan untuk mengobati berbagai macam penyakit⁴. Beberapa kandungan senyawa aktif daun nimba seperti *nimbin* ; *nimbandiol* ; *nimbolide* ; *kaempferol* ; *6-deacetylnimbin* ; *gedunin* ; dan *myricetin* dilaporkan dapat berperan sebagai antivirus secara *in silico*. Studi lain menunjukkan bahwa ekstrak daun nimba dapat menghambat siklus replikasi dan aktivasi virus pada *coxsackievirus B-4* dan efektif terhadap virus HIV, cacar dan polio⁵. Daun nimba juga dilaporkan memiliki efek antivirus terhadap herpes simplex virus dan dengue secara *in vivo*.

Penelitian terhadap aktivitas antiviral dari Tanaman Nimba terus dilakukan. Pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas mekanisme dari senyawa aktif yang terdapat daun nimba sebagai antivirus terhadap SARS-CoV-2. Pada penelitian ini menggunakan studi *in silico* untuk melihat potensi daun nimba sebagai antivirus adalah studi *in silico*. Metode ini dilakukan dengan cara menambahkan senyawa aktif pada daun nimba *RNA-dependent RNA polymerase* dan *Main protease* yang berperan sebagai *drug target* dari obat kontrol Remdesivir dan Boceprevir. RdRp dan Mpro sendiri adalah protein yang berperan pada proses replikasi virus. Kedua protein tersebut merupakan target utama untuk obat antiviral terhadap SARS-CoV-2⁶. RdRp

dan Mpro sendiri juga diketahui sebagai komponen virus yang tidak mengalami mutasi. Sedangkan prediksi fisikokimia, farmokinetik serta toksisitas daun Nimba apabila diberikan melalui rute oral memakai *software PkCSM Online Tools*.

METODE PENELITIAN

Desain & Waktu Penelitian

Desain penelitian yang digunakan ada penelitian ini adalah *in silico* atau pemodelan secara komputasi (*molecular docking*) untuk mengetahui afinitas dari *docking molecular* senyawa aktif yang terdapat pada daun nimba terhadap protein RdRp dan Mpro, sifat fisikokimia, farmakokinetik, dan toksisitas senyawa aktif daun nimba dalam mencegah replikasi SARS-CoV-2. Proses uji *molecular docking* ini dilaksanakan di Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang pada bulan September 2023.

Alat & Bahan

Pada penelitian ini Alat yang digunakan adalah unit komputer yang memiliki *processor Intel® Core™ i5*, CPU @ 2.4 GHz, RAM 8GB, Windows 10 Ultimate 64-bit, Website Pubchem Compound (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>), Website Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>), Website Online SMILES Translator (<https://cactus.nci.nih.gov/translate/>), Software Autodock Tools 1.5.6, BIOVIA Discovery Studio Visualizer, Website *pkCSM online tool* (<http://biosig.uni-elb.edu.au/pkcsml/prediction>).

Website Pubchem Compound yang tertera pada (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) digunakan untuk melihat senyawa aktif untuk melihat struktur 3D yang terdapat pada daun nimba. Hasil dari website tersebut akan diubah menjadi format pdb dengan memakai *website SMILES translator* (<https://cactus.nci.nih.gov/translate/>). Sedangkan struktur 3D pada protein RdRp (Kode: 7BV2) dan Mpro (Kode: 7NBR) di-download melalui website Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>).

Uji Prediction of Activity Spectra of Substances (PASS) Senyawa Aktif Daun Nimba

Sebelum dilakukan penambahan molekul senyawa aktif daun nimba dengan protein target, perlu dilakukan screening terhadap aktivitas biologi dari senyawa aktif daun nimba menggunakan website PASS Online (<http://www.way2drug.com/pasonline/predict.php>). Dari daftar aktivitas biologi yang ditampilkan, dipilih aktivitas senyawa aktif tersebut sebagai antiviral, RNA-dependent RNA polymerase inhibitor, dan 3C-like protease (human coronavirus) inhibitor dengan nilai *probable activity* > 0,3.

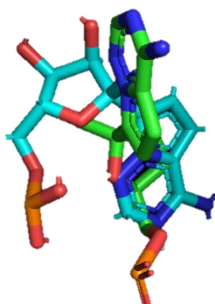
Uji Prediksi Sifat Fisikokimia, Farmakokinetik, dan Toksisitas Senyawa Aktif Daun Nimba (*Azadirachta indica*)

Prediksi pada unsur sifat fisikokimia, farmakokinetik, dan toksisitas pada senyawa aktif daun nimba (*A. indica*) dilakukan pada web pkCSM. Untuk mengetahui sifat fisikokimia yang terdapat pada senyawa aktif daun nimba diketahui melalui nilai dari Hukum Lima *Lipinski's* antara lain berat molekul, nilai LogP, jumlah ikatan HBA dan HBD, sedangkan prediksi farmakokinetik serta toksisitas meliputi absorpsi menggunakan parameter nilai absorpsi intestinal, distribusi menggunakan nilai *Volume Distribution at Steady State* (VDss) dan *Blood Brain Barrier* (BBB), metabolisme menggunakan *inhibitor* CYP2D6 dan CYP3A4, Ekskresi dengan nilai *Total Clearance* (CLTOT), serta Toksisitas menggunakan hepatotoksisitas.

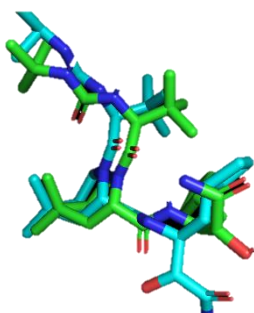
Uji Validasi Metode *Molecular Docking*

Sebelum dilakukannya uji *molecular docking*, uji validasi antara protein dengan *native ligand* terlebih dahulu dilakukan dengan menggunakan *software* pymoL dan RMSD (*Root Mean Square Deviation*) sebagai nilai uji. Uji validasi RMSD dapat dikatakan baik apabila $\leq 2 \text{ \AA}$, dapat diterima apabila 2,0 sampai 3,0 $\text{ \AA}$, serta buruk apabila $\geq 3 \text{ \AA}$.

Hasil validitas antara reseptor RdRp dengan Remdesivir mendapatkan nilai RMSD 2,13 $\text{ \AA}$, sementara hasil dari validitas antara Mpro dengan Boceprevir didapatkan nilai RMSD 2,27 $\text{ \AA}$.



Gambar 1 Hasil Validasi RdRp dengan Remdesivir



Gambar 2 Hasil Validasi Mpro dengan Boceprevir

 Pra Docking
 Re-Docking

Molecular Docking Senyawa Aktif Daun *Azadirachta indica* terhadap RdRp dan Mpro

Proses preparasi ligan dan protein merupakan tahap awal sebelum *molecular docking*. Hasil dari ligan yang sudah diunduh dengan *website Pubchem*. Format ligan berbentuk sdf diubah menjadi PDB dengan *website SMILES Translator*. Ligand yang sudah dalam format PDB kemudian dipreparasi dengan Autodock Tools lalu disimpan dalam format pdbqt. Pada protein target, dilakukan pemisahan antara protein dan ligan asli serta penghapusan molekul-molekul yang tidak diperlukan. Selanjutnya, atom hidrogen polar ditambahkan menggunakan Autodock Tools dan hasilnya disimpan dalam format pdbqt. Setelah itu dilakukan pengaturan ukuran *grid box* berdasarkan *size* sumbu x,y,z (nx,ny,nz) dan *center* sumbu x,y,z (cx,cy,cz) dari *native ligand*. **Tabel 1. Ukuran *Grid Box***

	RdRp	Mpro
Size x (nx)	40	40
Size y (ny)	40	40
Size z (nz)	40	40
Center x (cx)	91.936	-14.398
Center y (cy)	91.417	-25.25
Center z (cz)	104.7	0.602

Pengaturan *gridbox* yang ditampilkan pada **Tabel 1** dilakukan untuk menentukan wilayah penambatan ligan lebih spesifik terhadap protein.

Proses selanjutnya menggunakan perangkat lunak Autodock Tools yang bertujuan untuk penambatan pada molekul, pada proses ini memerlukan protein dan ligan dalam bentuk format pdbqt. Hasil dari penambatan molekul akan disajikan dalam file .dlg yang berisi informasi tentang afinitas penambatan molekul. Visualisasi dari hasil penambatan molekul menggunakan BIOVIA Discovery Studio Visualizer. Didapatkan nilai energi ikatan bebas (ΔG) serta konstanta inhibisi (K_i) merupakan dari hasil penambatan molekul, yang kemudian akan dibandingkan dengan *native ligand* dan dianalisis. Semakin negatif nilai ΔG maka menunjukkan kompleks reseptor dan ligan semakin stabil. Pada residu asam amino, apabila presentase persamaan residu asam amino senyawa aktif dengan *native ligand* menunjukkan kemungkinan memiliki aktivitas yang mirip dengan kontrol.

HASIL PENELITIAN

Hasil Uji *Molecular Docking*

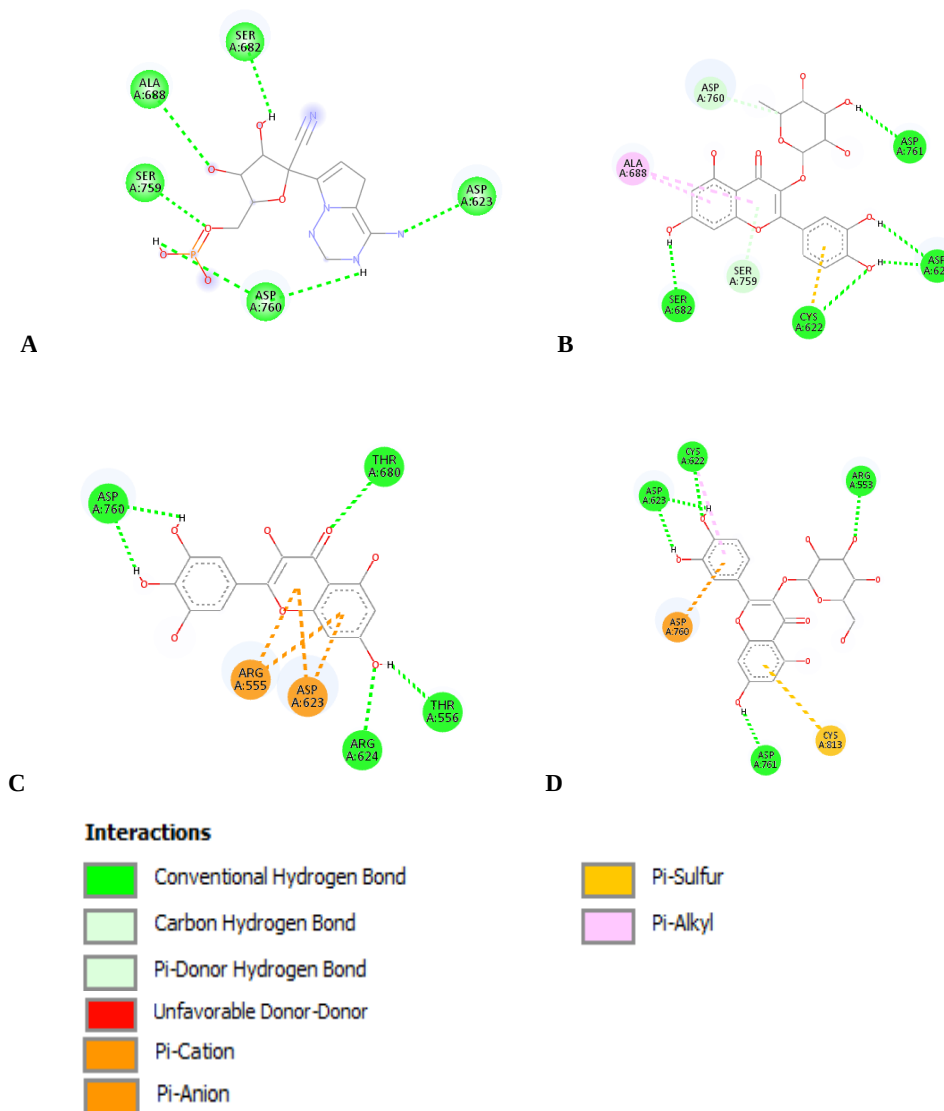
Hasil *docking molecular* senyawa aktif dari daun *Azadirachta indica* terhadap RdRp dan Mpro tertera pada **Tabel 2** dan **Tabel 3**.

Dari hasil penelitian yang tertera pada **Tabel 2**, diketahui bahwa penambatan antara *native ligand* Remdesivir terhadap RdRp menghasilkan ΔG

sebesar -5,09 kkal/mol, nilai K_i sebesar 186,66 μM , dan menghasilkan 5 residu asam amino, yaitu SER682, ASP623, ASP760, SER759, dan ALA688. Selanjutnya, hasil ini dibandingkan dengan penambatan antara native ligand Remdesivir terhadap RdRp dengan ligan senyawa aktif dari daun nimba terhadap RdRp.

Berdasarkan nilai ΔG , K_i dan presentase pada persamaan residu asam amino hasil yang didapat bahwa dari 20 senyawa didapatkan 4 macam

senyawa terbaik yaitu, *quercitrin*, *myricetin*, *hyperoside* dan *isomargolonone*, hal ini tertera pada **Gambar 1**. Pada senyawa tersebut memiliki hasil dengan nilai ΔG berurutan yaitu -5,70 kkal/mol, -5,82 kkal/mol, -5,75 kkal/mol dan -6,41 kkal/mol, nilai konstanta inhibisi 66,77 μM , 54,56 μM , 61,16 μM dan 20,08 μM , serta memiliki nilai persamaan residu asam amino dengan kontrol yaitu sebesar 80% dan 20%.



Gambar 1. interaksi RdRp (A); Interaksi Remdesivir; (B) Interaksi Quercitrin; (C) Interaksi Myricetin; (D) Interaksi Hyperoside;

Tabel 2 Hasil Penambatan Senyawa Aktif Daun Nimba (*Azadirachta indica*) dan Remdesivir terhadap RdRp

No	Ligan	Energi Ikatan Bebas (kkal/mol)	Konstanta Inhibisi (μM)	Residu Asam Amino	Persamaan Residu Asam Amino
1	Remdesivir (kontrol)	-5,09	186,66	Conventional Hydrogen Bond : SER682, ASP623, ASP760, SER759, ALA688	-
2	Gedunin	-6,48	11,68	Conventional Hydrogen Bond : ARG555, TYR619; Pi-Alkyl : LEU758, ALA688	0%

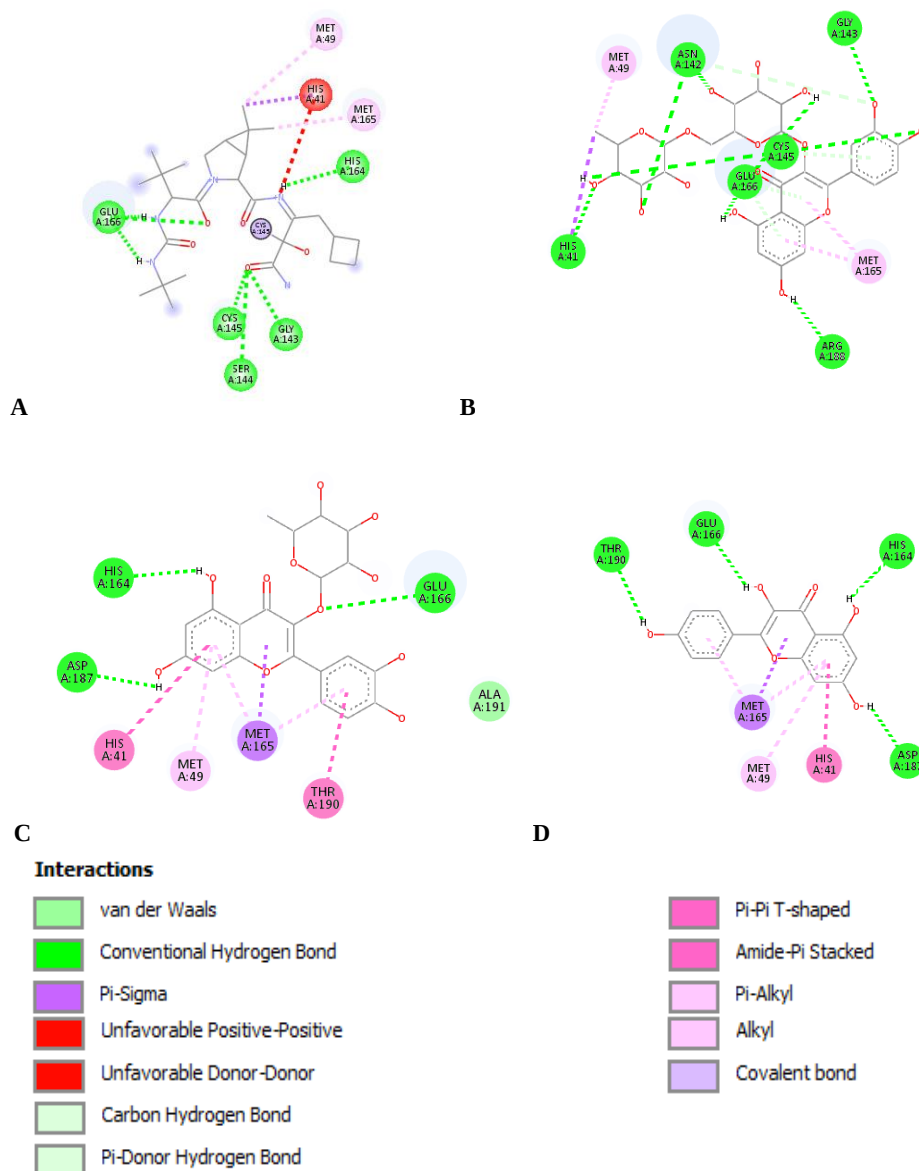
3	Isomargolonone	-6,41	20,08	Conventional Hydrogen Bond : ASP623 , ARG553, THR680; Unfavorable donor-donor : ARG624; Pi-Cation : ARG555; Alkyl : CYS622	20%
4	Margolonone	-6,38	21,07	Conventional Hydrogen Bond : THR556, ARG553, CYS622; Pi-Cation : ARG555, ASP623	0%
5	Kaempferol	-6,21	28,18	Conventional Hydrogen Bond : THR680, ARG555, ARG624, THR556; Pi-Cation : ASP623	0%
6	Myricetin	-5,82	54,56	Conventional hydrogen bond : ARG624, THR556, ASP760 , THR680 ; Pi-Cation : ARG555, ASP623	20%
7	Hyperoside	-5,75	61,16	Coventional hydrogen bond : ASP761, ARG553, CYS622, ASP623 ; Pi-Anion : ASP760 ; Pi-Sulfur : CYS813	20%
8	Quercitrin	-5,70	66,77	Conventional hydrogen bond : ASP761, ASP623 , CYS622, SER682 ; Carbon hydrogen bond : SER759 , ASP760 ; Pi-Alkyl : ALA688	80%
9	Nimbiol	-5,66	71,44	Conventional hydrogen bond : ASP452, THR556 ; Pi-Cation : ARG555, ASP623	0%
10	Terpinene-4-ol	-4,97	288,76	Conventional hydrogen bond : THR556	0%
11	Rutin	-4,69	362,72	Conventional hydrogen bond : SER759 , ASN691, ASP760 , ASP623 , ARG555	80%
12	α -Terpinene	-4,68	370,42	Pi-Sigma : SER682 ; Pi-Anion : ASP623 ; Alkyl : MET542, ALA558	0%
13	Hexadrofarnesyl acetone	-4,51	491,71	Conventional hydrogen bond : ARG553 ; Alkyl : CYS622	0%
14	m-Toluylaldehyde	-4,37	622,01	Conventional hydrogen bond : ARG624, THR556 ; Pi-Anion : ASP623 ; Pi-Sulfur : MET542	20%
15	4-cymene	-4,36	632,79	Pi-Anion : ASP623 ; Alkyl : MET542	0%
16	2,6,10,14-tetramethylpentadecane	-4,16	898,2	Alkyl : CYS622, MET542	0%
17	Phytol	-4,00	1170	Conventional hydrogen bond : ASP760 ; Alkyl : ALA688, LEU758	20%
18	Methyl-14-methylpentadecanoate	-3,84	1530	Conventional hydrogen bond : ARG624, ARG553 ; Carbon hydrogen bond : ASP623 ; Alkyl : CYS622	20%
19	Methyl isoheptadecanoate	-3,71	1900	Carbon hydrogen bond : ASP452, ALA554 ; Alkyl : ARG555, ALA688	0%
20	2-ethyl-5-methylfuran	-3,53	2580	Conventional hydrogen bond : ARG624 ; Pi-Cation : ARG555, ASP623	0%
21	1-tridecene	-3,21	4420	Alkyl : CYS622, MET542, ALA558	0%

Keterangan: Penambatan senyawa aktif dari daun nimba terhadap RdRp juga menunjukkan nilai ΔG , K_i , dan presentase persamaan residu asam amino yang dihasilkan. Residu asam amino yang ditebalkan dianggap memiliki kesamaan dengan *native ligand* Remdesivir.

Berdasarkan hasil penelitian yang terdapat dalam **Tabel 3**, diperoleh informasi bahwa penambatan antara *native ligand* Boceprevir terhadap Mpro menghasilkan nilai ΔG sebesar -10,5 kkal/mol, nilai K_i sebesar 0,02 μM , dan menghasilkan 9 residu asam amino, yaitu SER144, CYS145, GLY143, GLU166, HIS164, MET165, MET49, CYS145, dan HIS41. Hasil ini kemudian dibandingkan dengan penambatan antara Boceprevir terhadap Mpro dengan ligan senyawa aktif dari daun nimba terhadap Mpro. Dari segi ΔG ,

K_i , serta kesamaan residu asam amino, data senyawa terbaik dari 20 senyawa yang diuji adalah *Rutin*, *Hyperoside*, *Quercitrin*, dan *Isomargolonone*, sebagaimana terlihat dalam **Gambar 2**. Keempat senyawa ini memiliki nilai ΔG berturut-turut yaitu -7,68 kkal/mol, -7,06 kkal/mol, -8,17 kkal/mol, dan -7,75 kkal/mol, nilai konstanta inhibisi masing-masing adalah 2,34 μM , 6,71 μM , 1,02 μM , dan 2,10 μM , serta memiliki kesamaan residu asam amino dengan *native ligand* sebesar 55,6%, 44,4%, dan

33,3%, menunjukkan kemiripan dengan native ligand.



Gambar 2. interaksi Mpro; **(A)** Interaksi Boceprevir; **(B)** Interaksi Rutin; **(C)** Interaksi Quercitrin; **(D)** Interaksi Kaempferol;

Tabel 3 Hasil Penambatan Senyawa Aktif Daun Nimba (*Azadirachta indica*) dan Boceprevir terhadap Mpro

No	Ligan	Energi Ikatan Bebas (kkal/mol)	Konstanta Inhibisi (μ M)	Residu Asam Amino	Persamaan Residu Asam Amino
1	Boceprevir (kontrol)	-10,50	0,02	Conventional hydrogen bond : SER144, CYS145, GLY143, GLU166, HIS164 ; Alkyl : MET165, MET49 ; Covalent bond : CYS145 ; Unfavorable donor-donor : HIS41	-
2	Gedunin	-8,45	0,64	Conventional hydrogen bond : GLY143 , ARG188 ; Pi-Lone Pair : GLU166	11,1%
3	Quercitrin	-8,17	1,02	Van der Waals : ALA191 ; Conventional hydrogen bond : HIS164 , ASP187, GLU166 ; Pi-Sigma : MET165 ; Pi-Alkyl : MET49 ; Pi-Pi T-Shaped : HIS41, THR190	33,3%
4	Isomargolonone	-7,75	2,10	Conventional hydrogen bond : GLY143 , LEU141, CYS145 , GLU166	33,3%

5	Rutin	-7,68	2,34	Conventional hydrogen bond : HIS41, ASN142, GLY143, CYS145, GLU166 , ARN188 ; Alkyl : MET49, MET165	55,6%
6	Kaempferol	-7,56	2,90	Conventional hydrogen bond : THR190, GLU166, HIS164 , ASP187 ; Pi-Alkyl : MET49 ; Pi-Pi T-Shaped : HIS41 ; Pi-Sigma : MET165 ;	33,3%
7	Nimbiol	-7,08	6,42	Conventional hydrogen bond : GLU166 , THR190 ; Pi-Sigma : HIS41 ; Alkyl : MET49, MET165, PRO168	33,3%
8	Hyperoside	-7,06	6,71	Conventional hydrogen bond : GLU166 , HIS163, SER144, LEU141, GLY143 ; Pi-Alkyl : MET49, MET165 ; Pi-Donor Hydrogen Bond : CYS145 ; Pi-Pi T-Shaped : HIS41	44,4%
9	Myricetin	-7,03	7,00	Conventional hydrogen bond : CYS145 , PHE140, LEU141, GLU166 ; Pi-Sigma : MET165 ; Unfavorable donor-donor : SER144 ; Carbon hydrogen bond : HIS172	22,2%
10	Margolonone	-6,95	8,01	Conventional hydrogen bond : HIS163, PHE140 ; Carbon hydrogen bond : HIS172 ; Pi-Alkyl : CYS145	11,1%
11	Phytol	-5,87	49,70	Conventional hydrogen bond : PHE140, GLU166 ; Pi-Sigma : HIS41 ; Alkyl : MET49, MET165, CYS145, HIS163	33,3%
12	2,6,10,14-tetramethylpentadecane	-5,80	56,01	Pi-Sigma : HIS41 ; Alkyl : MET165, MET49, CYS145, HIS163	22,2%
13	Hexadrofarnesyl acetone	-5,74	61,71	Conventional hydrogen bond : HIS163 ; Pi-Sigma : HIS41 ; Alkyl : MET49, MET165	22,2%
14	α -terpinene	-5,28	134,06	Van Der Waals : GLN189 ; Amide-Pi Stacked : ARG188 ; Pi-Sulfur : MET165, MET49 ; Pi-Sigma : HIS41 ;	0%
15	Methyl isoheptadecanoate	-5,13	174,54	Conventional hydrogen bond : HIS163 ; Alkyl : CYS145, MET165, HIS41, MET49 ; Carbon hydrogen bond : HIS172, SER144	33,3%
16	Methyl-14-methylpentadecanoate	-5,05	199,17	Alkyl : MET165, MET49, CYS145, HIS163	22,2%
17	Terpinene-4-ol	-4,96	207,81	Conventional hydrogen bond : GLN192, ARG188 ; Alkyl : MET165	11,1%
18	m-Toluyaldehyde	-4,96	230,50	Van der Waals : ARG188 ; Conventional hydrogen bond : HIS164, HIS41 ; Pi-Alkyl : MET49, MET165 ; Pi-Pi T-Shaped : ASP187	33,3%
19	4-cymene	-4,58	241,23	Van der Waals : GLN189 ; Pi-Sulfur : MET49 ; Pi-Sigma : HIS41 ; Alkyl : MET165 ; Amide-Pi Stacked : ARG188	11,1%
20	1-tridecene	-4,23	436,78	Alkyl : MET49, HIS41, MET165, PRO52, LEU167	22,2%
21	2-ethyl-5-methylfuran	-4,23	796,42	Pi-Sigma : HIS41 ; Alkyl : PRO52, MET49, MET165	22,2%

Keterangan: Penambatan senyawa aktif dari daun nimba terhadap Mpro juga menunjukkan nilai ΔG , K_i , dan presentase persamaan residu asam amino yang dihasilkan. Residu asam amino yang ditebalkan dianggap memiliki kesamaan dengan *native ligand* Boceprevir.

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

Evaluasi kandidat obat dilakukan dengan menganalisis sifat kemiripan obat (*drug likeness*). Evaluasi ini dilakukan dengan menggunakan Hukum Lima *Lipinski's*, yaitu suatu aturan yang digunakan untuk mengetahui prediksi suatu senyawa dengan Tabel 4 Hasil Uji Prediksi Sifat Fisikokimia Senyawa Aktif Daun Nimba Berdasarkan *Lipinski's Rule of Five*

No	Nama Senyawa	Rumus Kimia	Parameter <i>Lipinski Rule of Five</i>				Pemenuhan Parameter <i>Lipinski</i>
			BM	LogP	HBA	HBD	
1	Nimbiol	C ₁₈ H ₂₄ O ₂	272.338	4.37102	2	1	Memenuhi
2	Kaempferol	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	286.239	2.2824	6	4	Memenuhi

aktivitas farmakologi & biologi tertentu dapat digunakan sebagai obat oral pada manusia. Hukum *Lipinski's* memiliki kriteria yang meliputi berat molekul tidak lebih dari 500 Da, LogP <5, jumlah HBA (*hydrogen bond acceptor*) < 10, dan jumlah HBD (*hydrogen bond donor*) < 5. Hasil uji prediksi sifat fisikokimia dari senyawa aktif yang berasal dari daun nimba dapat ditemukan dalam Tabel 4.

3	Gedunin	C ₂₈ H ₃₄ O ₇	482.573	4.5607	7	0	Memenuhi
4	Myricetin	C ₁₅ H ₁₀ O ₈	318.237	1.6936	8	6	Memenuhi
5	Rutin	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	610.521	-1.6871	16	10	Tidak memenuhi
6	Hyperoside	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	464.379	-0.5389	12	8	Tidak memenuhi
7	Quercitrin	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	448.38	0.4887	11	7	Tidak memenuhi
8	Margolonone	C ₁₉ H ₂₂ O ₄	314.381	3.54262	3	1	Memenuhi
9	Phytol	C ₂₀ H ₄₀ O	296.539	6.3641	1	1	Memenuhi
10	Isomargolonone	C ₁₉ H ₂₂ O ₄	314.381	3.54262	3	1	Memenuhi
11	4-cymene	C ₁₀ H ₁₄	134.222	3.11842	0	0	Memenuhi
12	α -Terpinene	C ₁₀ H ₁₆	136.238	3.3089	0	0	Memenuhi
13	Terpinene-4-ol	C ₁₀ H ₁₈ O	154.253	2.5037	1	1	Memenuhi
14	m-Toluyaldehyde	C ₈ H ₈ O	120.151	1.80752	1	0	Memenuhi
15	1-Tridecene	C ₁₃ H ₂₆	182.351	5.0933	0	0	Memenuhi
16	Methyl isoheptadecanoate	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284.484	5.8867	2	0	Memenuhi
17	2,6,10,14-Tetramethylpentadecane	C ₁₉ H ₄₀	268.529	7.0815	0	0	Memenuhi
18	Hexahydrofarnesyl acetone	C ₁₈ H ₃₆ O	268.485	6.0145	1	0	Memenuhi
19	Methyl 14-methylpentadecanoate	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270.457	5.4966	2	0	Memenuhi
20	2-ethyl-5-methylfuran	C ₇ H ₁₀ O	110.156	2.15042	1	0	Memenuhi

Keterangan: Dari senyawa afinitas terbaik terhadap protein target RdRp dan Mpro hanya 2 senyawa yang memiliki kelarutan yang baik yaitu *Myricetin* dan *Isomargolonone*. Sedangkan *Rutin*, *Quercitrin*, dan *Hyperoside* tidak memiliki kelarutan yang rendah sehingga absorpsi akan rendah apabila diberikan peroral.

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

Evaluasi sifat farmakokinetik dan toksisitas senyawa aktif dari daun nimba (*Azadirachta indica*) dilakukan dengan menggunakan metode ADMET (Adsorpsi, Distribusi, Metabolisme, Ekskresi, Toksisitas). Penilaian ini mencakup prediksi karakteristik farmakokinetik seperti absorpsi dengan

parameter nilai absorpsi usus, distribusi dengan nilai BBB (*Blood Brain Barrier*) dan VDss (*Volume Distribution at Steady State*), metabolisme dengan inhibitor CYP3A4 dan CYP2D6, ekskresi dengan nilai CLTOT (*Total Clearance*), serta hepatotoksisitas. Hasil uji sifat farmakokinetik serta toksisitas senyawa aktif dari daun nimba dapat ditemukan dalam **Tabel 5**.

Tabel 5 Hasil Uji Prediksi Sifat Farmakokinetik dan Toksisitas Senyawa Aktif Daun Nimba (*Azadirachta indica*)

Nama Senyawa	Absorpsi	Distribusi		Metabolisme		Ekskresi	Toksisitas
	Absorpsi Intestinal (%)	VDss (LogL/kg)	BBB (LogBB)	CYP2D6 inhibitor	CYP3A4 inhibitor	CLTOT (Logml/min/kg)	Hepato-toksisitas
Nimbiol	91.966	0.748	0.106	No	No	0.689	No
Kaempferol	74.29	1.274	-0.939	No	No	0.477	No
Gedunin	100	0.136	-0.644	No	Yes	0.064	No
Myricetin	65.93	1.317	-1.493	No	No	0.422	No
Rutin	23.446	1.663	-1.899	No	No	-0.369	No
Hyperoside	47.999	1.846	-1.688	No	No	0.394	No
Quercitrin	52.709	1.517	-1.495	No	No	0.364	No
Margolonone	100	-1.409	0.005	No	No	0.797	No
Phytol	90.71	0.468	0.806	No	No	1.686	No
Isomargolonone	100	-1.417	-0.011	No	No	0.798	No
4-cymene	93.544	0.697	0.478	No	No	0.239	No
α -Terpinene	96.219	0.412	0.754	No	No	0.223	No
Terpinene-4-ol	94.014	0.21	0.563	No	No	1.269	No

m-Toluyaldehide	96.258	0.131	0.348	No	No	0.245	No
1-Tridecene	92.552	0.611	0.893	No	No	1.817	No
Methyl isoheptadecanoate	92.137	0.282	0.767	No	No	1.742	No
2,6,10,14-Tetramethylpentadecane	92.269	0.607	0.965	No	No	1.513	No
Hexahydrofarnesyl acetone	93.658	0.501	0.802	No	No	1.52	No
Methyl 14-methylpentadecanoate	92.48	0.284	0.748	No	No	1.708	No
2-ethyl-5-methylfuran	96.775	0.09	0.169	No	No	0.449	No

Keterangan: Dari senyawa afinitas terbaik terhadap protein target RdRp dan Mpro, terdapat 2 senyawa yang memiliki nilai absorpsi >30%, tidak menembus BBB, tidak menghambat metabolisme CYP2D6 dan CYP3A4, diekskresi melalui fungsi ginjal, serta tidak bersifat hepatotoksik adalah myricetin dan isomargolonone.

PEMBAHASAN

Prediksi Sifat Fisikokimia Senyawa Aktif Daun Nimba (*Azadirachta indica*) Berdasarkan *Lipinski's Rule of Five*

Prediksi sifat fisikokimia senyawa aktif daun nimba dilakukan dengan menggunakan parameter Hukum *Lipinski's* berdasarkan ketentuan berat molekul senyawa tidak lebih dari 500 Da, nilai $\text{LogP} < 5$, HBD (*hydrogen bond donor*) < 5 , dan HBA (*hydrogen bond acceptor*) $< 10^{12}$. Apabila massa molekul lebih dari 500 Da akan menyebabkan molekul tersebut sulit menembus membran sel. Jika nilai LogP melebihi 5, senyawa obat cenderung sulit menembus dan tertahan lebih lama di membran lipid bilayer. Jumlah yang tinggi dari ikatan hidrogen aseptor (HBA) dan donor (HBD) dapat menyebabkan penyerapan senyawa obat memerlukan energi yang lebih besar¹³.

Dari 5 senyawa aktif daun nimba yang memiliki afinitas terbaik terhadap protein target RdRp dan Mpro, 2 senyawa memiliki kelarutan yang baik sehingga dapat diberikan peroral sedangkan 3 senyawa diantaranya tidak memenuhi kriteria *Lipinski*. Senyawa-senyawa tersebut yaitu *rutin*, *hyperoside*, dan *quercitrin* yang dapat dikatakan memiliki kelarutan dan bioavailabilitas yang rendah secara oral. Berdasarkan Hukum *Lipinski's*, obat potensial dinilai dapat digunakan sebagai obat oral apabila tidak memiliki lebih dari satu pelanggaran kriteria. Namun, molekul yang memiliki lebih dari satu pelanggaran harus tetap dipertimbangkan lebih lanjut karena diketahui beberapa obat tidak melalui atau memenuhi kriteria *Lipinski*¹².

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

Prediksi sifat farmakokinetik dan toksisitas dari senyawa aktif daun nimba dilakukan dengan menggunakan ADMET (Adsorpsi, Distribusi, Metabolisme, Ekskresi, Toksisitas). Evaluasi ini dilakukan memprediksi karakteristik farmakokinetik dengan penilaian yang meliputi absorpsi dengan parameter nilai absorpsi intestinal, distribusi dengan nilai BBB (*Blood Brain Barrier*) dan VDss (*Volume Distribution at Steady State*) dan metabolisme dengan inhibitor CYP3A4 dan CYP2D6, Ekskresi

dengan nilai CLTOT (*Total Clearance*), serta Toksisitas menggunakan hepatotoksitas.

Absorpsi merupakan suatu proses perpindahan (penyerapan) suatu obat dari ekstrasvaskular ke intravaskular. Profil absorpsi ditentukan dengan nilai absorpsi intestinal harus lebih dari 30% untuk dikatakan suatu senyawa dapat terserap dengan baik oleh intestinal manusia¹⁴. Dari 5 senyawa terbaik, isomargolonone memiliki nilai absorpsi paling baik yaitu dengan nilai 100%. Sehingga dapat disimpulkan bahwa senyawa tersebut dapat terserap dengan baik di intestinal manusia.

Distribusi mengacu pada distribusi senyawa obat melalui beberapa kompartemen pada tubuh. Pada profil distribusi digunakan parameter VDss (*Volume Distribution Study State*) dan BBB (*Blood Brain Barrier*). VDss merupakan jumlah dosis obat yang perlu terdistribusi untuk mencapai konsentrasi yang sama di plasma darah. Nilai $< -0,15$ dikatakan rendah dan tinggi apabila $> 0,45$ ¹⁴. *Quercitrin* memiliki nilai VDss 1,517 LogL/kg. Hal tersebut menunjukkan bahwa *quercitrin* dapat didistribusikan dengan baik sedangkan *isomargolonone* memiliki nilai yang rendah yaitu -1,417 LogL/kg sehingga *isomargolonone* kurang dapat didistribusikan dengan baik. Parameter berikutnya adalah nilai permeabilitas *Blood-Brain Barrier* (BBB), yang mengindikasikan kemampuan suatu obat atau senyawa untuk menembus sawar otak. Suatu senyawa dianggap mampu menembus BBB jika nilai $\log\text{BB} > 0,3$, sementara tidak mampu menembus BBB jika nilai $\log\text{BB} < -1$. *Quercitrin* sendiri memiliki nilai -1,495 $\log\text{BB}$ sehingga diprediksi tidak dapat menembus sawar otak.

Metabolisme adalah suatu biotransformasi dari obat dan senyawa *xenobiotic* yang membantu dalam proses ekskresi. Profil metabolisme ditentukan dengan menggunakan inhibitor CYP2D6 dan CYP3A4 dimana apabila ditemukan inhibitor CYP2D6 dan CYP3A4 dapat mengganggu proses laju metabolisme yang dapat memungkinkan terjadinya toksisitas obat¹⁴. *Quercitrin* dan *isomargolonone* diketahui tidak memiliki inhibitor CYP2D6 dan CYP3A4 sehingga disimpulkan dua senyawa tersebut tidak mengganggu laju metabolisme dan dapat dimetabolisme dengan baik.

Ekskresi merupakan proses pembuangan atau eliminasi senyawa obat yang sebagian besar dilakukan oleh ginjal melalui urin dan dapat pula dibuang melalui kelenjar eksokrin dalam bentuk keringat dan ludah. Profil ekskresi ditentukan melalui parameter CLTOT (*Total Clearance*) yang penting dalam penentuan tingkat dosis untuk mencapai konsentrasi *steady-state* dan berkaitan dengan bioavailabilitas. Hasil penelitian menunjukkan nilai CLTOT *quercitrin*, dan *isomargolonone* yaitu 0.364 Logml/min/kg dan 0.789 Logml/min/kg dimana prediksi kecepatan ekskresi dapat dinilai dari nilai tersebut. Nilai CLTOT yang baik yaitu > 15ml/min/kg, sedang 5-15 ml/min/kg, dan kurang yaitu < 5ml/min/kg.

Toksistas menunjukkan bahwa suatu zat atau senyawa dapat merusak suatu organisme seperti pada sel dan organ sehingga identifikasi awal toksistas menjadi hal yang sangat penting untuk dilakukan. Pada profil toksistas ditentukan menggunakan parameter hepatotoksistas dimana suatu senyawa dapat dikatakan hepatotoksik apabila didapatkan setidaknya satu aktivitas patologis atau mengganggu fungsi fisiologis hepar. Pada pkCSM, hepatotoksistas ditunjukkan dengan hasil kategorikal yaitu ada tidaknya aktivitas patologis tersebut. Berdasarkan hasil dari pkCSM menunjukkan senyawa aktif daun nimba yang diujikan tidak memiliki efek hepatotoksistas.

Penambatan Senyawa Aktif Daun Nimba (*Azadirachta indica*) terhadap RdRp

Pada penelitian Remdesivir merupakan native ligand dari protein RdRp. Pada penelitian sebelumnya disebutkan bahwa remdesivir dapat berikatan dengan RdRp dan menghambat aktivitasnya. Remdesivir sendiri digunakan dalam pengobatan COVID-19 di Italia dan Republik Ceko⁸.

RdRp (*RNA-dependent RNA polymerase*) merupakan enzim yang berperan dalam replikasi SARS-CoV-2. Genom virus bereplikasi dengan bantuan *viral structural complex* yang salah satunya terdiri dari RdRp. Enzim tersebut membantu pembentukan nucleocapsid virus dari genom virus dan mentranslasi struktur protein virus yang terjadi di ERGIC (*endoplasmic reticulum-Golgi intermediate compartment*) yang selanjutnya keluar melalui eksitosis².

Hasil penambatan ini diukur menggunakan parameter energi ikatan bebas (ΔG), konstanta inhibisi (K_i) dan residu asam amino. Dari 20 senyawa aktif daun nimba yang diujikan dengan RdRp menunjukkan beberapa senyawa memiliki nilai afinitas yang lebih baik dibandingkan Remdesivir yaitu Quercitrin, Myricetin, Hyperoside, dan Isomargolonone. Keempat senyawa tersebut memiliki nilai ΔG dan K_i yang lebih rendah dari Remdesivir sebagai *native ligand* yang menunjukkan bahwa senyawa tersebut mampu berikatan dengan lebih baik dibandingkan kontrol. Semakin stabil interaksi ligan-reseptor tersebut

maka semakin rendah nilai ΔG , semakin kuat dan stabil ikatan kompleks ligan-reseptor maka semakin rendah nilai K_i sehingga menghasilkan aktivitas penghambatan⁹. Dari hasil residu asam amino, quercitrin memiliki kemiripan 80% dan 20% yang menunjukkan bahwa keempat senyawa ini memiliki posisi penambatan yang hampir serupa dengan Remdesivir sehingga berpotensi memiliki aktivitas menghambat RdRp. Semakin banyak kemiripan residu asam amino antara senyawa uji dengan native ligand menunjukkan potensi kesamaan aktivitas antara senyawa uji dengan native ligand¹⁰.

Quercitrin, Myricetin dan hyperoside merupakan senyawa flavonoid yang memiliki potensi sebagai antivirus. Berdasarkan penelitian dari Bachmetov et al. (2012) menyebutkan bahwa senyawa flavonoid sendiri dapat menghambat NS3 protease dari Hepatitis C Virus (HCV) yang dapat menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki potensi sebagai antivirus.

Penambatan Senyawa Aktif Daun Nimba (*Azadirachta indica*) terhadap Mpro

Pada penelitian ini Boceprevir merupakan native ligand dari protein target Mpro. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, boceprevir dapat menghambat aktivitas enzimatis dari Mpro terhadap SARS-CoV-2 melalui uji cellular viral CPE assay¹¹. Sebagaimana pada penjelasan sebelumnya, hasil penambatan ini menggunakan parameter yang sama yaitu ΔG , K_i , dan residu asam amino.

Hasil uji 20 senyawa aktif daun nimba yang ditambatkan dengan Mpro menunjukkan beberapa senyawa aktif memiliki nilai ΔG yang rendah namun tidak lebih rendah dari Boceprevir sebagai *native ligand*. Rutin, quercitrin, hyperoside, dan isomargolonone merupakan senyawa aktif dengan nilai ΔG dan K_i yang rendah dimana dengan nilai tersebut senyawa aktif dapat dikatakan memiliki potensi sebagai desain obat baru. Sebagaimana telah dijelaskan bahwa semakin stabil interaksi ligan-reseptor tersebut maka semakin rendah nilai ΔG , semakin kuat dan stabil ikatan kompleks ligan-reseptor maka semakin rendah nilai K_i sehingga menghasilkan aktivitas penghambatan⁹. Nilai presentase kemiripan residu asam amino keempat senyawa tersebut yaitu sebesar 55,6%, 44,4% dan 33,3% menunjukkan 3 senyawa tersebut memiliki posisi penambatan yang hampir sama dengan Boceprevir sehingga mempunyai potensi aktivitas penghambatan Mpro. Hal ini disebabkan oleh semakin banyaknya kemiripan residu asam amino antara senyawa uji dengan native ligand menunjukkan potensi kesamaan aktivitas antara senyawa uji dengan native ligand¹⁰. Adanya ikatan hidrogen dan hidrofobik sendiri membantu dalam stabilitas makromolekul dalam sel dan ikatan antara ligan-reseptor.

Penelitian *docking molecular* bertujuan memprediksi senyawa aktif berinteraksi dengan protein target dalam menghasilkan efek

farmakologis. Selanjutnya, prediksi ini perlu dilakukan uji *in vivo* untuk memverifikasi kebenarannya.

Kelebihan dan Kelemahan Dalam Penelitian

Dalam penelitian yang dilakukan dengan menggunakan metode *in silico* memiliki kelebihan dan kekurangan. Kelebihan dari metode *in silico* yaitu menghemat dalam pembiayaan penelitian dan mengurangi penggunaan dari alat, bahan, serta hewan coba. Kelemahan dari penelitian yang dilakukan adalah adanya perbedaan nilai validasi *docking* dari reseptor RdRp dengan Remdesivir sebagai *native ligand*. Perbedaan nilai ini terjadi antara *software* pyMoL dengan *website* DockRMSD. Pada *software* pyMoL, dengan rumus yang sudah dimasukkan, menunjukkan nilai validasi 2,13 Å, sedangkan pada DockRMSD menunjukkan nilai 4,58 Å.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan analisa data yang didapatkan dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

1. Senyawa aktif daun nimba (*Azadirachta indica*) memiliki afinitas lebih baik terhadap reseptor RdRp dibandingkan Remdesivir, yaitu *quercitrin*, *myricetin*, *hyperoside*, dan *isomargolonone*.
2. Senyawa aktif daun nimba (*Azadirachta indica*) memiliki afinitas yang lebih tinggi terhadap reseptor Mpro dibandingkan Boceprevir, yaitu *rutin*, *hyperoside*, *quercitrin*, dan *isomargolonone*.
3. Senyawa aktif daun nimba (*Azadirachta indica*) lebih baik dalam menghambat Mpro dibandingkan RdRp.
4. Senyawa aktif *rutin*, *hyperoside*, dan *quercitrin* memiliki kelarutan dan bioavailabilitas yang rendah secara oral sedangkan *myricetin* dan *isomargolonone* memiliki kelarutan dan bioavailabilitas yang baik secara oral.
5. *Quercitrin* dan *isomargolonone* memiliki nilai ADME yang baik dan tidak bersifat hepatotoksik.

SARAN

Berdasarkan hasil yang diperoleh dari penelitian ini, maka pengembangan selanjutnya yang dapat dilakukan adalah :

1. Melakukan penelitian lanjutan mengenai potensi senyawa *quercitrin*, *myricetin*, *hyperoside*, dan *isomargolonone* melalui studi *in vivo* untuk membuktikan potensi dalam mencegah replikasi SARS-CoV-2 dengan menghambat RdRp
2. Melakukan penelitian lanjutan mengenai potensi senyawa *rutin*, *hyperoside*,

quercitrin, dan *isomargolonone* melalui studi *in vivo* untuk membuktikan potensi dalam mencegah replikasi SARS-CoV-2 dengan menghambat Mpro.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada IOM (Ikatan Orang Tua Mahasiswa) Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang atas dana penelitian yang telah disediakan, serta kepada Bapak Rio Risandiansyah, S.Ked., M.P., Ph.D sebagai *reviewer* jurnal ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Astuti I, Ysrafil. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2): An overview of viral structure and host response. 2020;14:407–12.
2. Poduri R, Joshi G, Jagadeesh G, Kaur U, Acharya K, Mondal R, et al. Drugs targeting various stages of the SARS-CoV-2 life cycle: Exploring promising drugs for the treatment of Covid-19. 2020;(January):19–21.
3. Alzohairy MA. Therapeutics role of *azadirachta indica* (Neem) and their active constituents in diseases prevention and treatment. Evidence-based Complement Altern Med. 2016;2016.
4. Suarantika F. Fitokimia dan Aktivitas Farmakologi dari Tanaman Mimba (*Azadirachta indica* A). Bunga Rampai; B Chapter. 2022;2:15.
5. Kumar Bhagarathi L, Pestano MF, Phillips-Henry MZ, Cossiah MC, DaSilva MPNB, Singh MD. A Review on the Properties of *Azadirachta indica*, *Ocimum tenuiflorum* and *Cymbopogon citratus*. Int J Sci Res Manag. 2021;9(10):96–164.
6. Naqvi AAT, Fatima K, Mohammad T, Fatima U, Singh IK, Singh A, et al. Insights into SARS-CoV-2 genome, structure, evolution, pathogenesis and therapies: Structural genomics approach. BBA - Mol Basis Dis. 2020;(January):1–17.
7. Ramírez D, Caballero J. Is It Reliable to Take the Molecular Docking Top Scoring Position as the Best Solution without Considering Available Structural Data? Molecules. 2018;23(5):1–17.
8. Ma J, Zhang S, Fan Q, Zhang B. Safety Profile of the Antiviral Drug Remdesivir: An Update. 2020;(January).
9. Arrasyid MAA, Damayanti DS, Lestari RD. Studi In Silico Senyawa Aktif Ekstrak Rimpang Jahe Emprit (*Zingiber officinale* Rosc .) terhadap Penghambatan Asetilkolinesterase, β -Tubulin dan Aktivasi Kanal Kalsium sebagai Antelmintik In

- Silico Study on Compound Activities of Emprit Ginger Rhizomes. 2020;147–58.
10. Arrasyid MAA, Damayanti DS, Lestari RD. Studi In Silico Senyawa Aktif Ekstrak Rimpang Jahe Emprit (*Zingiber officinale* Rosc .) terhadap Penghambatan Asetilkolinesterase , β -Tubulin dan Aktivasi Kanal Kalsium sebagai Antelmintik In Silico Study on Compound Activities of Emprit Ginger Rhizomes. East Java. 2018;147–58.
 11. Ma C, Sacco MD, Hurst B, Townsend JA, Hu Y, Szeto T, et al. Boceprevir, GC-376, and calpain inhibitors II, XII inhibit SARS-CoV-2 viral replication by targeting the viral main protease. *Cell Res* [Internet]. 2020;30(8):678–92. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41422-020-0356-z>
 12. Ivanović V, Rančić M, Arsić B, Pavlović A. Lipinski's rule of five, famous extensions and famous exceptions. *Chem Naissensis*. 2020;3(1):171–81.
 13. Shofi M. Analisis Senyawa a-spinasterol pada Biji Trembesi (*Samanea sam* (jacq.) Merr) Terhadap Penghambatan 3C-like protease SARS-CoV-2 Melalui Uji In Silico. *J Sint*. 2021;2(2):74–88.
 14. Pires DEV, Blundell TL, Ascher DB. pkCSM: Predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures. *J Med Chem*. 2015;58(9):4066–72.