

Studi *In Silico* Senyawa Flavonoid dalam Mengambat RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) sebagai Antivirus COVID-19

Faisal Akhmal Muslikh^{1*}, Rizki Rahmadi Pratama², Burhan Ma'arif³, Neny Purwitasari⁴

¹Fakultas Farmasi, Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata, Kediri, Jawa Timur, Indonesia

²Mahasiswa Magister Ilmu Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga, Surabaya, Jawa Timur, Indonesia.

³Prodi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang, Jawa Timur, Indonesia

⁴Departemen Ilmu Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga, Surabaya, Jawa Timur, Indonesia

*Corresponding Author. E-mail: faisalakhmus16@gmail.com

ABSTRAK

Pada akhir tahun 2019, muncul *coronavirus disease 2019* (COVID-19) yang disebabkan oleh *severe acute respiratory syndrome coronavirus 2* (SARS-CoV-2), yang menjadi ancaman serius bagi kesehatan masyarakat global sampai saat ini. Seiring berjalannya waktu, pengembangan *drug repurposing* telah menjadi metode yang efektif dalam penemuan obat baru. Flavonoid merupakan golongan senyawa yang telah dikenal memiliki aktivitas antivirus. Oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi lima senyawa flavonoid (Genistein, Daidzein, Glycitein, Formonoetin, dan Biochanin A) yang sudah dikenal memiliki berbagai manfaat farmakologi dalam menghambat aktivitas RdRp SARS-CoV-2. Untuk melakukan analisis, metode *molecular docking* digunakan dengan menggunakan software *AutoDockTools* 1.5.6. Prediksi sifat farmakokinetik dan farmakodinamik dilakukan dengan menggunakan *SwissADME*, sedangkan untuk mengevaluasi toksisitas, digunakan *ProTox II*. Hasil *molecular docking* menunjukkan bahwa kelima senyawa flavonoid memiliki hasil yang lebih baik dibandingkan dengan senyawa kontrol positif *remdesivir*. Selain itu, hasil prediksi sifat farmakokinetik, farmakodinamik, dan toksisitas menunjukkan bahwa Biochanin A, Glycitein, Genistein, dan Formonoetin memiliki potensi terbaik untuk dikembangkan sebagai obat antivirus COVID-19 dengan kemampuan mengikat reseptor RdRp dengan PDB id. 6M71.

Kata Kunci: 6M71, Antivirus, *Drug repurposing*, RdRp, Senyawa flavonoid

ABSTRACT

At the end of 2019, the *coronavirus disease 2019* (COVID-19) caused by *severe acute respiratory syndrome coronavirus 2* (SARS-CoV-2) emerged as a serious threat to global public health up until now. Over time, the development of *drug repurposing* has become an effective method of discovering new drugs. Flavonoids are a class of compounds that are known to have antiviral activity. Therefore, the aim of this study was to identify five flavonoid compounds (Genistein, Daidzein, Glycitein, Formonoetin, and Biochanin A) that are already known to have various pharmacological benefits in inhibiting the RdRp activity of SARS-CoV-2. *Molecular docking* method using *AutoDockTools* 1.5.6 software was employed for analysis. Prediction of pharmacokinetic and pharmacodynamic properties was done using *SwissADME*, while *ProTox II* was used to evaluate toxicity. The results of *molecular docking* showed that all five flavonoid compounds had better results compared to the positive control compound *remdesivir*. Furthermore, the prediction results of pharmacokinetic, pharmacodynamic, and toxicity properties indicated that Biochanin A, Glycitein, Genistein, and Formonoetin had the best potential to be developed as antiviral drugs against COVID-19 with the ability to bind to the RdRp receptor with PDB id 6M71.

Keywords: 6M71, Antivirus, *Drug repurposing*, Flavonoid compounds, RdRp

Submitted: June 12th 2023 | Accepted: June 24th 2023 | Published: June 30th 2023

Pendahuluan

Coronavirus adalah sekelompok virus yang menyerang berbagai hewan dan dapat menyebabkan infeksi pernapasan pada manusia, mulai dari yang ringan hingga parah. Pada tahun 2002 dan 2012, ada dua jenis virus Corona yang sangat berbahaya, yaitu *Severe Acute Respiratory Syndrome*

Coronavirus (SARS-CoV) dan *Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus* (MERS-CoV), yang berasal dari hewan dan menimbulkan penyakit pernapasan yang fatal pada manusia. Kehadiran *coronavirus* baru ini menjadi masalah kesehatan masyarakat yang baru pada abad ke-21 [1].

Pada akhir tahun 2019, muncul *coronavirus disease 2019* (COVID-19) yang disebabkan oleh *severe acute respiratory*

syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) di kota Wuhan, Cina. Karena kemampuannya yang sangat mudah menular, penyakit baru ini telah menyebar dengan cepat ke seluruh dunia [2,3]. Jumlah orang yang terinfeksi dan area epidemi yang terkena jauh melebihi SARS dan MERS. Wabah COVID-19 yang saat ini berlangsung menjadi ancaman yang sangat serius bagi kesehatan masyarakat global [4,5].

Pada Mei 2022, varian SARS-CoV-2 yang menjadi perhatian adalah varian *Alpha* (Lineage B.1.1.7), varian *Beta* (Lineage B.1.351), varian *Gamma* (Lineage P1), varian *Omicron* (Lineage B.1.1.529), dan varian *Delta* (Lineage B.1.617.2) [6]. Secara global pada 31 Mei 2023, terdapat 767.364.883 kasus COVID-19 yang dikonfirmasi, termasuk 6.938.353 kematian, yang dilaporkan ke WHO. Hingga 29 Mei 2023, total 13.375.580.553 dosis vaksin telah diberikan [7].

Meskipun ada beberapa vaksin dan obat yang tersedia, ada kebutuhan mendesak untuk mengembangkan obat yang aman dan efektif untuk melawan SARS-CoV-2 [8]. Proses pengembangan obat baru *de novo* sangat mahal dan membutuhkan waktu yang lama. Salah satu pendekatan yang menjanjikan dan alternatif untuk menemukan obat antivirus adalah *drug repurposing*, dengan menggunakan kembali obat yang telah disetujui atau sedang diteliti untuk penggunaan yang berbeda. Ini adalah strategi untuk mengidentifikasi penggunaan baru dari obat yang sudah ada [9,10].

Permukaan SARS-CoV-2 dilapisi dengan banyak salinan protein spike (S) yang besar, yang berikatan dengan enzim pengubah reseptor *angiotensin-converting enzyme 2* (ACE2) sebagai langkah awal dalam proses infeksi. Virus memasuki sel manusia melalui endositosis, diikuti oleh pelepasan RNA virus, replikasi RNA, sintesis protein, pembentukan partikel virus yang matang, dan akhirnya pelepasan virus dari sel inang [11,12].

Strategi utama dalam penemuan dan pengembangan obat adalah mengidentifikasi target obat potensial [13]. Beberapa penelitian telah difokuskan pada pengembangan obat yang bertujuan untuk protein struktural dan nonstruktural dari virus [14]. Dalam penelitian ini, fokus kami adalah pada *RNA-dependent RNA-polymerase* (RdRP), yang juga dikenal sebagai Nsp12, yang merupakan enzim sentral dalam replikasi virus [15].

RdRP adalah target antivirus yang sangat baik untuk coronavirus karena termasuk protein yang paling konservatif dalam virus RNA [12]. RdRP memiliki peran penting dalam replikasi dan kelangsungan hidup virus, sehingga merancang inhibitor yang berikatan dengan situs aktif dapat menjadi pendekatan efektif dalam mengidentifikasi inhibitor terbaik [16].

Produk alami yang berasal dari tumbuhan, terutama yang memiliki kegunaan dalam etnofarmakologi, memiliki banyak aplikasi dalam pengobatan penyakit antivirus, antimikroba, antibakteri, dan antijamur. Metabolit sekunder yang ditemukan dalam produk alami, seperti tanin, alkaloid, polifenol, kuinolin, kumarin, dan flavonoid, dipercaya memiliki nilai obat dan terapeutik [17].

Senyawa golongan flavonoid telah dipelajari secara luas sebagai agen antivirus [18]. Berbagai penelitian telah menunjukkan bahwa senyawa flavonoid memiliki aktivitas antivirus terhadap *hepatitis C virus* (HCV), *Herpes Simplex Virus-1* (HSV-1), *human Hepatitis A dan B Viruses* (HAV; HBV), *rhesus rotavirus virus* (RRV) and *influenza virus* [18].

Penelitian terbaru yang dilakukan oleh Purwitasari dkk., (2023) menjelaskan bahwa senyawa flavonoid menunjukkan aktivitas penghambatan yang baik terhadap protein spike SARS-COV-2 [19]. Diantara senyawa flavonoid yang terkenal memiliki berbagai manfaat farmakologi seperti antiinflamasi, antiosteoporosis, neurodegeneratif adalah Genistein, Daidzein, Glycitein, Formonoetin, dan Biochanin A [20,21]. Sehingga, penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi 5 senyawa golongan flavonoid yang sudah terkenal memiliki berbagai manfaat farmakologi dalam menghambat aktivitas RdRP SARS-CoV-2.

Bahan dan Metode

Alat dan Bahan

Dalam penelitian ini, digunakan laptop Legion 5 Pro 16AC6H dengan spesifikasi RAM 16.0 GB, AMD Ryzen 7 5800H processor, NVIDIA GeForce RTX 3060 Graphic Card, 3.20 GHz Radeon graphics, serta Microsoft® Windows® 10 Pro. *Software* yang digunakan dalam penelitian ini, seperti *Swiss PDB viewer* untuk mengoptimalkan protein, Avogadro 1.2 untuk meminimasi energi, *discovery studio visualizer* 4.5 serta PyMOL 2.5 untuk memvisualisasikan interaksi antara protein dan ligan, *Autodock* 4.2.6 untuk melakukan *molecular docking*, *SwissADME* untuk memprediksi sifat farmakokinetik dan farmakodinamik, serta *ProTox II* untuk memprediksi sifat toksisitas senyawa yang diuji [22].

Preparasi protein dan ligan

Protein reseptor RdRp diambil dari protein data bank dengan kode PDB id. 6M71 (<https://www.rcsb.org/structure/6M71>) dan kemudian dihilangkan molekul air serta menambahkan molekul hidrogen menggunakan *discovery studio visualizer*. Setelah itu, struktur protein dioptimalkan dengan menggunakan *PDB Swiss* dan mengatur medan gaya menggunakan GROMOS96, lalu disimpan dalam format “.pdb file”. Penelitian ini menggunakan 5 senyawa flavonoid yang diambil dari PubChem dan remdesivir digunakan sebagai kontrol positif, pemilihan ini dikarenakan remdesivir bekerja dengan berikatan pada RdRp dan dapat menghambat sintesis RNA virus [23-25]. Senyawa tersebut kemudian dilakukan minimisasi energi menggunakan *software Avogadro*, dengan pengaturan medan gaya yang menggunakan MMFF94 [26,27].

Molecular docking

Molecular docking 5 senyawa flavonoid dilakukan terhadap reseptor RdRp menggunakan protein PDB id. 6M71. Proses docking ini menggunakan *software Autodock* 4.2.6. Tahap awal dimulai dengan pengunggahan protein dan ligan menggunakan *Autodock*. Selanjutnya, deteksi dan penentuan torsi dilakukan secara otomatis dengan menambahkan muatan parsial *Gasteiger* dan *Kollman* ke senyawa uji. Pengaturan *grid box* yang digunakan didasarkan pada hasil validasi metode, dengan ukuran *grid box* sebesar X = 80, Y = 94, Z = 94 dan koordinat (121,253; 121,376; 120,149). Jarak antara titik *grid* adalah 0,375 Å. Dalam *running docking*, digunakan *Lamarckian Genetic Algorithm* dengan populasi sebesar 150 dan jumlah maksimal evaluasi sebesar 2.500.000 untuk setiap 100 kali konformasi.

Hasil *docking* dievaluasi dengan mencari konformasi terbaik berdasarkan skor energy binding (ΔG) dan konstanta inhibisi (K_i) terendah. Interaksi asam amino esensial fungsional

yang terdeteksi juga diperhatikan dalam analisis interaksi *docking* menggunakan *discovery studio visualizer*.

Prediksi ADMET

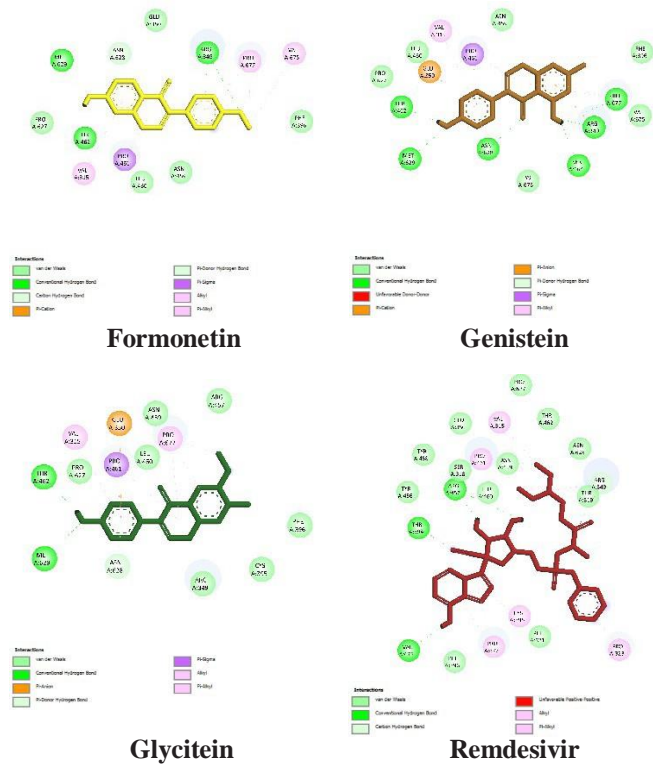
Analisis sifat farmakokinetik dan farmakodinamik dilakukan dengan konversi format masing-masing senyawa ke dalam *simplified molecular-input line-entry system* (SMILES) menggunakan *software ChemDraw Ultra 12.0*. Penggunaan SMILES bertujuan untuk mempermudah analisis sifat farmakokinetik dan farmakodinamik dengan membandingkan senyawa-senyawa tersebut dengan menggunakan tata nama IUPAC [28,29]. Setelah itu, format SMILES yang telah disiapkan, diproses secara terpisah pada *weptool SwissADME* (<http://www.swissadme.ch>) dan diklik *run* untuk menganalisis sifat farmakokinetik dan farmakodinamik dari setiap senyawa. Hasil analisis meliputi berat molekul, *hydrogen bond donor* (HBD), *hydrogen bond acceptor* (HBA), dan *log P* [30].

Sedangkan untuk melakukan analisis toksisitas, format SMILES digunakan untuk memprediksi nilai LD50 berdasarkan *globally harmonized system* (GHS) dengan menggunakan *online tool ProTox II* (http://tox.charite.de/protox_II/) [31,32]. Penggunaan format SMILES dilakukan dengan menuliskan SMILES pada canonical smiles dan kemudian dijalankan dengan mengklik tombol start *Tox-Prediction*.

Hasil dan Pembahasan

Indikator kualitas *molecular docking* yang baik dapat diamati melalui pengukuran nilai *energy binding* (ΔG) dan konstanta inhibisi (K_i). Nilai *energy binding* mencerminkan kekuatan interaksi biomolekuler antara ligan dan reseptor [33]. Semakin rendah nilai *energy binding*, semakin stabil interaksi antara ligan dan reseptor, menunjukkan afinitas ligan yang lebih kuat terhadap reseptor [34]. Selain nilai *energy binding*, hasil *molecular docking* juga mencakup pose, yang dapat menggambarkan interaksi ligan dengan protein [34].

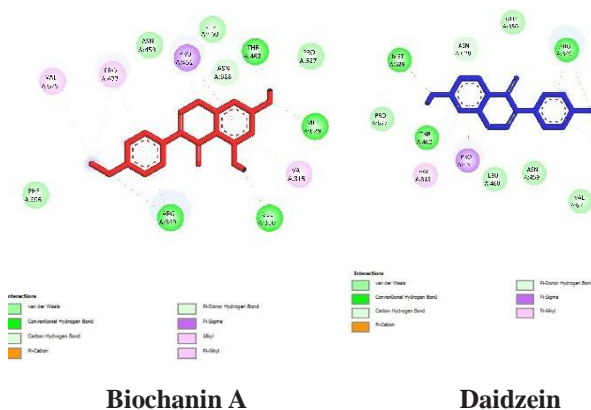
Hasil penelitian ini menunjukkan nilai *energy binding* (tabel 1) dari 5 senyawa flavonoid memiliki hasil yang baik dibandingkan senyawa kontrol positif. Hal ini menunjukkan bahwa 5 senyawa flavonoid memiliki potensi yang lebih tinggi daripada *remdesivir* dalam berinteraksi dengan reseptor RdRp dengan PDB id. 6M71.



Gambar 1. Visualisasi interaksi protein-ligan

Selanjutnya, nilai K_i mengindikasikan konsentrasi yang diperlukan untuk mencapai setengah dari penghambatan maksimum, dan nilai K_i yang lebih kecil menunjukkan afinitas ligan yang lebih kuat terhadap makromolekul [35]. Dalam Tabel 1, terlihat bahwa 5 senyawa flavonoid menunjukkan afinitas yang kuat terhadap reseptor RdRp dengan PDB id. 6M71 dibandingkan dengan remdesivir, karena senyawa tersebut memiliki nilai K_i yang lebih kecil daripada senyawa kontrol positif.

Tujuan dari pengamatan residu asam amino dalam interaksi antara senyawa uji dan protein target adalah untuk mengidentifikasi interaksi yang terjadi dan memahami peran interaksi tersebut dalam efek farmakologi sebagai inhibitor RdRp oleh senyawa uji. Interaksi ikatan ini meliputi ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, interaksi *Van der Waals*, interaksi elektrostatik, dan interaksi halogen. Ikatan hidrogen adalah jenis ikatan yang paling kuat di antara ikatan non-kovalen lainnya, meskipun lebih lemah daripada ikatan ion atau ikatan kovalen. Oleh karena itu, ikatan hidrogen memainkan peran penting dalam menghasilkan aktivitas farmakologi [36], dan interaksi ini tersebar luas dalam sistem ini.



Tabel 1. Hasil *molecular docking*

Senyawa	Energy binding (Kcal/mol)	Konstanta inhibisi	Residu asam amino	Perbandingan residu asam amino dengan remdesivir
Biochanin A	-7,38	3,91 uM (micromolar)	Van der wals: PHE 396, ASN 459, LEU 460, PRO 627 Conventional hydrogen bond: THR 462, MET 629, GLU 350, ARG 349 Carbon Hydrogen Bond: ASN 628, THR 462 Pi-Cation: ARG 349 Pi-Sigma: PRO 361 Alkyl: VAL 675, PRO 677, VAL 315	44%
Daidzein	-6,77	10,95 uM (micromolar)	Van der wals: GLU 350, PHE 396, VAL 675, ASN 459, LEU 460 Conventional hydrogen bond: MET 629, THR 462, ARG 349 Carbon hydrogen bond: THR 462, ASN 628, ARG 349 Pi-Cation: ARG 349 Pi-Sigma: PRO 461 Pi-Alkyl: VAL 315, PRO 677	44%
Formonetin	-7,2	5,24 uM (micromolar)	Conventional hydrogen bond: MET 629, THR 462, ARG 349 Van der wals: PRO 627, GLU 350, PHE 396, ASN 459, LEU 460 Carbon Hydrogen Bond: ASN 628, THR 462 Pi-Cation: ARG 349 Pi-Sigma: PRO 461 Alkyl: VAL 315, PRO 677, VAL 675 Pi-Alkyl: VAL 315, PRO 677, VAL 675	60%
Genistein	-7,07	6,63 uM (micromolar)	Conventional hydrogen bond: THR 462, MET 629, ASN 628, SER 664, ARG 349, PRO 677 Van der wals: PRO 627, LEU 460, ASN 459, PHE 396, VAL 675, LYS 676 Pi-Cation: GLU 350, ARG 349 Pi-Anion: GLU 350, ARG 349 Pi-Sigma: PRO 461 Pi-Alkyl: VAL 315, PRO 461, PRO 677	56%
Glycitein	-6,62	14,10 uM (micromolar)	Conventional hydrogen bond: THR 462, MET 629 Van der wals: PRO 627, LEU 460, ASN 459, ARG 457, PHE 396, CYS 395, ARG 349 Pi-Anion: GLU 350 Pi-Sigma: PRO 461 Alkyl: VAL 315, PRO 677 Pi-Alkyl: VAL 315, PRO 461, PRO 677	56%

Remdesivir	Energy binding (Kcal/mol)	Konstanta inhibisi	Residu asam amino	Perbandingan residu asam amino dengan remdesivir
	-5,83	53,71 uM (micromolar)	Conventional hydrogen bond: THR 394, ARG 457, VAL 675 Van der wals: TYR 456, TYR 458, GLU 350, PRO 627, THR 462, SER 318, LEU 460, ASN 459, ASN 628, THR 319, PHE 321, PHE 396 Alkyl: PRO 461, VAL 315, PRO 677, CYS 395, PRO 323 Pi-Alkyl: PRO 461, VAL 315, PRO 677, CYS 395, PRO 323	100%

Sifat farmakokinetik dan farmakodinamik senyawa di prediksi menggunakan *SwissADME*, dan hasilnya menunjukkan bahwa 5 senyawa flavonoid adalah senyawa terbaik berdasarkan hasil *molecular docking* dan juga memiliki sifat yang dapat diterima oleh tubuh (Tabel 2). Sifat ini dievaluasi berdasarkan parameter hukum lima Lipinski. Beberapa parameter Lipinski yang diperhatikan meliputi HBD <5, HBA <10, log P <5, dan berat molekul <500 g/mol [37]. Senyawa dengan berat molekul di bawah 500 g/mol dianggap mampu melewati membran biologis. Nilai *H-acceptor* dan *H-donor* menunjukkan jumlah ikatan hidrogen dalam senyawa, dan semakin tinggi nilai tersebut, semakin tinggi energi yang diperlukan dalam proses absorpsi. Nilai log P mengindikasikan kelarutan senyawa dalam cairan membran dan mencerminkan sifat polaritas senyawa [38].

Uji toksisitas senyawa uji telah dilakukan menggunakan *webtool online ProTox II*, yang mengklasifikasikannya berdasarkan sistem *globally harmonized system (GHS)* dan terbagi menjadi 6 kelas toksisitas LD50. Kelas I (LD50 ≤ 5 mg/kg) menunjukkan keadaan yang mematikan jika tertelan, kelas II (5 < LD50 ≤ 50 mg/kg) menunjukkan keadaan yang mematikan jika tertelan, kelas III (50 < LD50 ≤ 300 mg/kg) menunjukkan sifat beracun jika ditelan, kelas IV (300 < LD50 ≤ 2000 mg/kg) menunjukkan sifat berbahaya jika tertelan, kelas V (2000 < LD50 ≤ 5000 mg/kg) menunjukkan sifat berbahaya jika tertelan, dan kelas VI (LD50 > 5000 mg/kg) menunjukkan ketiadaan toksisitas [32]. Semakin tinggi nilai LD50, semakin aman atau tidak beracun zat tersebut bagi tubuh, dan sebaliknya [39]. Hasil penelitian menunjukkan bahwa Biochanin A, Formonetin, Genistein, dan Glycitein berada dalam kelas V yang menandakan lebih tidak bersifat toksik dibandingkan senyawa kontrol positif remdesivir.

Tabel 2. Analisis sifat farmakokinetik, farmakodinamik dan toksisitas

Senyawa	BM ≤ 500 g/mol	Log P ≤ 5	HBA ≤ 10	HBD ≤ 5	Kelas toksisitas
Remdesivir	602,58	1,54	12	4	IV
Biochanin A	284,26	2,44	5	2	V
Glycitein	284,26	2,30	5	2	V
Genistein	270,24	2,04	5	3	V
Daidzein	254,24	2,24	4	2	IV
Formonoetin	254,24	2,24	4	2	V

Pembahasan

RdRp adalah komponen krusial dalam replikasi virus RNA dan juga menjadi target obat yang menjanjikan dalam pengobatan COVID-19. Seperti protein-protein lain dalam SARS-CoV-2, RdRp tidak memiliki homolog yang terkait secara erat dengan sel inang. Oleh karena itu, menargetkan RdRp dapat menghindari efek samping yang tidak diinginkan. Selain itu, motif katalitik aktif RdRp sangat terjaga dengan baik di antara virus-virus RNA jika dibandingkan dengan protein-protein lonjakan dan permukaan virus lainnya. Keunikan ini menjadikan RdRp sebagai target menarik dalam pengembangan obat antivirus yang dapat melawan berbagai jenis virus. Beberapa inhibitor nukleosida analog telah menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap berbagai jenis virus RNA [40]. Strategi penggunaan kembali obat yang menargetkan RdRp menjadi pilihan yang menjanjikan dalam pengobatan COVID-19. Obat-obat yang semula dikembangkan untuk virus-virus lain, seperti favipiravir (obat anti-influenza), sofosbuvir (obat anti virus hepatitis C), dan ribavirin (obat antivirus dengan cakupan luas), sedang dievaluasi melalui uji klinis untuk pengobatan COVID-19 (ClinicalTrials.gov) [23].

Penggunaan darurat remdesivir telah mendapatkan persetujuan sebagai pengobatan COVID-19. Meskipun efektivitas pengobatan ini terbatas dalam uji klinis, hal ini memvalidasi penghambat RdRp untuk mengobati COVID-19. Melalui skrining virtual menggunakan model homolog dan *molecular docking*, telah diusulkan berbagai obat antivirus dan produk alami sebagai kandidat utama dalam melawan COVID-19 [41,42]. Penemuan terbaru tentang struktur RdRp yang berinteraksi dengan remdesivir memberikan kerangka struktural yang dapat meningkatkan akurasi dalam skrining virtual. Selain itu, kombinasi penghambat RdRp dengan obat antivirus yang menargetkan protein virus lainnya dan imunomodulator dapat menjadi strategi yang menjanjikan dalam terapi COVID-19 [23].

Hasil *molecular docking* ini secara berurutan didapatkan bahwa senyawa Biochanin A, Daidzein, Formonoetin, Genistein, dan Glycitein memiliki pengikatan terhadap RdRp dengan PDB id. 6M71, senyawa tersebut memiliki nilai ΔG dan K_i yang lebih kecil dibandingkan dengan senyawa kontrol positif remdesivir. Berdasarkan hasil analisis sifat farmakokinetik, farmakodinamik dan toksisitas, secara berurutan didapatkan bahwa senyawa Biochanin A, Glycitein, Genistein dan Formonoetin memiliki potensi terbaik untuk dikembangkan menjadi obat antivirus SARS-COV-2 dengan mekanisme penghambatan RdRp dengan PDB id. 6M71.

Kesimpulan

Kelima senyawa flavoloid memiliki hasil yang baik dalam *molecular docking* dibandingkan dengan senyawa kontrol positif remdesivir, akan tetapi hasil prediksi sifat farmakokinetik, farmakodinamik dan toksisitas senyawa Biochanin A, Glycitein, Genistein dan Formonoetin memiliki potensi terbaik untuk dikembangkan menjadi obat antivirus COVID-19 dengan pengikatan terhadap reseptor RdRp dengan PDB id. 6M71.

Referensi

- [1] Hu B, Guo H, Zhou P, Shi ZL. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nat Rev Microbiol*. 2021; 19: 141–154. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00459-7>
- [2] Wu JT, Leung K, Leung GM. Nowcasting and forecasting the potential domestic and international spread of the 2019-nCoV outbreak originating in Wuhan, China: a modelling study. *The Lancet*. 2020; 395(10225): 689-697.
- [3] Hui DS, Azhar EI, Madani TA, Ntoumi F, Kock R, Dar O, Petersen E. The continuing 2019-nCoV epidemic threat of novel coronaviruses to global health—The latest 2019 novel coronavirus outbreak in Wuhan, China. *International journal of infectious diseases*. 2020; 91: 264-266.
- [4] Deng SQ, & Peng HJ. Characteristics of and public health responses to the coronavirus disease 2019 outbreak in China. *Journal of clinical medicine*. 2020; 9(2): 575.
- [5] Han Q, Lin Q, Jin S, You L. Coronavirus 2019-nCoV: A brief perspective from the front line. *Journal of Infection*. 2020; 80(4): 373-377.
- [6] Polatoğlu I, Oncu-Oner T, Dalman I, Ozdogan S. COVID-19 in early 2023: Structure, replication mechanism, variants of SARS-CoV-2, diagnostic tests, and vaccine & drug development studies. *MedComm*. 2023; 4(2): e228.
- [7] WHO. 2023. WHO Coronavirus (COVID-19). <https://covid19.who.int/>
- [8] WHO, “coronavirus (COVID-19) dashboard,” 2022, <https://covid19.who.int>.
- [9] Senanayake SL. Drug repurposing strategies for COVID-19. *Future Drug Discovery*. 2020; 2(2).
- [10] Anwaar MU, Adnan F, Abro A, Khan RA, Rehman A, U, Osama M, ..., Assir MZ. Combined deep learning and molecular docking simulations approach identifies potentially effective FDA approved drugs for repurposing against SARS-CoV-2. *Computers in Biology and Medicine*. 2022; 141: 105049.
- [11] Huang Y, Yang C, Xu XF, Xu W, Liu SW. Structural and functional properties of SARS-CoV-2 spike protein: potential antivirus drug development for COVID-19. *Acta Pharmacologica Sinica*. 2020; 41(9): 1141-1149.
- [12] Marahatha R, Shrestha A, Sharma K, Regmi BP, Sharma KR, Poudel P, ..., Parajuli N. In silico study of alkaloids: Neferine and berbamine potentially inhibit the SARS-CoV-2 RNA-dependent RNA polymerase. *Journal of Chemistry*. 2022.
- [13] Khare P, Sahu U, Pandey SC, Samant M. Current approaches for target-specific drug discovery using natural compounds against SARS-CoV-2 infection. *Virus research*. 2020; 290: 198169.
- [14] van de Leemput J, & Han Z. Understanding individual SARS-CoV-2 proteins for targeted drug development against COVID-19. *Molecular and cellular biology*. 2021; 41(9): e00185-21.
- [15] Koulgi S, Jani V, Uppuladinne VNM, Sonavane U, Joshi R. Natural plant products as potential inhibitors of RNA dependent RNA polymerase of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2. *PLoS One*. 2021; 16(5): e0251801.
- [16] Aftab SO, Ghouri MZ, Masood MU, Haider Z, Khan Z, Ahmad A, Munawar N. Analysis of SARS-CoV-2 RNA-dependent RNA polymerase as a potential therapeutic

- drug target using a computational approach. *Journal of translational medicine*. 2020; 18(1): 1-15.
- [17] Ganjhu RK, Mudgal PP, Maity H, Dowarha D, Devadiga S, Nag S, Arunkumar G. Herbal plants and plant preparations as remedial approach for viral diseases. *Virusdisease*. 2015; 26: 225-236.
- [18] Ninfali P, Antonelli A, Magnani M, Scarpa ES. Antiviral properties of flavonoids and delivery strategies. *Nutrients*. 2020; 12(9): 2534.
- [19] Purwitasari N, Maulana S, Qurnianingsih E, Agil M, Siswandono S, Junlatat J. Inhibition of Spike Protein of SARS-CoV2 from (*Merremia mammosa* (Lour) Hall. F.) Bioactive Compounds: Molecular Docking and ADMET Study. *Journal of Population Therapeutics and Clinical Pharmacology*. 2023; 30(8): 78-86.
- [20] Ma'arif B, Suryanto S, Muslikh FA, Suryadinata A, & Fauziyah B. Systematic Review: Anti-Osteoporosis Potential Activities of Phytoestrogen Compounds In *Chrysophyllum cainito* L., *Elaeis guineensis* Jacq., *Lanea acida* Rich., *Marsilea crenata* Presl., and *Medicago sativa* L. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Community*. 2022; 19(1): 41-52.
- [21] Muslikh FA, Samudra RR, Ma'arif B, Ulhaq ZS, Hardjono S, & Agil M. In Silico Molecular Docking and ADMET Analysis for Drug Development of Phytoestrogens Compound with Its Evaluation of Neurodegenerative Diseases. *Borneo Journal of Pharmacy*. 2022; 5(4): 357-366.
- [22] Muslikh FA, Pratama RR, Gondokesumo ME. Senyawa Fitoestrogen Untuk Potensi Terapi Penyakit Neurodegeneratif Terhadap Reseptor TLR2: Pendekatan In Silico. *Jurnal Kesehatan Islam*. 2023; 12(1): 17-24.
- [23] Jiang Y, Yin W, Xu HE. RNA-dependent RNA polymerase: Structure, mechanism, and drug discovery for COVID-19. *Biochemical and biophysical research communications*. 2021; 538: 47-53.
- [24] Kocic G, Hillen HS, Tegunov D, Dienemann C, Seitz F, Schmitzova J, ..., Cramer P. Mechanism of SARS-CoV-2 polymerase stalling by remdesivir. *Nature communications*. 2021; 12(1): 279.
- [25] Ahsana D, Pratama RR, Meily A, Andika A. Discovery of SARS-CoV-2 RNA-dependent-RNA-polymerase (RdRp) Inhibitor from Sambiloto (*Andrographis paniculata*) Based on Molecular Docking and ADMET Prediction Approach. *Pharmaceutical Sciences and Research*. 2022; 9(2): 3.
- [26] Ma'arif B, Fihuda DAP, Muslikh FA, Syarifuddin S, Fauziyah B, Sari DP, Agil M. Studi in silico penghambatan aktivasi TLR2 ekstrak etanol daun semanggi (*Marsilea crenata* Presl.). *Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia*. 2022; 15(1): 31-40.
- [27] Ma'arif B, Muslikh FA, Anggraini W, Taek MM, Laswati H, & Agil M. In vitro anti-neuroinflammatory effect of genistein (4', 5, 7-trihydroxyisoflavone) on microglia HMC3 cell line, and in silico evaluation of its interaction with estrogen receptor- β . *International Journal of Applied Pharmaceutics*. 2021; 13(4): 183-187.
- [28] Sliwoski G, Kothiwale S, Meiler J, & Lowe EW. Computational methods in drug discovery. *Pharmacological reviews*. 2014; 66(1): 334-395.
- [29] Muslikh FA, Samudra RR, & Ma'arif B. Prediksi Senyawa Fraksi Etil Asetat Daun Semanggi (*Marsilea crenata* Presl.) Sebagai Agen Antineuroinflamasi (agonis ER α). *JIKSN: Jurnal Ilmu Kesehatan dan Sains Nusantara*. 2023; 1(01): 10-21.
- [30] Ma'arif B, Aminullah M, Saidah NL, Muslikh FA, Rahmawati A, Indrawijaya YYA, ... & Taek MM. Prediction of antiosteoporosis activity of thirty-nine phytoestrogen compounds in estrogen receptor-dependent manner through in silico approach. *Tropical Journal of Natural Product Research*. 2021; 5(10): 1727-1734.
- [31] Ma'arif B, Muslikh FA, Fihuda DAP, Syarifuddin S, & Fauziyah B. Prediction of compounds from 96% Ethanol Extract of *Marsilea crenata* Presl. Leaves in increasing estrogen receptor- α activation. In *Proceedings of International Pharmacy Ulul Albab Conference and Seminar (PLANAR)*. (2021, December; 1: 67-76.
- [32] Ma'arif B, Samudra RR, Muslikh FA, Dewi TJD, & Muchlasi LA. Antineuroinflammatory Properties of Compounds from Ethyl Acetate Fraction of *Marsilea crenata* C. Presl. Against Toll-Like Receptor 2 (3A7B) In Silico. In *Proceedings of International Pharmacy Ulul Albab Conference and Seminar (PLANAR)*. 2022, December; 2: 8-20).
- [33] Odoemelam CS, Hunter E, Simms J, Ahmad Z, Chang MW, Percival B, ... & Wilson PB. In silico ligand docking approaches to characterise the binding of known allosteric modulators to the glucagon-like peptide 1 receptor and prediction of ADME/Tox properties. *Applied Biosciences*. 2022; 1(2): 143-162.
- [34] Lukitaningsih E, Wisnusaputra A, & Sudarmanto BA. Scrining in silico active compound of *Pachyrrhizus erosus* as antitirozinase on *Aspergillus oryzae* (computational study with homology modeling and molecular docking). *Majalah Obat Tradisional*. 2009; 20(1): 7-15.
- [35] Az-Zahra F, Afidika J, Diamantha SD, Rahmani AE, Fatimah S, Aulifa DL, & Sitingjak BD. Studi In Silico Senyawa dalam Daun Sirih (*Piper betle* L.) sebagai Inhibitor Enzim Asetilkolinesterase (AChE) pada Penyakit Alzheimer. *Indonesian Journal of Biological Pharmacy*. 2022; 2(2): 44-58.
- [36] Rahmadi R, Andika, Nashihah S. Studi Penambatan Molekuler Senyawa Flavonoid Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) Terhadap Sars-Cov-2 3cl Protease. *Medical Sains: Jurnal Ilmiah Kefarmasian*. 2021; 6(1): 9-24.
- [37] Ma'arif B, Muslikh FA, Amalia D, Mahardiani A, Muchlasi LA, Riwanti P, ..., Agil M. Metabolite Profiling of the Environmental-Controlled Growth of *Marsilea crenata* Presl. and Its In Vitro and In Silico Antineuroinflammatory Properties. *Borneo Journal of Pharmacy*. 2022; 5(3): 209-228.
- [38] Lipinski C A, Lombardo F, Dominy BW, & Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced drug delivery reviews*. 1997; 23(1-3): 3-25.
- [39] Supandi, Yeni, Merdekawati F. In silico study of pyrazolylaminoquinazoline toxicity by lazarus, protox, and admet predictor. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2018; 8(9): 119-129.
- [40] Campagnola G, Gong P, Peersen OB. High-throughput screening identification of poliovirus RNA-dependent RNA polymerase inhibitors. *Antiviral research*. 2011;

91(3): 241-251.

- [41] Wu C, Liu Y, Yang Y, Zhang P, Zhong W, Wang Y, ..., Li H. Analysis of therapeutic targets for SARS-CoV-2 and discovery of potential drugs by computational methods. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2020; 10(5): 766-788.
- [42] Elfiky AA. SARS-CoV-2 RNA dependent RNA polymerase (RdRp) targeting: An in silico perspective. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. 2021; 39(9): 3204-3212